

## EFEITOS DE *BACILLUS LICHENIFORMIS* E *BACILLUS SUBTILIS* SOBRE PARÂMETROS ALIMENTARES E DIGESTIBILIDADE DE VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

DIEGO RODRIGUES SARAIVA<sup>1</sup>; MURILO SCALCON NICOLA<sup>2</sup>; BRUNA EMANUELE DA SILVA VELASQUEZ<sup>2</sup>; THAIS CASARIN DA SILVA<sup>2</sup>; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO<sup>2</sup>; VIVIANE ROHRIG RABASSA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – saraivadiego083@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – muriloscalconnicola@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – velasquezbruna95@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – thais\_casarin@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – fabdelpino@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – vivianerabassa@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda global por alimentos tem impulsionado os sistemas de produção animal, refletindo em expressivos avanços na produtividade leiteira (PLAIZIER et al., 2008). Com o aprimoramento genético e a adoção de práticas de manejo mais eficientes, as vacas apresentam maiores exigências nutricionais, especialmente em fases críticas como o período de transição (compreendido entre 21 dias antes e após o parto) (CHAPINAL et al., 2011). Durante essa fase, é comum a ocorrência de balanço energético negativo (BEN), uma vez que a ingestão de matéria seca geralmente não supre as elevadas demandas metabólicas (CHAPINAL et al., 2011). Essa condição pode comprometer o desempenho produtivo e reprodutivo, além de aumentar a incidência de distúrbios metabólicos e infecciosos. Diante disso, estratégias nutricionais que favoreçam a eficiência alimentar e a digestibilidade tornam-se essenciais (PLAIZIER et al., 2008).

Entre as alternativas utilizadas, destaca-se o uso de probióticos, definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (SPANOVÁ et al., 2015). Tais microrganismos atuam no equilíbrio da microbiota intestinal, podendo modular a fermentação ruminal, favorecer a digestão de nutrientes e contribuir para o desempenho zootécnico (LUISE et al., 2022). Dentro as espécies empregadas, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* têm despertado interesse crescente devido à sua estabilidade, viabilidade em diferentes formas de suplementação e capacidade de produzir enzimas extracelulares de importância digestiva (SU et al., 2020; LUISE et al., 2022).

Estudos com ruminantes sugerem que essas cepas podem impactar positivamente parâmetros produtivos e sanitários. Resultados promissores foram observados em ovelhas leiteiras e vacas adultas, com melhorias na composição do leite, nos indicadores de saúde intestinal e na digestibilidade de nutrientes (KRITAS et al., 2006; OYEBADE et al., 2022). Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* (Bovacillus™) sobre parâmetros de digestibilidade em vacas leiteiras durante o período de transição.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em uma propriedade leiteira comercial localizada no município de Rio Grande, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (32°16'S, 52°32'E). O sistema de criação adotado foi o de confinamento, com alojamento dos animais em galpão do tipo *compost-barn*. Todos os procedimentos executados foram previamente aprovados

pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), sob o número “CEUA 016526/2023-64”.

Foram utilizadas 60 vacas leiteiras multíparas da raça Holandesa, divididas aleatoriamente em dois grupos experimentais, com 30 animais cada. O grupo controle (GC) não recebeu qualquer aditivo na dieta, enquanto o grupo tratado (GB) recebeu suplementação diária de 3 g/animal de Bovacillus™ (correspondente a  $9,6 \times 10^9$  UFC de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*), incorporados à dieta total (TMR). A suplementação foi iniciada 30 dias antes do parto e mantida até 60 dias após o parto. As vacas foram pareadas entre os grupos com base na produção de leite da lactação anterior (GC = 9485,4  $\pm$  3090,1 L; GB = 9491,8  $\pm$  3657,4 L) e no número de lactações (GC = 1,47  $\pm$  0,86; GB = 1,47  $\pm$  0,82).

As coletas de amostras fecais foram realizadas diretamente do reto nos dias -30, 0, 4, 30 e 60 (sendo o dia 0, o dia do parto), utilizando sacos plásticos para posterior análise de pH e teor de amido. A mensuração do pH fecal foi feita imediatamente após a coleta com um medidor de pH portátil. As amostras foram então armazenadas a -20 °C para posterior análise laboratorial. As análises de amido fecal foram realizadas por espectrofotometria. A digestibilidade dos nutrientes (fibra em detergente neutro (FDN), extrato etéreo (EE) e amido) foi determinada utilizando a metodologia descrita por FREDIN et al. (2014), enquanto as análises químicas de FDN, EE e lignina seguiram procedimentos laboratoriais padrão. A digestibilidade aparente foi calculada com base na seguinte equação (BERCHIELLI et al., 2000):

$$\text{Digestibilidade (\%)} = 100 - \frac{(\text{Concentração de lignina na ração} \times \text{Concentração do nutriente nas fezes})}{(\text{Concentração de lignina nas fezes} \times \text{Concentração do nutriente na ração})} \times 100$$

Para a análise estatística, foi utilizado o software JMP Pro 14 (SAS Institute Inc., 2018). As variáveis de digestibilidade (FDN, EE, amido) e amido fecal foram analisadas como medidas repetidas no procedimento PROC MIXED, considerando como efeitos fixos o tratamento, o tempo e a interação entre eles, e como efeito aleatório o animal.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras 1 a 4 apresentam os resultados das análises fecais e digestibilidade de nutrientes em vacas leiteiras suplementadas ou não com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* (Bovacillus™) durante o período de transição. Dentre os parâmetros avaliados, a digestibilidade da FDN (figura 3) apresentou diferença entre os grupos ( $p=0,04$ ), indicando maior aproveitamento da fração fibrosa nos animais do GB.

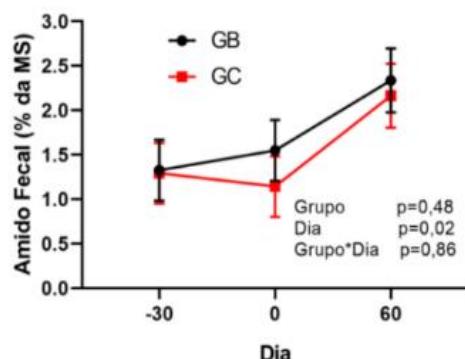


Figura 1: Comportamento do Amido fecal.

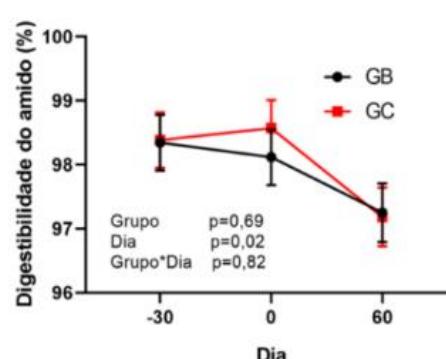


Figura 2: Comportamento da digestibilidade do amido.

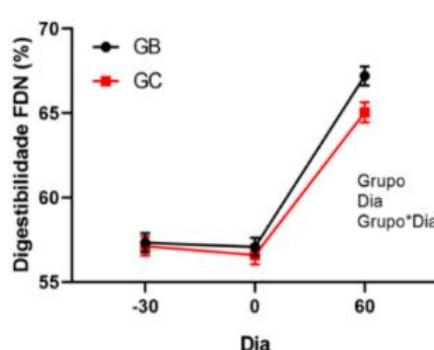


Figura 3: Comportamento da digestibilidade do FDN.

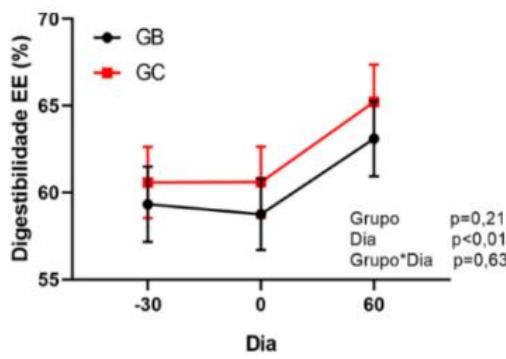


Figura 4: Comportamento da digestibilidade do EE.

O aumento na digestibilidade da FDN observado no grupo *Bovacillus* pode estar relacionado à ação sinérgica de enzimas fibrolíticas e proteínas semelhantes à expansina produzidas por *B. licheniformis* e *B. subtilis*. Esses microrganismos são capazes de atuar sobre as ligações estruturais da parede celular vegetal, promovendo maior ruptura da celulose e hemicelulose e, consequentemente, facilitando o acesso dos microrganismos ruminais aos polissacarídeos (PECH-CERVANTES et al., 2019; LUISE et al., 2022). Nesse sentido, *B. licheniformis* é conhecido por sintetizar celulases, enquanto *B. subtilis* pode produzir proteínas com função semelhante à expansina (PECH-CERVANTES et al. 2019). Essa combinação enzimática pode explicar o maior coeficiente de digestibilidade da FDN no grupo tratado, conforme também descrito por PECH-CERVANTES et al. (2019), que observaram efeito aditivo dessas enzimas em dietas com alto teor de fibra.

A importância zootécnica dessa melhoria na digestibilidade da FDN é evidente. OBA; ALLEN (1999), relataram que para cada aumento de 1 unidade percentual na digestibilidade da FDN, há um incremento médio de 0,17 kg na ingestão de matéria seca (CMS) e 0,23 kg na produção de leite. Assim, estratégias que promovem esse aumento tornam-se ferramentas importantes para melhorar a produtividade e rentabilidade na produção leiteira. Além disso, uma maior digestibilidade da fração fibrosa pode reduzir o efeito de enchimento ruminal e permitir maior CMS, como descrito por FERRARETTO et al. (2013), promovendo melhor desempenho produtivo nos animais em transição, um período crítico do ciclo produtivo. Os demais parâmetros (amido fecal, digestibilidade do amido e do EE) não diferiram entre os grupos ( $p>0,05$ ), embora tenham apresentado variações ao longo do tempo.

#### 4. CONCLUSÕES

A suplementação com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* aumentou significativamente a digestibilidade da FDN em vacas leiteiras no período de transição, indicando um efeito positivo desses probióticos sobre a fração fibrosa da dieta. No entanto, estudos adicionais são necessários para esclarecer seus impactos sobre a digestibilidade do amido e do extrato etéreo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERCHIELLI, T.T.; ANDRADE, P.D.; FURLAN, C.L. Evaluation of internal indicators in digestibility trials. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, Brasil, v. 29, p. 830-833, 2000.
- CHAPINAL, N.; CARSON, M.; DUFFIELD, T.F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M.; LEBLANC, S.J. Association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 94, n. 10, p. 4897-4903, 2011.

FERRARETTO, L.F.; CRUMP, P.M.; SHAVER, R.D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 96, n. 1, p. 533-550, 2013.

FREDIN, S.M.; FERRARETTO, L.F.; AKINS, M.S.; HOFFMAN, P.C.; SHAVER, R.D. Fecal starch as an indicator of total-tract starch digestibility by lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 97, n. 3, p. 1862-1871, 2014.

KRITAS, S.K.; GOVARIS, A.; CHRISTODOULOPOULOS, G.; BURRIEL, A.R. Effect of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* supplementation of ewe's feed on sheep milk production and young lamb mortality. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, Berlim, v. 53, n. 4, p. 170-173, 2006.

LUISE, D.; BOSI, P.; RAFF, L.; AMATUCCI, L.; VIRDIS, S.; TREVISO, P. Probiotic strains of *Bacillus* spp. as a potential tool to limit antibiotic use and improve growth and health in pigs and chickens. **Frontiers in microbiology**, Lausanne, v. 13, p. 801827, 2022.

OBA, M.; ALLEN, M.S. Evaluation of the importance of neutral detergent fiber digestibility in forage: effects on dry matter intake and milk production in dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 82, n. 3, p. 589-596, 1999.

OYEBADE, A.O.; LEE, S.; SULTANA, H.; ARRIOLA, K.; DUVALSAINT, E.; DE GUZMAN, C.N.; MARENCHINO, I.F.; PACHECO, L.M.; AMARO, F.; GHIZZI, L.G. Effects of microbial supplementation in direct feeding on the performance and immunological parameters of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 106, n. 12, p. 8611-8626, 2023.

PECH-CERVANTES, A.A.; OGUNADE, I.M.; JIANG, Y.; IRFAN, M.; ARRIOLA, K.G.; AMARO, F.X.; ADESOGAN, A.T. An expansin-like protein expands forage cell walls and synergistically increases hydrolysis, digestibility and fermentation of livestock feeds by fibrolytic enzymes. **PLoS One**, San Francisco, v. 14, n. 11, p. e0224381, 2019.

PLAIZIER, J.C.; KRAUSE, D.O.; GOZHO, G.N.; MCBRIDE, B.W. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. **The Veterinary Journal**, Londres, v. 176, n. 1, p. 21-31, 2008.

ŠPANOVÁ, A.; DRÁB, V.; TURKOVÁ, K.; ŠPANO, M.; BURDYCHOVÁ, R.; ŠEDO, O.; RITTICH, B. Selection of potential probiotic *Lactobacillus* strains of human origin for use in dairy industry. **European Food Research and Technology**, Heidelberg, v. 241, n. 6, p. 861-869, 2015.

SU, Y.; LIU, C.; FANG, H.; ZHANG, D. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. **Microbial cell factories**, Londres, v. 19, n. 1, p. 173, 2020.