



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE BRAGANÇA**  
**INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA DE PESCA - FEPESCA**

**JHULIE CAROLLINE SOUSA FERREIRA**

**EFEITO DO INCREMENTO DE L-TRIPTOFANO E BACTÉRIA PROBIÓTICA**  
**AUTÓCTONE NO COMPORTAMENTO AGONÍSTICO DE ALEVINOS DE *Heros***  
***severus***

**BRAGANÇA, PARÁ**

**2023**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE BRAGANÇA**  
**INSTITUTO DE ESTUDOS COSTEIROS**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA DE PESCA - FEPESCA**

**JHULIE CAROLLINE SOUSA FERREIRA**

**EFEITO DO INCREMENTO DE L-TRIPTOFANO E BACTÉRIA PROBIÓTICA**  
**AUTÓCTONE NO COMPORTAMENTO AGONÍSTICO DE ALEVINOS DE *Heros***  
***severus***

Plano de Trabalho Conclusão de Curso  
apresentado a Faculdade de Engenharia de  
Pesca, da Universidade Federal do Pará Campus  
de Bragança, como requisito parcial para  
obtenção do Grau de Bacharelado em  
Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Me. Keber Santos Costa  
Junior.

Co-orientador: Dr. Carlos Alberto Martins  
Cordeiro

**BRAGANÇA, PARÁ**  
**2023**

**JHULIE CAROLINE SOUSA FERREIRA**

**EFEITO DO INCREMENTO DE L-TRIPTOFANO E BACTÉRIA PROBIÓTICA  
AUTÓCTONE NO COMPORTAMENTO AGONÍSTICO DE ALEVINOS DE *Heros*  
*severus***

DATA DE AVALIAÇÃO: 15/12 / 2023

CONCEITO: BOM

**BANCA EXAMINADORA**



Documento assinado digitalmente  
**FRANCISCO ALEX LIMA BARROS**  
Data: 22/12/2023 14:32:29-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Francisco Alex Lima Barros

IFPA – Membro Titular



Documento assinado digitalmente  
**ALEXYA CUNHA DE QUEIROZ**  
Data: 19/12/2023 00:32:05-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Me. Alexya de Cunha Queiroz

UFPA – Membro Titular

## Resumo

O comportamento animal é fundamental na viabilidade de um empreendimento aquícola, considerando que, comportamentos agonísticos podem acarretar em mortalidades elevadas na aquicultura ornamental. Pensando nisso, este trabalho objetivou avaliar o comportamento agonístico de alevinos de *Heros severus*, suplementados com L-triptofano e *Enterococcus faecium* (probiótico autóctone). O experimento foi realizado com tratamentos C+ (controle positivo, com ração suplementada com meio de cultura MRS Broth), C- (controle negativo, com ração suplementada com meio de diluição do triptofano), T1 (tratamento com suplementação de *E. faecium* a  $10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>), T2 (tratamento com suplementação de L-triptofano a 2,5%) e T3 (tratamento com suplementação de *E. faecium* e L-triptofano). Os peixes foram distribuídos em 10 aquários com divisórias centrais de isopor, realizados com quatro repetições, cada repetição com 5 indivíduos. Realizou-se gravações de vídeo com duração de 15 minutos, durante as manhãs, avaliando comportamento agonísticos dos peixes (batida de cauda/corpo, segurar com a boca, mordida, caça, aproximação, submissão e fuga). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade e posteriormente processados em PERMANOVA, distribuídos e nMDS, com as médias dos 30 dias e semanalmente. O grau de dissimilaridade obtido pela PERMANOVA foi estatisticamente significativo ( $p=9,9 \times 10^{-5}$ ). A distribuição nMDS ao longo do período experimental evidenciou pequena similaridade entre os padrões comportamentais dos tratamentos avaliados, diferindo entre os grupos controle (C+ e C-) e os tratamentos T1, T2 e T3, apresentando menos comportamentos agonísticos e mais comportamentos agonísticos, respectivamente. Avaliando os dados em relação ao tempo (semanal) podemos ver a similaridade dos padrões de comportamentos agonísticos se mantendo, ao longo das semanas, contudo há uma significativa mudança nos vetores explicitando uma drástica mudança de correlação dos padrões individuais de comportamento. A suplementação de *E. faecium* e L-triptofano nas concentrações de  $1 \times 10^8$  e 2,5%, respectivamente, aumentaram a presença de comportamentos agonísticos durante o período experimental.

**Palavras-Chave:** Comportamento animal, alimentação, suplementação, psicobiótico.

## Abstract

Animal behavior is fundamental to the viability of an aquaculture enterprise, considering that agonistic behaviors can lead to high mortalities in ornamental aquaculture. With this in mind, this work aimed to evaluate the agonistic behavior of *Heros severus* fry, supplemented with L-tryptophan and *Enterococcus faecium* (autochthonous probiotic). The experiment was carried out with treatments C+ (positive control, with feed supplemented with MRS Broth culture medium), C- (negative control, with feed supplemented with tryptophan dilution medium), T1 (treatment with *E. faecium* supplementation at  $10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>), T2 (treatment with 2.5% L-tryptophan supplementation) and T3 (treatment with *E. faecium* and L-tryptophan supplementation). The fish were distributed in 10 aquariums with central Styrofoam dividers, carried out with four replications, each repetition with 5 individuals. Video recordings lasting 15 minutes were made during the mornings, evaluating the agonistic behavior of the fish (tail/body beating, holding with the mouth, biting, hunting, approaching, submissiveness and escape). The data were subjected to the normality test and subsequently processed in PERMANOVA, distributed and nMDS, with the 30-day and weekly averages. The degree of similarity obtained by the nMDS distribution throughout the experimental period showed a small similarity between the behavioral patterns of the evaluated treatments, differing between the control groups (C+ and C-) and the T1, T2 and T3 treatments, presenting less agonistic behaviors and more agonistic behaviors, respectively. Evaluating the data in relation to time (weekly) we can see the similarity of the agonistic behavior patterns remaining over the weeks, however there is a significant change in the vectors, explaining a drastic change in the correlation of individual behavior patterns. Supplementation of *E. faecium* and L-tryptophan at concentrations of  $1 \times 10^8$  and 2.5%, respectively, decreased the presence of agonistic behaviors during the experimental period.

**Keywords:** Animal behavior, food management, additive, psychobiotic.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus por me conduzir até aqui, por colocar cada pessoa no momento certo em minha vida e que foram fundamentais para que o objetivo fosse alcançado.

Meus sinceros agradecimentos à minha família, em especial aos meus pais, Claudio Ferreira e Sandra Cunha, por serem o meu alicerce, por nunca terem medido esforços para a realização do meu objetivo, por sempre me incentivarem e apoiarem, por se todo amor empregado nos pequenos detalhes. Grata, por serem meus exemplos de amor e humildade, amo vocês!!! Agradeço aos meus irmão Claudio Junior e Jheniffer Loyse, pelo companheirismo, cumplicidade e pelo todo apoio nos momentos delicados da minha vida. Obrigada à minha afilhada, Sofia Sousa, por me ajudar na alimentação dos animais e por sempre querer me acompanhar aos finais de semana para manutenção dos animais.

Meu muito obrigada aos meus queridos amigos Bruno Baltazar, Josias do Carmo e Rogério Silva, com quem convivi intensamente esses 5 anos, obrigada pelos momentos de descontração, por serem companheiros, por todo carinho e companheirismo, pelos dias de estudo na madrugada, por sempre estarmos juntos nos incentivando e buscando sempre o melhor para todos. Jamais esquecerei vocês!!

Ao meu estimado orientador, Keber Junior, or todo empenho no planejamento e execução desse trabalho, pensando em cada detalhe para que fosse realizado da melhor forma possível. Muito Obrigada por repassar seus conhecimentos, por esclarecer todas as minhas dúvidas sendo tão gentil e paciente, respeitando meu tempo, sendo extremamente compreensivo. Agradeço, pela atenção, pelas palavras de incentivo, por sempre instigar meu potencial. Tu és incrível e serei eternamente grata por você me orientar!!

Grato ao meu professor Carlos Cordeiro, pela ajuda de bom grado e pelo incentivo no meu processor acadêmico, grata pela oportunidade de integrar o laboratório de probióticos, foram anos de aprendizado e agradeço a toda a confiança depositada no meu trabalho. Agradeço à minha orientadora Marileide Alves pela parceria e compressão nesse momento de dedicação que é a conclusão do curso. Grata à Alexya Queiroz pela grande ajuda, disponibilizando suas câmeras, me ajudando nas correções e nos gráficos nMDS, sua ajuda foi fundamental para a conclusão dessa pesquisa.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada!!!!

## Sumário

1. INTRODUÇÃO .....	8
1.1. REFERENCIAL TEÓRICO .....	9
1.1.1. Aquicultura ornamental .....	9
1.1.2. Acará severo ( <i>Heros severus</i> ).....	11
1.1.3. Triptofano .....	12
1.1.4. Serotonina.....	13
1.1.5. Psicobióticos.....	14
1.1.6. <i>Enterococcus faecium</i> .....	15
1.2. JUSTIFICATIVA .....	16
1.3. OBJETIVOS.....	16
1.3.1. Objetivo geral .....	16
1.3.1. Objetivos específicos .....	16
2. METODOLOGIA .....	16
2.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	16
2.2. PREPARAÇÃO DAS DIETAS .....	18
2.3. ANÁLISE DE QUALIDADE DA ÁGUA .....	19
2.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	19
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
4. CONCLUSÃO .....	24
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	24
6. REFERÊNCIAS.....	24

## 1. INTRODUÇÃO

O comércio de peixes ornamentais dulcícola no Brasil é oriundo principalmente do extrativismo da Bacia Amazônica. No entanto, os exemplares vindos da piscicultura ornamental costumam ofertar animais com valor muito mais atrativo, visto que as espécies já estejam aclimatadas ao ambiente artificial, quando comparada com estoques selvagens (ANJOS *et al.*, 2009; ABE *et al.*, 2016). Na área da piscicultura ornamental, o acará severo (*Heros severus* (Heckel, 1840)) manifesta potencial para o mercado de aquarofilia, destacando-se pelo potencial para o mercado de ornamental por possuírem ótima adaptação ao ambiente artificial, rusticidade no manejo, fácil reprodução no aquário, além do deslumbre de sua coloração amarelo brilhante (ALISHAHI *et al.*, 2014; CAMPELO *et al.*, 2019; CARVALHO DE OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Os peixes da família *Cichlidae* são exemplos quando se deseja avaliar o comportamento agonístico em virtude de manifestarem esse comportamento por questões territoriais, hierárquica de dominância, acasalamento, como também para obtenção de alimento quando este é limitante (SCAIA *et al.*, 2018). Os peixes da espécie *H. severus* exibem essas características pois são ciclídeos territorialistas resultando em comportamento agonístico, principalmente no período de reprodução (CAMPELO *et al.*, 2019). Os ciclídeos são excelentes modelos biológicos para estudos devido exibirem características importantes para estudos comportamentais agonísticos (AGUIAR & GIAQUINTO, 2018).

Estudos recentes de análise comportamental de ciclídeos mostram resultados promissores em redução de comportamento agonístico com uso do aminoácido L-triptofano (VIEIRA *et al.*, 2021). O L-triptofano (L-TRP) é um aminoácido essencial e por não haver a sua biossíntese, a sua disponibilidade torna-se um fator limitante, sendo necessário os organismos obterem esse aminoácido através de ração suplementada (LIMA *et al.*, 2018). Estudos demonstram que o L-TRP está demonstrando resultados promissores, sendo destinado para controlar a agressividade por meio da suplementação dietética, pelo fato do triptofano ser precursor para a produção do neurotransmissor serotonina (WOLKERS *et al.*, 2012).

A serotonina está sendo relacionada com o aumento da atividade serotoninérgica cerebral, tendo potencial para favorecer a redução do estresse e comportamento agonístico em peixes (HSEU *et al.*, 2003; FRIEDMAN, 2018). A serotonina, 5-Hidroxitriptamina (5-HT), é gerada a partir do aminoácido triptofano, integrante das

monoaminas, é neurotransmissor e atua no sistema nervoso central (SNC) dos animais. E assim a 5-HT atua na liberação de hormônios que contribuem em processos comportamentais e emocionais, como ansiedade, controle da agressividade, estresse e consumo de alimentos (VIEIRA, 2013). A atuação eficiente do sistema serotoninérgico neural possui relação com a diminuição da agressividade (AUDERO *et al.* 2013).

Alguns gêneros de bactérias possuem a capacidade de biossíntese de substâncias como enzimas digestivas (ARANI *et al.*, 2019), ácidos graxos, vitaminas, aminoácidos (MARTÍNEZ CRUZ *et al.*, 2012) e neurotransmissores (WALL *et al.*, 2016; DICKS, 2022), causando impactos positivos no sistema imune (TACHIBANA *et al.*, 2020), desempenho zootécnico (DE COSTA *et al.*, 2019) e até comportamento animal (EVRENSEL *et al.*, 2019). As bactérias probióticas que produzem substâncias que alteram o comportamento são chamadas de psicobióticos (EVRENSEL *et al.*, 2019, DEL TORO-BARBOSA *et al.*, 2020).

Psicobiótico é a denominação para probióticos que agem tanto no trato gastrointestinal quanto no sistema nervoso central, afetando funções comportamentais, além de intervir na produção de compostos como ácido gama amino-butírico (GABA), serotonina, como também no fator neurotrófico derivado do cérebro (CHENG *et al.*, 2019). O GABA é classificado como aminoácido não proteico, sendo identificado em plantas quanto em animais (LUGLI G *et al.*, 2020).

O GABA age em funções fisiológicas e psicológicas, presente no cérebro e atua como neurotransmissor inibitório, controlando a agressividade e funções cognitivas. O estudo realizado por Sakkaa *et al.*, (2022) comprova que a bactéria probiótica *Enterococcus faecium* pode ser denominada como psicobiótico para organismos aquáticos devido sua eficiência na produção de GABA. Sabna *et al.*, (2021) confirma que as bactérias ácido lácticas têm potencial para fabricar GABA.

## 1.1. REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1.1. Aquicultura ornamental

O interesse humano por peixes se divide exclusivamente em: alimentação, pesca esportiva e ornamentação (CARDOSO *et al.*, 2021). A aquicultura ornamental compreende na criação de organismos aquáticos para fins contemplativos, sendo uma *hobby* mundialmente popular (ANDREWS, 1990; IBAMA, 2008; BIONDO & BURKI, 2020).

A indústria de peixe ornamental foi avaliada em, aproximadamente, 15 bilhões de dólares (FAO, 2022). Abrangendo todos os continentes, sendo os principais a Ásia, Europa e América do Norte (PRANG, 2008; BIONDO & BURKI, 2020). Os principais países importadores são os Estados Unidos, Reino Unido e Alemanha, enquanto os principais exportadores são Singapura, Espanha e Japão (CARDOSO *et al.*, 2021).

O Brasil é o décimo terceiro maior exportador mundial (CARDOSO *et al.*, 2021), os peixes ornamentais amazônicos desempenham papel importante nas exportações nacionais (TRIBUZY-NETO *et al.*, 2020), neste cenário o Brasil é conhecido como um dos principais exportadores de peixes com formatos variados e cores diversificadas, principalmente obtidos pelo extrativismo da região amazônica (CHAO & PRANG, 1997; CARDOSO *et al.*, 2021).

A biodiversidade disposta pela floresta amazônica disponibiliza um vasto patrimônio genético a ser explorado de forma sustentável (GONÇALVES, 2009; RANGEL, 2012). Dentre as inúmeras espécies de organismos aquáticos exportados na região amazônica, a família *Cichlidae* destaca-se em exportação, sendo a segunda família mais exportada no estado do Amazonas com mais de 71 espécies comercializadas totalizando 1.766.310 exemplares (TRIBUZY-NETO *et al.*, 2020).

A família dos ciclídeos é uma das famílias mais diversas, com predominância, principalmente em regiões de climas tropicais, próximas a linha do equador, estima-se que haja mais de 2.000 espécies dessa família, porém apenas 1.300 foram catalogadas (KULLANDER, 2003; CARLETON & YOURICK, 2020). Os espécimes dessa família são apreciados pela aquicultura ornamental por sua grande variedade de comportamento, cores e por seu tamanho moderado, contudo apresentam comportamento territorialista e agressivo no período da reprodução, mesmo após a eclosão dos ovos (KULLANDER, 2003).

Tais características atraem consumidores para o mercado ornamental amazônico, como foi reportado por Tribuzy-neto *et al.*, (2020) que relatou a exportação de peixes amazônicos, sendo possível aferir o destaque dos organismos Aggie (*Apistogramma agassizii*), Tetra Neon Verde (*Paracheirodon simulans*) e o acará severo (*Heros severus*) no mercado internacional.

### 1.1.2. Acará severo (*Heros severus*)

O acará severo (*H. severus*) é uma espécie amazônica, com distribuição na bacia do Rio Orinoco, Rio Amazonas e Rio Negro, perpassando pelo Brasil, Colômbia e Venezuela (KULLANDER, 2003; STAECK & SCHINDLER, 2015). É uma espécie de corpo uniformemente amarelado com tonalidades esverdeadas na região da cabeça tendendo a coloração esverdeada e ventre avermelhado possuindo oito faixas marrons escuras ao longo do corpo (KULLANDER, 2003) (Figura 1).



**Figura 1:** Um exemplar macho, adulto, de *Heros severus*, com, aproximadamente, 15 cm de comprimento, fotografado em aquário. Fonte: Staeck e Schindler (2015).

Vários pesquisadores focam no desenvolvimento do pacote tecnológico do acará severo, considerado por Ribeiro *et al.*, (2010) como espécie com tecnologia em desenvolvimento. Todas as pesquisas desenvolvidas até o momento focam, principalmente, no desenvolvimento zootécnico do *H. severus*. Como o experimento realizado por Abe *et al.* (2016) que avaliou a concentração de alimentos vivos ofertados, frequência alimentar e densidade de estocagem na larvicultura de acará severo.

VERAS *et al.* (2016) observaram o impacto de diferentes fotoperíodos no desempenho zootécnico de larvas de acará severo. Paixão *et al.* (2019) testou frequência alimentar em diferentes estágios de vida do animal (larva e juvenil). Campelo *et al.* (2019) buscou avaliar o tempo de oferta de *Artemia* sp. e a transição alimentar para pós-larvas de acará severo. Oliveira *et al.* (2020) avaliou a estratégia de crescimento compensatório da espécie após utilizar diferentes concentrações de náuplios de *Artemia* sp. e, no aspecto nutricional, de Sousa *et al.* (2021) avaliou a exigência proteica do acará severo em diferentes estágios de vida (alevino e juvenil). Contudo há uma carência de pesquisas voltadas para o comportamento do acará severo que, por ser um

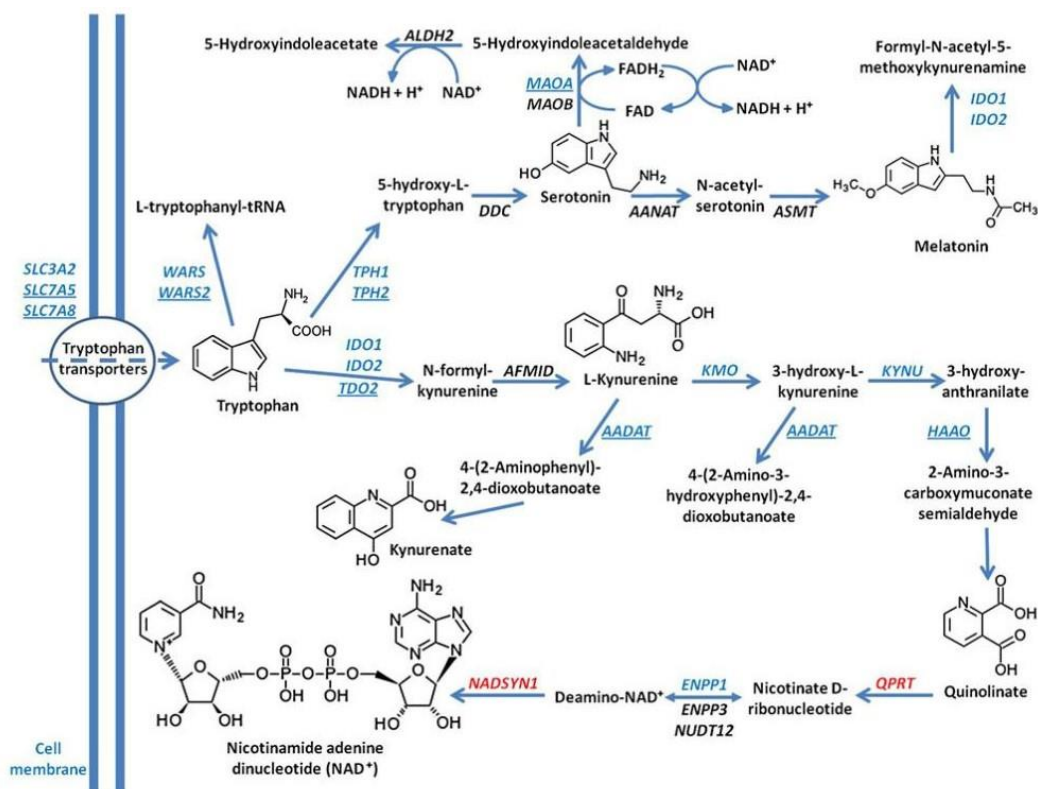
ciclídeo, pode apresentar comportamento agonístico acentuado (KULLANDER, 2003; KORZAN & FERNALD, 2007; MORANDINI *et al.*, 2019)

### 1.1.3. Triptofano

Os aminoácidos são componentes orgânicos das células que desempenham papel estrutural, principalmente relacionado a formação de tecidos compondo as proteínas, e funcionais, atuando como precursores de neurotransmissores nas funções cerebrais (CARVALHO-SANTOS, *et al.*, 2010; GEROZISSIS, 2004). Entre os inúmeros trabalhos desenvolvidos relacionados à diminuição do comportamento agonístico, a utilização da suplementação do aminoácido L-triptofano destaca-se por apresentar resultados promissores (WOLKERS *et al.*, 2012; MORANDINI *et al.*, 2019; YE *et al.*, 2021).

O triptofano é um aminoácido essencial, logo ele não pode ser sintetizado pelo organismo, sendo obrigatória sua ingestão para bom funcionamento do metabolismo animal (SAINIO *et al.*, 1996). Este aminoácido é essencial para síntese de diversas proteínas (HOU & WU, 2018; WU, 2022), possui também diversas propriedades farmacológicas (SAINIO *et al.*, 1996; MODOUX *et al.*, 2021), sendo a função neuropsiquiátrica de grande destaque, estando diretamente relacionada as desordens do espectro autista (BOCCUTO *et al.*, 2013), redução da ansiedade e depressão (ARGYROPOULOS *et al.*, 2004; LINDSETH *et al.*, 2015) podendo atuar no controle do comportamento agressivo em humanos (SPRING, CHIODO & BOWEN, 1987; YE *et al.*, 2021) e organismos aquáticos (WOLKERS *et al.*, 2012; MORANDINI *et al.*, 2019).

O aminoácido triptofano apresenta uma complexa rede de reações, sendo convertidas por organismos em diversas substâncias (Figura 2). Contudo destaca-se entre os aminoácidos essenciais para os animais, por ser precursor do neurotransmissor cerebral serotonina (SAINIO *et al.*, 1996; YE *et al.*, 2021), portanto o triptofano mostra-se como nutriente limitante para que o eixo serotoninérgico tenha eficiência (FERNSTROM, 1983; BOADLE-BIBER, 1993).



**Figura 2:** Representação esquemática da complexa cadeia que pode ocorrer no triptofano no metabolismo intracelular. Fonte: Boccutto *et al.*, (2013)

A suplementação por triptofano além de estar relacionada com aumento de serotonina no cérebro, auxilia também no aumento de acumulação corporal diária tanto de proteínas quanto de gorduras, facilitando a produção de músculos, por apresentar mais eficiência na utilização do alimento (BONFIM *et al.*, 2020).

Em consonância com isso, estudos relacionados aos efeitos da suplementação por L-triptofano em ciclídeos *Cichlasoma dimerus*, demonstraram redução do comportamento agonístico do ataque entre machos durante o período diurno e, conseqüentemente, a relação destes com os subordinados, frente a competições diárias masculinas (MORANDINI *et al.*, 2019). Essa suplementação também pode reduzir o comportamento agressivo em juvenis de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos a dietas suplementadas por L-triptofano durante 7 dias, antes e após a exposição a estresse agudo (VIEIRA *et al.*, 2021).

#### 1.1.4. Serotonina

A serotonina (5-hidroxitriptamina, 5HT) integra o grupamento das aminas biogênicas, sua produção é feita a partir do aminoácido essencial triptofano (MOHAMMAD-ZADEH *et al.*, 2008). A serotonina é conhecida por ser o

neurotransmissor fundamental com influência no comportamento agonístico e aumento da subordinação social como forma de adequação, frente ao estresse agudo e crônico (STODDARD *et al.*, 2003), neurônios são células nervosas responsáveis por transmitir estímulos elétricos a longas distâncias, propagando as informações através da emissão de mensageiros químicos chamados de neurotransmissores (PURVES *et al.*, 2010).

Estudos evidenciam que a serotonina apresenta múltiplas funções, estando associada a atenuação do comportamento agonístico, efeitos na relação dominante-subordinado e agressão, resposta ao estresse em interação social (CLOTFELTER *et al.*, 2007; LEPAGE *et al.*, 2005; BACKSTRÖM & WINBERG, 2017). De acordo com CARRILLO *et al.*, 2009 após fazer uma revisão bibliográfica de 84 artigos, evidenciaram a relevância do sistema serotoninérgico no controle de agressões em uma gama de espécies apontando o potencial de atenuação de comportamento de diversos animais.

### **1.1.5. Psicobióticos**

Psicobiótico é uma nova classe de probióticos que agem no sistema nervoso central (SNC) influenciando funções e comportamentos do hospedeiro, sendo definido por Dinan *et al.*, (2013) como “um organismo vivo que, quando ingerido em quantidades adequadas, produz um benefício para a saúde dos pacientes que sofrem de doenças psiquiátricas”.

Apesar dos mecanismos de ação destas bactérias probióticas não estarem bem elucidadas, sabe-se que as vias de ações não se restringem a doenças psicológicas/psicossomáticas (DEL TORO-BARBOSA *et al.*, 2020), logo Yong-Ku (2019) atualizou a definição para “os psicobióticos são bactérias vivas que produzem direta e indiretamente efeitos nas funções neuronais por colonização nas vias intestinais”.

Mesmo com ausência de informações efetivas que esclareçam a relação dessas bactérias com o encéfalo, referente as vias dos sistemas endócrino, metabólico, imune e eixo intestino-cérebro (DINAN *et al.*, 2013; EVRENSEL & EMIN CEYLAN, 2017), já existem estudos que comprovam redução nos sintomas de esquizofrenia, alcoolismo, ansiedade, deficiência cognitiva, depressão e autismo, principalmente por meio da redução da neuroinflamação (EVRENSEL & EMIN CEYLAN, 2017; EVRENSEL, ÜNSALVER & CEYLAN, 2018; YONG-KU, 2019).

Quando as bactérias colonizam o tecido gastrointestinal, estimulam a produção de células de defesa que reagem com a liberação de citocinas que podem ser inflamatórias ou anti-inflamatórias (EVRENSEL, ÜNSALVER & CEYLAN, 2018; YONG-KU, 2019), alguns exemplos de psicobióticos que estimulam os sistemas receptores do tipo Toll (TLRs) para produção de citocinas anti-inflamatórias são *Bifidobacterium infantis* e *Lactobacillus rhamnosus* (SARKAR *et al.*, 2016; YONG-KU, 2019).

Há também a promoção de compostos neuroativos que promovem bem estar cerebral como o ácido gama-aminobutírico (GABA) (CHENG *et al.*, 2019). GABA é um aminoácido não proteico, sintetizado pelo glutamato através da enzima glutamato-descarboxilase, e que podem ser encontrados como metabolitos de plantas, animais como também em microrganismos (DURANTI *et al.*, 2020). Além de ser um importante neurotransmissor inibitório, o GABA é um componente neuroativo presente em diversas funções fisiológicas (DIANA *et al.*, 2014) com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (SAKKAA *et al.*, 2022). Muitas bactérias ácido lácticas como *Lactobacillus brevis* conseguem sintetizar elevadas quantidade de GABA (SOKOVIC BAJIC *et al.*, 2019).

#### **1.1.6. *Enterococcus faecium***

Diversos estudos evidenciam a eficácia da bactéria ácido láctica *Enterococcus faecium* como probiótica, tanto em humanos quanto em outros mamíferos (SCHAREK *et al.*, 2005; LODEMANN *et al.*, 2015; BAGCI *et al.*, 2019) assim como para peixes e outros organismos aquáticos, auxiliando no aumento do sistema imune e na digestibilidade, conferindo maior resistência a adversidades ambientais e melhoramento no desempenho zootécnico (da COSTA SOUSA *et al.*, 2019; DIAS *et al.*, 2019; TACHIBANA *et al.*, 2020; SAKKAA, ZAGHLOUL & GHANEM, 2022).

Estudos objetivando examinar a propriedade probiótica e capacidade de produção de GABA por *Enterococcus faecium* (*in vitro*), demonstram que essa bactéria exibe atributos e pré-requisitos que demonstram a sua eficiência como cepa probiótica e psicobiótica, por sua elevada produção de GABA (BS *et al.*, 2021). Além do seu potencial probiótico, ela eventualmente pode melhorar a inflamação generalizada e o estresse oxidativo, além de ter ação antisséptica (Zaghloul *et al.*, 2023).

Sakkaa *et al.*, (2022) demonstra que a bactéria *E. faecium* isoladas de cinco diferentes espécies de camarões marinhos apresentaram elevada habilidade para

produção de GABA, podendo possivelmente ser um psicobiótico para outros organismos aquáticos, por apresentar as qualidades necessárias para ser chamado de psicobiótico como: sobrevivência em pH baixo e resistência a sais biliares.

## **1.2. JUSTIFICATIVA**

A área da neurociência nutricional está em expansão graças as vantagens que as fontes nutricionais fornecem aos animais, tendo potencial para agir em áreas do sistema nervoso central responsáveis por melhorar seu bem estar. Neste sentido, as proteínas contribuem com o fornecimento de aminoácidos essenciais que são componentes celulares estruturais e funcionais, como também responsáveis por funções nervosas. Estudos evidenciam que o uso do aminoácido essencial L-triptofano e da bactéria probiótica *Enterococcus faecium*, como suplementos alimentares em dietas, podem alterar o comportamento de peixes, podendo ser uma estratégia eficiente na piscicultura, atuando na redução do comportamento agonístico e, possivelmente, auxiliando na redução no canibalismo.

## **1.3. OBJETIVOS**

### **1.3.1. Objetivo geral**

- Avaliar a influência da suplementação dietética de L-triptofano e Bactéria probiótica autóctone (*E. faecium*) nos comportamentos agonístico de alevinos de acará severo (*H. severus*).

### **1.3.1. Objetivos específicos**

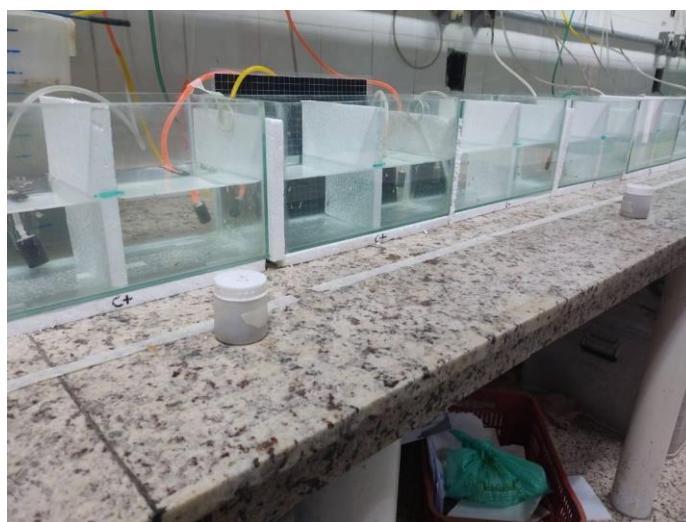
- Avaliar alterações de padrões de comportamentos agonísticos em alevinos de acará severo (*H. severus*) suplementados com L-triptofano;
- Averiguar as alterações de padrões de comportamento agonístico em alevinos de acará severo suplementados com bactéria probiótica autóctone (*E. faecium*).

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

Os ensaios experimentais foram realizados no Laboratório de Carcinologia, da Faculdade de Engenharia de Pesca, do Instituto de Estudos Costeiros (IECOS), da Universidade Federal do Pará (UFPA)- *campus* Bragança. Utilizou-se 100 alevinos de acará severo (*H. severus*). A obtenção dos exemplares ocorreu através da reprodução dos casais em ambiente controlado, no Laboratório de Carcinologia.

O experimento foi conduzido em 10 aquários de vidro transparente de 6L (16,5 x 16,5 x 33 cm), cada aquário foi dividido ao meio, com isopor, nas extremidades externas de cada aquário foi posto um retângulo (dimensão) do mesmo material supracitado para não haver contato visual entre os tratamentos e repetições. No início do experimento foi realizada uma biometria inicial dos animais, avaliando comprimento total ( $13,18 \pm 2,42$  mm), comprimento padrão ( $8,85 \pm 2,09$  mm) e peso ( $46,55 \pm 20,14$  mg). Em seguida foram distribuídos aleatoriamente em cada lado dos 10 aquários, na proporção de 2,5 peixes por litro, em um volume de 2L de água por repetição, totalizando 5 peixes por cada repetição (Figura 3).



**Figura 3:** Disposição do espaço experimental onde foram dispostos os aquários para a gravação durante o período de 30 dias.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições e cinco tratamentos, que consistiram em: Controle (apenas ração e meio de cultura), Controle negativo (ração e solução de diluição do L-triptofano), T1 (ração com suplementação de *Enterococcus faecium* a  $10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>), T2 (ração com 2,5% de triptofano), T3 (suplementação de  $10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> e 2,5% de L-triptofano).

As gravações de comportamento foram realizadas com uma câmera GoPro Hero 4, diariamente com duração de 15 minutos para cada aquário, avaliando

comportamentos agonísticos de agressão e submissão (Tabela 1), utilizou-se uma tela milimetrada, delineando o espaço em cm<sup>2</sup>, para definir territorialidade metodologia adaptada de Morandini *et al.* (2019). Os dados do comportamento agonístico foram planilhados (Anexo I) para realização das análises estatísticas.

**Tabela 1:** Definições do comportamento agonístico analisados nas gravações, método adaptado de Morandini, *et al.*, (2019).

Definições	
Batidas de calda/corpo	Ambos animais se posicionam em paralelo próximos, mas sem efetuar contato físico, batendo com a calda ou corpo
Mordida	O animal contata o corpo do seu adversário com a boca, a abrindo e fechando
Caça	Peixe move-se rapidamente em direção ao seu oponente, caçando-o por mais que o comprimento do tamanho do seu corpo (sem contato físico)
Aproximação	O indivíduo move-se rapidamente em direção ao seu oponente, porém a uma distância menor que o tamanho do seu corpo, o intimidando
Submissão	O peixe permanece relativamente imóvel, ligeiramente inclinado para cima, em resposta às abordagens ou mordidas do adversário
Fuga	O peixe afasta-se, respondendo às mordidas, aproximações ou perseguições do adversário

O experimento teve duração de 30 dias com frequência alimentar *ad libitum* de duas vezes ao dia. Todas as repetições possuíram aerações individuais, realizadas através de mangueira de 2 mm ligadas a um compressor radial fotoperíodo de 12h, e ao final de cada dia havia o sifonamento de todas as unidades experimentais, com troca de aproximadamente 50% do volume de cada aquário.

## 2.2 PREPARAÇÃO DAS DIETAS

A ração utilizada foi a Tetra Ciclídeos (Poytara Rações) de concentração de 45% proteína bruta (PB), 4,5% Extrato Etéreo (EE), 3% Fibra Bruta (FB), 7% Matéria Mineral (MM), 1,5% Cálcio (Ca), 1,1% Fosforo (P), 2,6% L-lisina e 0,5% triptofano.

Logo, os tratamentos foram suplementados com 2% (T2 e T3) de L-triptofano, totalizando 2,5% de triptofano.

O L-triptofano foi diluído em solução com 85% água destilada, 10% ácido clorídrico a 10% e 5% álcool 95° seguindo a metodologia descrita por Morandini, *et al.* (2019) e suplementadas por aspersão e então as rações foram encaminhadas para a estufa onde ficaram a uma temperatura de 35°C por 24 horas.

O crescimento da *Enterococcus faecium* foi realizado em meio Man Rogoza Sharpe (MRS) levado para estufa bacteriológica, incubadas a 35 °C por 24 horas. A bactéria foi suplementada a ração também por aspersão e então encaminhadas para uma estufa a 35 °C por 24 horas, a concentração de *E. faecium* na ração foi de  $1 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> (DA COSTA SOUSA *et al.*, 2019; JATOBÁ & MOURIÑO, 2015).

### 2.3 ANÁLISE DE QUALIDADE DA ÁGUA

Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade de água como, temperatura ( $29,54 \pm 1,88$  °C), oxigênio dissolvido ( $5,4 \pm 1,88$  mg. L<sup>-1</sup>) e pH ( $7,39 \pm 0,2$ ), foram aferidos com auxílio de uma sonda multiparâmetro (Horiba) e amônia total a cada três dias utilizando kits de medição de amônia total ( $0,0059 \pm 0,0034$  mg. L<sup>-1</sup>) para água doce (Labcon Test).

### 2.4 ANALISE ESTATÍSTICA

Os dados analisados de comportamento foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-wilk), como os resultados foram não paramétricos realizou-se a estatística multivariada PERMANOVA, sendo valor de  $P < 0,05$  significativo, expressos em gráfico escalonamento multidimensional não métrico (nMDS), considerando o índice de Jaccard, calculados no programa RSstudio (Borcard *et al.*, 2018). O cálculo de mortalidade foi realizado nos programas Excel 2016, PAST 3.

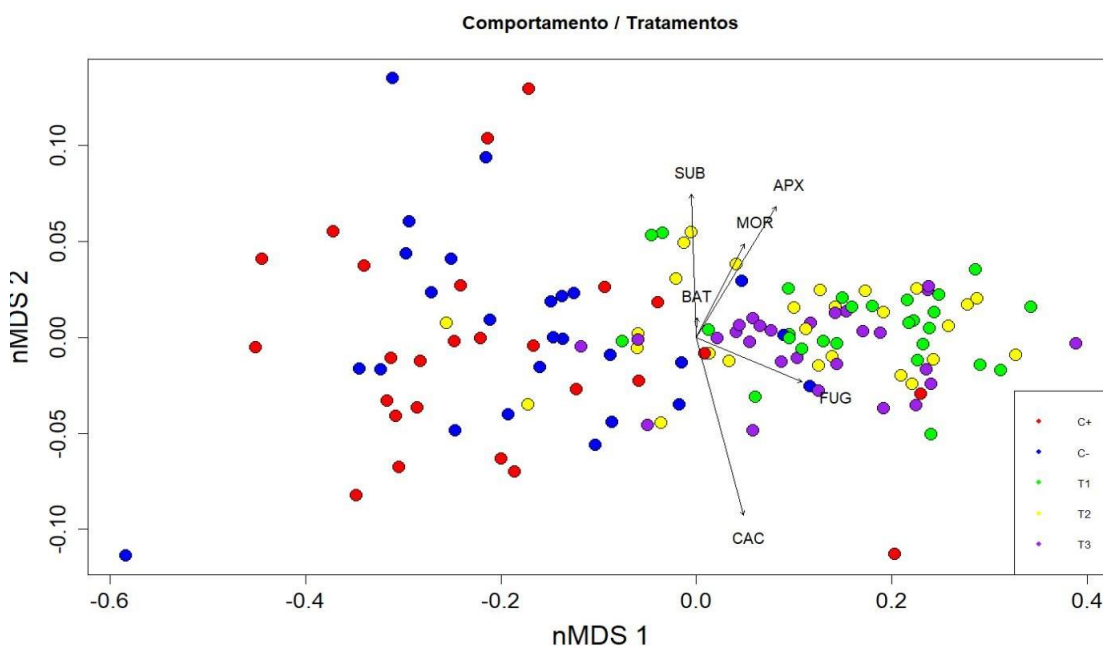
## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve mortalidade estatisticamente significativa entre os tratamentos avaliados durante o período experimental. O grau de dissimilaridade obtido pelo cálculo de PERMANOVA foi estatisticamente significativo ( $p=9,9 \times 10^{-5}$ ).

O gráfico nMDS foi construído a partir das médias de todos os parâmetros analisados (pontos coloridos) através da observação dos comportamentos de cada dia

experimental. Os pontos em vermelho, azul, verde, amarelo e roxo representam os tratamentos C+, C-, T1, T2 e T3, respectivamente. As distâncias dos pontos ao longo dos eixos, nos mostram as relações de uma matriz de dissimilaridade entre os tratamentos, ou seja, quanto mais são próximos os pontos mais similares são seus resultados (BORCARD *et al.*, 2018)

A distribuição dos pontos nos tratamentos C+ e C- demonstraram proximidade entre seus resultados, expressando a similaridade entre eles, no entanto observa-se que esses respectivos pontos não estão totalmente segregados dos demais, visto que, observamos uma pequena ocorrência dos outros tratamentos, refletindo um baixo índice de similaridade. Os resultados entre os tratamentos T1, T2 e T3 mostram forte correlação de similaridade entre si, além disso, notamos uma distância relativa destes tratamentos em relação aos tratamentos C+ e C-, expressando um baixo índice de similaridade comportamental, contudo apresentam pontos próximos entre si, mostrando correlação de comportamento entre estes tratamentos controles (Figura 4).



**Figura 4:** Análise multivariada nMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling) comparando a ocorrência de comportamento agonísticos ao longo dos 30 dias experimentais.

Referente à similaridade de padrão de comportamentos agonísticos apresentados no gráfico nMDS dos tratamentos suplementados com a bactéria probiótica *E. faecium* (tratamentos T1 e T3), os dados mostram que esses tratamentos tiveram similaridade em comportamentos agonísticos, com maior ocorrência em relação aos tratamentos controle. Tais afirmações contrariam a suposição do autor Sakkaa *et al.*, 2022, que supôs

que a bactéria teria ação psicobiótica ao comprovar sua capacidade de sintetização *in vitro* de GABA.

Há estudos que corroboram com a hipótese de Sakkaa *et al.*, 2022, ratificando a capacidade do GABA de atenuar o comportamento agonístico dos animais com o uso de dieta suplementada por triptofano, possibilitando o aumento do sistema serotoninérgico que está diretamente relacionado por modular a agressão como ter influência sobre o estresse (LEPAGE *et al.*, 2002; VIEIRA *et al.*, 2021; SALAMANCA *et al.*, 2020). Contudo, Narvaes & Martins de Almeida (2014) expõe em sua revisão que a modulação do comportamento está diretamente relacionada com o tipo de ação que o receptor exerce, sendo o  $GABA_A$  responsável pela atenuação do comportamento e  $GABA_B$  aumento da agressividade.

No entanto, os resultados obtidos nesse experimento mostraram que o comportamento agonístico não diminuiu com a suplementação de L-triptofano, tampouco quando mesclado com bactéria probiótica. Efeito semelhante foi encontrado por Clotfelter *et al.*, 2007 ao adicionar triptofano na dieta para a espécie *Betta splendens* em concentrações de 1,5 g e 15 g, não obteve êxito sobre o comportamento agonístico da espécie.

Segundo Carrillo *et al.*, 2009, o aumento de 5-HT é diretamente depende de diversas variáveis como classe animal, espécie/linhagem, sexo e estágio de vida. Ademais, dependendo do teor de triptofano na dieta a concentração possa ser insuficiente para que o sistema serotoninérgico seja elevado, afim de que cause o efeito desejado (VIEIRA, 2013; WOLKERS *et al.*, 2012). Evidencias em humanos mostram que a quantidade de serotonina cerebral pode ser modulada pela suplementação, assim como esse aminoácido essencial livre possa vir a competir com outros cinco aminoácidos neutros como valina, isoleucina, leucina, tirosina e fenilalanina, pelo mesmo transportador na barreira hematoencefálica (ROSSI E TIRAPEGUI, 2004)

Os vetores representam a correlação individual entre cada comportamento agonístico analisado (batida de cauda/corpo, segurar com a boca, mordida, caça, aproximação, submissão e fuga). As análises dos vetores expressados no gráfico nMDS mostram a relação entre os padrões de comportamento, os ângulos dos vetores apontam a direção da relação entre eles, quanto menor for a distância for entre elas, mais positiva é sua correlação. Se o ângulo estiver perpendicular, eles não se correlacionam. Nesse caso, ângulos opostos têm correlação negativa.

No gráfico nMDS (figura 4) observamos a correlação forte positiva entre os vetores relativos à mordida e aproximação, e fraca entre batida de corpo e submissão, estas apresentam correlação forte negativa a comportamento de caça. O comportamento de fuga não apresentou forte correlação aos demais comportamentos, contudo apresenta uma proximidade a caça.

Relativo à evolução dos padrões de comportamentos agonísticos semanalmente (figura 5), através de gráficos nMDS, podemos aferir que no decorrer das semanas houveram poucas flutuações referentes à similaridade nos tratamentos C+ e C- apresentando sua forte relação de similaridade nos resultados. Os tratamentos T1, T2 e T3 estão mais agrupados, mostrando serem similares, não obstante observamos uma pequena variação nos resultados de T2 (Figura 5C) com ocorrência de comportamento mais centralizada no gráfico, quando comparado com as demais semanas.

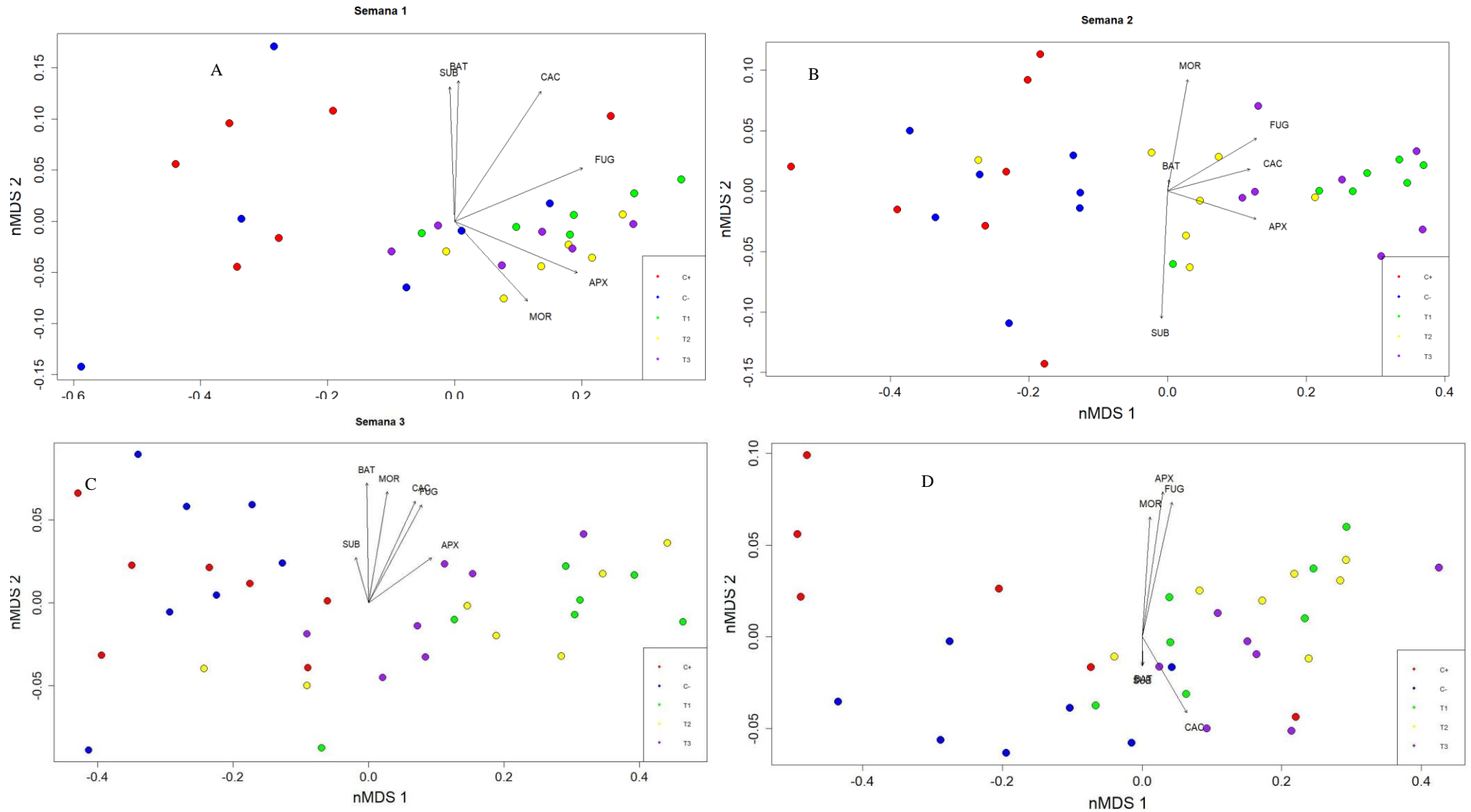
Esse comportamento pode ocorrer devido a necessidade de tempo de adesão/colonização da bactéria probiótica no tecido intestinal dos peixes, como é afirmado por Merrifield & Carnevalie (2014), que dependendo da espécie das cepas probióticas o tempo de adesão pode variar entre 15 e 28 dias, para concentrações superiores a  $10^6$  UFC.g<sup>-1</sup>. Desta maneira as flutuações presentes nos comportamentos com probióticos (T1 e T3), poderiam alterar ao longo das semanas.

Com relação ao tempo, as mais significativas mudanças foram referentes ao sentido dos vetores que representam a correlação de cada comportamento individualmente. Observa-se, que na primeira semana os vetores de batida de corpo e submissão exibiram correlação positiva forte e os demais obtiveram correlações fracas e nulas entre si (Figura 5A).

Na segunda semana os vetores não apresentaram correlação positiva forte, expressando, em geral, correlação fracas e nulas, exceto pelos comportamentos mordida e submissão que mostraram forte correlação oposta (Figura 5B). Os vetores comportamentais na terceira semana apresentaram correlações drásticas com relação as demais semanas, com forte correlação de caça e fuga, e moderada correlação entre os comportamentos de submissão, batida de corpo, mordida e aproximação (Figura 5C)

Durante a quarta semana podemos perceber a forte correlação positiva entre os comportamentos mordida, aproximação e fuga, sendo estes comportamentos com correlação moderada e negativa a batimento de corpo e submissão. Já o vetor

representante de caça apresenta leve correlação positiva a batida de corpo e moderada correlação negativa à mordida aproximação e fuga



**Figura 5:** Análise multivariada nMDS (Non-Metric Multidimensional Scaling) comparando a similaridade na ocorrência comportamento agonísticos discriminados semanalmente. Sendo o gráfico A, representação nMDS da primeira semana; gráfico B, representação NMDS da segunda semana; gráfico C, representação nMDS da terceira semana; gráfico D, representação nMDS da quarta semana experimental.

#### 4. CONCLUSÃO

O presente estudo contestou que os comportamentos agonísticos dos tratamentos com suplementação de L-triptofano e *Enterococcus faecium* apresentaram maiores similaridade, acentuando a presença dos comportamentos avaliados, atestando que as concentrações utilizadas no experimento são inadequadas para redução dos comportamentos agonísticos avaliados.

#### 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a desuniformidade de padrão de comportamento agonísticos apresentados pelos alevinos de *Heros severus*, podemos supor que fatores externos influenciaram o comportamento animal no período de gravação, desta forma, metodologias mais rebuscadas para que a ação antrópica (ruídos e a presença humana no laboratório) afete menos o comportamento animal, utilização de câmeras mais robustas para não haver falhas na captação de imagens inclusive a inclusão de uma câmera superior para captação de imagens de outro ângulo para confirmação dos comportamentos, quando necessário.

Indica-se também um experimento para analisar a concentração adequada do L-triptofano para atenuação do comportamento agonístico, assim como utilizar adultos para reduzir a desuniformidade do lote, devido a menor taxa de crescimento desta fase e estabelecimento de padrões de comportamento relativos a processo reprodutivo.

#### 6. REFERÊNCIAS

- Abe, H. A., Dias, J. A. R., Reis, R. G. A., Sousa, N. D. C., Ramos, F. M., & Fujimoto, R. Y. 2016. Manejo alimentar e densidade de estocagem na larvicultura do peixe ornamental amazônico *Heros severus*.
- Aguiar, A., & Giaquinto, P. C. 2018. Low cholesterol is not always good: low cholesterol levels are associated with decreased serotonin and increased aggression in fish. *Biology Open*, 7(12), bio030981.
- Alishahi, M., Karamifar, M., Mesbah, M., & Zarei, M. 2014. Hemato-immunological responses of *Heros severus* fed diets supplemented with different levels of *Dunaliella salina*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40, 57-65.

- Audero, E., Mlinar, B., Baccini, G., Skachokova, Z. K., Corradetti, R., & Gross, C. 2013. Suppression of serotonin neuron firing increases aggression in mice. *Journal of Neuroscience*, 33(20), 8678-8688.
- Andrews, C. 1990. The ornamental fish trade and fish conservation. *Journal of fish Biology*, 37, 53-59.
- Argyropoulos, S. V., Hood, S. D., Adrover, M., Bell, C. J., Rich, A. S., Nash, J. R., ... & Nutt, D. J. 2004. Tryptophan depletion reverses the therapeutic effect of selective serotonin reuptake inhibitors in social anxiety disorder. *Biological psychiatry*, 56(7), 503-509.
- Backström, T., & Winberg, S. 2017. Serotonin coordinates responses to social stress—What we can learn from fish. *Frontiers in neuroscience*, 11, 595.
- Bagci, U., Ozmen Togay, S., Temiz, A., & Ay, M. 2019. Características probióticas de cepas de *Enterococcus faecium* produtoras de bacteriocina isoladas de leite humano e colostro. *Folia microbiologica*, 64, 735-750.
- Bested, A. C., Logan, A. C., & Selhub, E. M. 2013. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: part I—autointoxication revisited. *Gut Pathogens*, 5, 1-16.
- Biondo, M. V., & Burki, R. P. 2020. A systematic review of the ornamental fish trade with emphasis on coral reef fishes—an impossible task. *Animals*, 10(11), 2014.
- Boadle-Biber, M. C. 1993. Regulation of serotonin synthesis. *Progress in biophysics and molecular biology*, 60(1), 1-15.
- Boccutto, L., Chen, C. F., Pittman, A. R., Skinner, C. D., McCartney, H. J., Jones, K., ... & Schwartz, C. E. 2013. Decreased tryptophan metabolism in patients with autism spectrum disorders. *Molecular autism*, 4(1), 1-10.
- Bomfim, M. A. D., Marchão, R. S., Ribeiro, F. B., Siqueira, J. C. D., Silva, L. R., & Takishita, S. S. 2020. Digestible tryptophan requirement for tambaqui (*Colossoma macropomum*) fingerlings. *Revista Ciência Agronômica*, 51.
- Bs, S., Thankappan, B., Mahendran, R., Muthusamy, G., Femil Selta, D. R., & Angayarkanni, J. 2021. Evaluation of GABA production and probiotic activities of *Enterococcus faecium* BS5. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 993-1004.
- Campelo, D. A. V., Silva, I. C., Marques, M. H. C., Eiras, B. J. C. F., Brabo, M. F., De Moura, L. B., & Veras, G. C. 2019. Estratégias alimentares na larvicultura do peixe

- ornamental amazônico acará-severo (*Heros severus*)(Heckel, 1840). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 71, 1601-1608.
- Cardoso, R. S., Santos, F. W. M., Rezende, F. P., & Ribeiro, F. A. S. 2021. O comércio de organismos aquáticos ornamentais. *Rezende, FP; Fujimoto, RY Peixes ornamentais no Brasil: mercado, legislação, sistemas de produção e sanidade. Brasília, Distrito Federal: Embrapa*, 15-82.
- Carleton, K. L., & Yourick, M. R. (2020, October). Axes of visual adaptation in the ecologically diverse family Cichlidae. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 106, pp. 43-52). Academic Press.
- Carrillo, M., Ricci, L. A., Coppersmith, G. A., & Melloni, R. H. 2009. The effect of increased serotonergic neurotransmission on aggression: a critical meta-analytical review of preclinical studies. *Psychopharmacology*, 205, 349-368.
- Chauhan, A., & Singh, R. 2019. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach. *Symbiosis*, 77(2), 99-113.
- Chao, N. L., & Prang, G. 1997. Project Piaba--towards a sustainable ornamental fishery in the Amazon. *Aquarium Sciences and Conservation*, 1, 105-111.
- Cheng, L. H., Liu, Y. W., Wu, C. C., Wang, S., & Tsai, Y. C. 2019. Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. *Journal of food and drug analysis*, 27(3), 632-648.
- Shoib, S., & Kim, Y. K. 2019. The frontiers of suicide. *Frontiers in Psychiatry: Artificial Intelligence, Precision Medicine, and Other Paradigm Shifts*, 503-517.
- Clotfelter, E. D., O'Hare, E. P., McNitt, M. M., Carpenter, R. E., & Summers, C. H. 2007. Serotonin decreases aggression via 5-HT1A receptors in the fighting fish *Betta splendens*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(2), 222-231.
- Cuevas-González, P. F., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E. 2020. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food research international*, 136, 109502.
- da Costa Sousa, N., do Couto, M. V. S., Abe, H. A., Paixão, P. E. G., Cordeiro, C. A. M., Monteiro Lopes, E., ... & Fujimoto, R. Y. 2019. Effects of an *Enterococcus faecium*-based probiotic on growth performance and health of Pirarucu, *Arapaima gigas*. *Aquaculture Research*, 50(12), 3720-3728.

- da Silva Lima, L., & da Silva, C. P. 2018. Triptofano no Sono: Uma Revisão Sistemática baseada no Método PRISMA. *ID on line. Revista de psicologia*, 12(42), 397-407.
- de Almeida, R. M., Ferrari, P. F., Parmigiani, S., & Miczek, K. A. 2005. Escalated aggressive behavior: dopamine, serotonin and GABA. *European journal of pharmacology*, 526(1-3), 51-64.
- Del Toro-Barbosa, M., Hurtado-Romero, A., Garcia-Amezquita, L. E., & García-Cayuela, T. 2020. Psychobiotics: mechanisms of action, evaluation methods and effectiveness in applications with food products. *Nutrients*, 12(12), 3896.
- de Oliveira, L. C. C., Costa, L. G. B., Eiras, B. J. C. F., Brabo, M. F., Veras, G. C., de Moura, L. B., ... & Campelo, D. A. V. 2020. Feeding strategy induces compensatory growth in *Heros severus* fingerlings, an Amazonian ornamental fish. *Aquaculture Reports*, 18, 100436.
- de Sousa, J. A., Bazilio, D. B., da Costa, R. A., Brabo, M. F., Campelo, D. A., Nunes, Z. M., & Veras, G. C. 2021. Protein requirement in the diet of *Heros severus* (Heckel, 1840): An Amazonian ornamental fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 52(2), 482-495.
- Dhakal, R., Bajpai, V. K., & Baek, K. H. 2012. Production of GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) by microorganisms: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 1230-1241.
- Diana, M., Quílez, J., & Rafecas, M. 2014. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *Journal of functional foods*, 10, 407-420.
- Dias, J. A. R., Abe, H. A., Sousa, N. C., Silva, R. D. F., Cordeiro, C. A. M., Gomes, G. F. E., ... & Fujimoto, R. Y. 2019. *Enterococcus faecium* as potential probiotic for ornamental neotropical cichlid fish, *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823). *Aquaculture international*, 27, 463-474.
- Dicks, L. M. (2022). Gut bacteria and neurotransmitters. *Microorganisms*, 10(9), 1838.
- Dinan, T. G., & Quigley, E. M. 2011. Probiotics in the treatment of depression: science or science fiction?. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 45(12), 1023-1025.
- Dinan, T. G., Stanton, C., & Cryan, J. F. 2013. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biological psychiatry*, 74(10), 720-726.

- dos ANJOS, HDB, de Souza AMORIM, RM, SIQUEIRA, JA, & dos ANJOS, CR 2009. Exportação de peixes ornamentais do estado do Amazonas, Bacia Amazônica, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 35 (2), 259-274.
- Duranti, S., Ruiz, L., Lugli, G. A., Tames, H., Milani, C., Mancabelli, L., ... & Turrone, F. 2020. *Bifidobacterium adolescentis* as a key member of the human gut microbiota in the production of GABA. *Scientific reports*, 10(1), 1-13.
- El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Patra, A. K., Kar, I., Tiwari, R., Dawood, M. A., ... & Abdel-Latif, H. M. 2021. The functionality of probiotics in aquaculture: An overview. *Fish & Shellfish Immunology*, 117, 36-52.
- Evrensel, A., & Ceylan, M. E. 2017. Microbiome: the missing link in neuropsychiatric disorders. *EMJ Innov*, 1(1), 83-8.
- Evrensel, A., Ünsalver, B. Ö., & Ceylan, M. E. 2018. Gut-brain axis and psychiatric disorders. *Current Psychiatry Reviews*, 14(3), 178-186.
- FAO (2017) 'Overview of Marine Ornamental Species Aquaculture', *Marine Ornamental Species Aquaculture*, (56), pp. 1-2. Available at: <https://doi.org/10.1002/9781119169147.part1>.
- Fernstrom, J. D. 1983. Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. *Physiological reviews*, 63(2), 484-546.
- Food and Agriculture Organization, & World Health Organization. 2006. *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. FAO.
- Friedman, M. 2018. Analysis, nutrition, and health benefits of tryptophan. *International Journal of Tryptophan Research*, 11, 1178646918802282.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology*, 66(5), 365-378.
- Gerozissis, K. 2004. Brain insulin and feeding: a bi-directional communication. *European journal of pharmacology*, 490(1-3), 59-70.
- Gonçalves, A. B. 2009. Biopirataria: novos rumos e velhos problemas. *Revista Direitos Culturais*, 4(6), 225-243.
- Guarner, F., & Schaafsma, G. J. 1998. Probiotics. *International journal of food microbiology*, 39(3), 237-238.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... & Sanders, M. E. 2014. Expert consensus document: The International Scientific Association for

Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*.

Hoseinifar, S. H., Sun, Y. Z., & Caipang, C. M. 2017. Short-chain fatty acids as feed supplements for sustainable aquaculture: an updated view. *Aquaculture Research*, 48(4), 1380-1391.

Hou, Y., & Wu, G. 2018. Nutritionally essential amino acids. *Advances in Nutrition*, 9(6), 849-851.

Hseu, J. R., Lu, F. I., Su, H. M., Wang, L. S., Tsai, C. L., & Hwang, P. P. 2003. Effect of exogenous tryptophan on cannibalism, survival and growth in juvenile grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 218(1-4), 251-263.

IBAMA. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA, 2008. Instrução Normativa nº 204, de 22 de outubro de 2008. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 27 out. 2008

Jahan, N., Islam, S. M., Rohani, M. F., Hossain, M. T., & Shahjahan, M. 2021. Probiotic yeast enhances growth performance of rohu (*Labeo rohita*) through upgrading hematology, and intestinal microbiota and morphology. *Aquaculture*, 545, 737243.

Korzan, W. J., & Fernald, R. D. 2007. Territorial male color predicts agonistic behavior of conspecifics in a color polymorphic species. *Behavioral Ecology*, 18(2), 318-323.

Kullander, S. O. 2003. Family cichlidae. *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*, 605-654.

Lepage, O., Tottmar, O., & Winberg, S. (2002). Elevated dietary intake of L-tryptophan counteracts the stress-induced elevation of plasma cortisol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Experimental Biology*, 205(23), 3679-3687.

Lepage, O., Larson, E. T., Mayer, I., & Winberg, S. 2005. Serotonin, but not melatonin, plays a role in shaping dominant–subordinate relationships and aggression in rainbow trout. *Hormones and Behavior*, 48(2), 233-242.

Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. 1965. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748.

Lindseth, G., Helland, B., & Caspers, J. 2015. The effects of dietary tryptophan on affective disorders. *Archives of psychiatric nursing*, 29(2), 102-107.

Lodemann, U., Strahlendorf, J., Schierack, P., Klingspor, S., Aschenbach, J. R., & Martens, H. 2015. Effects of the probiotic *Enterococcus faecium* and pathogenic

*Escherichia coli* strains in a pig and human epithelial intestinal cell model. *Scientifica*, 2015.

Lulijwa, R., Rupia, E. J., & Alfaro, A. C. 2020. Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: a review of the top 15 major producers. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 640-663.

Mawe, G. M., & Hoffman, J. M. 2013. Serotonin signalling in the gut—functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, 10(8), 473-486.

Merrifield, D. L., & Carnevali, O. (2014). Probiotic modulation of the gut microbiota of fish. *Aquaculture nutrition: Gut health, probiotics and prebiotics*, 185-222.

Metchnikoff, E. 2004. O prolongamento da vida: estudos otimistas. 1908. Trad. P. Chalmers Mitchell. *Clássicos em Longevidade e Envelhecimento*. Ed. Robert N. Butler e S. Jay Olshansky. Nova York: Springer Publishing Company .Misra, S., & Mohanty, D. 2019.

Psychobiotics: a new approach for treating mental illness?. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(8), 1230-1236.

Martínez Cruz, P., Ibáñez, A. L., Monroy Herмосillo, O. A., & Ramírez Saad, H. C. (2012). Use of probiotics in aquaculture. *International scholarly research notices*, 2012.

Modoux, M., Rolhion, N., Mani, S., & Sokol, H. 2021. Tryptophan metabolism as a pharmacological target. *Trends in Pharmacological Sciences*, 42(1), 60-73.

Morandini, L., Ramallo, M. R., Scaia, M. F., Höcht, C., Somoza, G. M., & Pandolfi, M. 2019. Dietary l-tryptophan modulates agonistic behavior and brain serotonin in male dyadic contests of a cichlid fish. *Journal of Comparative Physiology A*, 205, 867-880.

Mohammad-Zadeh, L. F., Moses, L., & Gwaltney-Brant, S. M. 2008. Serotonin: a review. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 31(3), 187-199.

Narvaes, R., & Martins de Almeida, R. M. (2014). Aggressive behavior and three neurotransmitters: dopamine, GABA, and serotonin—A review of the last 10 years. *Psychology & Neuroscience*, 7(4), 601.

Paixão, D. J. D. M. R., Brabo, M. F., Soares, L. M. O., Campelo, D. A. V., & Veras, G. C. 2019. Optimal feeding frequency for *Heros severus* (Heckel, 1840), an Amazon ornamental fish. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48.

- Prang, G. 2008. An industry analysis of the freshwater ornamental fishery with particular reference to the supply of Brazilian freshwater ornamentals to the UK market. *Scientific Magazine UAKARI*, 3(1), 7-52.
- Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A. S., McNamara, J. O., & White, L. E. 2010. *Neurociências-4*. Artmed Editora.
- Rangel, H. M. V. 2012. A propriedade intelectual e a biopirataria do patrimônio genético amazônico à luz do direito internacional. *Veredas do Direito: Direito Ambiental e Desenvolvimento Sustentável*, 9(18), 89-89.
- Reverter, M., Sarter, S., Caruso, D., Avarre, J. C., Combe, M., Pepey, E., ... & Gozlan, R. E. 2020. Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. *Nature communications*, 11(1), 1870.
- Ribeiro, F. D. A. S., Lima, M. T., & Fernandes, C. J. B. K. 2010. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. *Boletim Sociedade Brasileira de Limnologia*, 38(2), 1-15.
- Rossi, L., & Tirapegui, J. (2004). Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 48, 227-233.
- Sabna, B.S., Thankappan, B., Mahendran, R., Muthusamy, G., Femil Selta, D. R., & Angayarkanni, J. 2021. Evaluation of GABA production and probiotic activities of *Enterococcus faecium* BS5. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 993-1004.
- Sahu, M. K., Swarnakumar, N. S., Sivakumar, K., Thangaradjou, T., & Kannan, L. 2008. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. *Indian journal of microbiology*, 48, 299-308.
- Salamanca, N., Morales, E., Ruiz-Azcona, P., & Herrera, M. (2020). Endocrine and metabolic effects of Trp-enriched diets for attenuation of chronic stress in the Senegal soles (*Solea senegalensis*). *Aquaculture*, 523, 735173.
- Sainio, E. L., Pulkki, K., & Young, S. N. 1996. L-Tryptophan: Biochemical, nutritional and pharmacological aspects. *Amino acids*, 10, 21-47.
- Sarkar, A., Lehto, S. M., Harty, S., Dinan, T. G., Cryan, J. F., & Burnet, P. W. 2016. Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. *Trends in neurosciences*, 39(11), 763-781.
- Sakkaa, S. E., Zaghloul, E. H., & Ghanem, K. M. 2022. Psychobiotic Potential of Gamma-Aminobutyric Acid-Producing Marine *Enterococcus faecium* SH9 from Marine Shrimp. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 934-946.

- Scaia, M. F., Morandini, L., Noguera, C. A., Ramallo, M. R., Somoza, G. M., & Pandolfi, M. 2018. Fighting cichlids: dynamic of intrasexual aggression in dyadic agonistic encounters. *Behavioural processes*, 147, 61-69.
- Scharek, L., Guth, J., Reiter, K., Weyrauch, K. D., Taras, D., Schwerk, P., ... & Tedin, K. 2005. Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. *Veterinary immunology and immunopathology*, 105(1-2), 151-161.
- Shao, Y., Wang, Y., Yuan, Y., & Xie, Y. 2021. A systematic review on antibiotics misuse in livestock and aquaculture and regulation implications in China. *Science of The Total Environment*, 798, 149205.
- Sokovic Bajic, S., Djokic, J., Dinic, M., Veljovic, K., Golic, N., Mihajlovic, S., & Tolinacki, M. 2019. GABA-producing natural dairy isolate from artisanal zlatar cheese attenuates gut inflammation and strengthens gut epithelial barrier in vitro. *Frontiers in microbiology*, 10, 527.
- Spring, B., Chiodo, J., & Bowen, D. J. 1987. Carbohydrates, tryptophan, and behavior: a methodological review. *Psychological Bulletin*, 102(2), 234.
- Staeck, W., & Schindler, I. 2015. Description of a new *Heros* species (Teleostei, Cichlidae) from the Rio Orinoco drainage and notes on *Heros severus* Heckel, 1840. *Bulletin of Fish Biology Volume*, 15(1/2), 121-136.
- Stoddard, P. K., Markham, M. R., & Salazar, V. L. 2003. Serotonin modulates the electric waveform of the gymnotiform electric fish *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Journal of Experimental Biology*, 206(8), 1353-1362.
- Tachibana, L., Telli, G. S., de Carla Dias, D., Goncalves, G. S., Ishikawa, C. M., Cavalcante, R. B., ... & Ranzani-Paiva, M. J. T. 2020. Effect of feeding strategy of probiotic *Enterococcus faecium* on growth performance, hematologic, biochemical parameters and non-specific immune response of Nile tilapia. *Aquaculture Reports*, 16, 100277.
- Toledo, A., Frizzo, L., Signorini, M., Bossier, P., & Arenal, A. 2019. Impact of probiotics on growth performance and shrimp survival: A meta-analysis. *Aquaculture*, 500, 196-205.
- Tribuzy-Neto, I. A., Beltrao, H., Benzaken, Z. S., & Yamamoto, K. C. 2020. Analysis of the ornamental fish exports from the Amazon State, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 46(4).

- Veras, G. C., Paixão, D. J. D. M. R., Brabo, M. F., Soares, L. M. O., & Sales, A. D. 2016. Influence of photoperiod on growth, uniformity, and survival of larvae of the Amazonian ornamental *Heros severus* (Heckel, 1840). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45, 422-426.
- Vieira, B. R. M. 2013. Efeito da suplementação dietética com triptofano no comportamento agressivo em juvenis de tilápia-do-Nilo.
- Vieira, B. R. M., Guermandi, I. I., Bellot, M. S., Camargo-dos-Santos, B., Favero-Neto, J., & Giaquinto, P. C. 2021. The effects of tryptophan supplementation on stress and aggression in Nile tilapia. *Journal of Applied Ichthyology*, 37(4), 578-584.
- Wall, R., Cryan, J. F., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Dinan, T. G., & Stanton, C. (2014). Bacterial neuroactive compounds produced by psychobiotics. *Microbial endocrinology: The microbiota-gut-brain axis in health and disease*, 221-239.
- Wolkers, C. P. B., Serra, M., Hoshiba, M. A., & Urbinati, E. C. 2012. Dietary L-tryptophan alters aggression in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus*. *Fish physiology and biochemistry*, 38, 819-827.
- Wu, G. (2022) *Amino Acids Amino Acids - Biochemistry and Nutrition*. 2nd edn, *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. 2nd edn. Texas: Gourp, CRP Press - Taylor and Francis. Available at: [http://doi.wiley.com/10.1002/14356007.a02\\_057.pub2](http://doi.wiley.com/10.1002/14356007.a02_057.pub2).
- Yan, L., Boyd, K. G., & Grant Burgess, J. 2002. Surface attachment induced production of antimicrobial compounds by marine epiphytic bacteria using modified roller bottle cultivation. *Marine Biotechnology*, 4, 356-366.
- Ye, L., Bae, M., Cassilly, C. D., Jabba, S. V., Thorpe, D. W., Martin, A. M., ... & Rawls, J. F. 2021. Enteroendocrine cells sense bacterial tryptophan catabolites to activate enteric and vagal neuronal pathways. *Cell host & microbe*, 29(2), 179-196.
- Zaghloul, EH, Abuohashish, HM, El Sharkawy, AS, Abbas, EM, Ahmed, MM, & Al-Rejaie, SS (2023). Potencial probiótico do isolado marinho *Enterococcus faecium* EA9 e avaliação in vivo de sua ação antisepsia em ratos. *Marine Drugs* , 21 (1), 45.
- Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M., & da Cruz, A. G. 2020. Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*, 32, 103-123.
- Zorriehzakra, M. J., Delshad, S. T., Adel, M., Tiwari, R., Karthik, K., Dhama, K., & Lazado, C. C. 2016. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: an update on their multiple modes of action: a review. *Veterinary quarterly*, 36(4), 228-241.



	R4								
--	----	--	--	--	--	--	--	--	--