



## IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS COM POTENCIAL PROBIÓTICO PARA UTILIZAÇÃO NA PISCICULTURA

Suelen Aparecida Suphoronski<sup>1</sup>, Roberta Torres Chideroli<sup>2</sup>, Raffaella Menegheti Mainardi<sup>3</sup>, Cesar Toshio Facimoto<sup>4</sup>, Ulisses de Pádua Pereira<sup>4</sup>

**Mestranda em Ciência Animal:** Universidade Estadual de Londrina; upaduapereira@uel.br

O Brasil é um dos maiores produtores de tilápias no mundo e em consequência da produção com alta densidade populacional de peixes há um aumento dos surtos de doenças infecciosas. Para evitar o uso indiscriminado de antibióticos, outros métodos profiláticos, tais como probióticos demonstraram ser ferramentas promissoras que podem estimular o sistema imune auxiliando no combate às doenças bacterianas. O objetivo deste trabalho foi identificar bactérias candidatas à utilização como probióticas na alimentação de peixes. As bactérias com potencial probiótico foram isoladas no Laboratório de Bacteriologia de Peixes (LABBEP-UEL) do conteúdo total de trato digestório de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) saudáveis. As amostras foram inicialmente diluídas em salina 0,85% estéril, plaqueadas em ágar MRS *Lactobacillus* e incubadas a 28° C por 48 horas. Nas placas com crescimento bacteriano, as colônias foram selecionadas, multiplicadas em ágar MRS e posteriormente caracterizadas como bacilos Gram positivos. Para avaliar a atividade antagonista destas bactérias foi realizada separadamente uma cultura em ágar Mueller-Hinton contendo 1mL de solução salina na escala 0,5 Mac Farland ( $1 \times 10^6$  UFC/mL) com os seguintes patógenos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp. Após 48 horas de crescimento das bactérias com potencial probiótico em ágar MRS foi colocado sobre sua superfície o meio Mueller-Hinton contendo bactérias patogênicas e incubadas juntas por mais 24 horas para posterior leitura do halo de inibição. No final foram selecionadas duas bactérias (linhagem A e B) com os maiores halos de inibição contra as bactérias patogênicas. Após a escolha das duas amostras bacterianas foi utilizado kit comercial para a extração do DNA e o produto extraído foi submetido à técnica de PCR utilizando os primers FS13 e RS13 para sequenciamento do gene 16S rRNA. Os produtos da amplificação foram purificados e quantificados com um kit comercial para posterior sequenciamento genético. As sequências foram analisadas e suas identidades foram comparadas com as sequências depositadas na base de dados não redundante do GenBank usando o software BLAST. Uma árvore filogenética foi construída usando o programa MEGA e as bactérias com potencial probiótico foram agrupadas como *Enterococcus faecium* (linhagem A) e *Lactobacillus* spp (linhagem B). Esses grupos de bactérias já foram relatados em diversos estudos, possuindo assim forte potencial como probiótico. Inclusive há estudos que demonstram que os probióticos podem modular benéficamente a microbiota intestinal em humanos. Porém devem ser realizados estudos *in vivo* com essas bactérias para comprovar a sua atividade probiótica na piscicultura.

**Palavras-chave:** tilápia do Nilo, antagonismo, sequenciamento.