

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE *BACILLUS LICHENIFORMIS* E *BACILLUS SUBTILIS* NA PRODUÇÃO DE SÓLIDOS NO LEITE DE VACAS LEITEIRAS DURANTE O PERÍODO DE TRANSIÇÃO

MARIA ALICE MILECH PRIETSCH^{1,2}; BRUNA EMANUELE DA SILVA VELASQUEZ²; MURILO SCALCON NICOLA²; RUTIELE SILVEIRA²; VIVIANE ROHRIG RABASSA²; MARCIO NUNES CORRÊA³

¹Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
Faculdade de Veterinária – Universidade Federal de Pelotas – UFPEL

Campus Universitário – 96010 900 – Pelotas/RS – Brasil[

nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec

²mariaaliceprietsch@hotmail.com

³marcio.nunescorrea@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A vaca leiteira passa por grandes exigências no período de transição, que ocorre de 21 dias antes a 21 dias após o parto. Nesse período, as demandas energéticas aumentam devido a mudanças fisiológicas e metabólicas, enquanto o consumo de alimento diminui, resultando em balanço energético negativo (BEN) corporal, resultando em aumento dos ácidos graxos não esterificados (NEFAs) e dos níveis de corpos cetônicos no sangue, como o β-hidroxibutirato (BHB). Esses compostos em excesso podem causar estresse oxidativo e inflamação, pois sobrecarregam o fígado e outros tecidos, induzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF-α. Essas citocinas amplificam a resposta inflamatória, o que compromete o sistema imunológico, aumentando a suscetibilidade a doenças (KHAN et al., 2024).

O balanço energético negativo (BEN), doenças como mastite e cetose, estresse metabólico, menor consumo de matéria seca e distúrbios metabólicos prejudicam a síntese de componentes importantes do leite, como gordura e proteína. Esses fatores afetam não apenas o volume produzido, mas também a qualidade futura do leite, a reprodução e o desempenho produtivo nas lactações subsequentes (FILHO et al., 2010).

Entende-se por sólidos do leite gordura, carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas. Para as indústrias, um maior teor de sólidos aumenta a vida útil, a qualidade e o rendimento dos produtos (Embrapa). De acordo com a Normativa Nº 76 de 2018, o leite deve conter no mínimo 11,4g de sólidos totais por 100g. Para manter os níveis adequados de sólidos no leite no período de transição, o uso de aditivos na alimentação e o controle ambiental são estratégias utilizadas para reduzir patógenos e melhorar a saúde, o bem-estar e a produtividade. Em estudo de KULKARNI et al., (2022), a suplementação com probióticos melhorou a sólidos e aumentou a produção de leite.

Ao melhorar a saúde do ambiente gastrointestinal, aumenta-se a absorção de nutrientes, o que pode influenciar significativamente a qualidade nutricional do leite, elevando o teor de sólidos (NALLA et al 2022). A suplementação probiótica, utilizada há décadas, beneficia a microbiota, aumentando a digestão e competindo com microrganismos patógenos e inibe microrganismos indesejáveis que podem causar enfermidades como a *Escherichia coli* (*E. coli*) que causa mastite (TRAN et al., 2022).

As bactérias do gênero *Bacillus* formam esporos que as tornam resistentes aos processos industriais e de incorporação na dieta (LARSEN et al., 2014). Após serem ingeridos pelos animais, esses esporos podem germinar, onde inibem

patógenos por competição e secretam metabólitos antimicrobianos (TRAN et al., 2022). Além disso, a partir da produção de enzimas digestivas, os *Bacillus* melhoraram a digestibilidade dos alimentos, promovem eubiose intestinal e estimulam o sistema imunológico dos animais (LUISE et al., 2022).

Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da utilização de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* na dieta de vacas leiteiras durante o período de transição sobre a produção e o conteúdo de sólidos do leite.

2. METODOLOGIA

O presente estudo foi conduzido em uma fazenda comercial no município de Rio Grande/RS, na região Sul do Rio Grande do Sul (latitude 32°16'S, e longitude 52°32'E). Todos os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética da Universidade Federal de Pelotas sob número 016526/2023-64. Foram utilizadas 60 vacas leiteiras multíparas da raça Holandesa, mantidas em um sistema de confinamento *Bedded-pack barn*, em galpão, com cama coletiva de material orgânico e acesso a alimento e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em dois grupos de 30 animais, de acordo com critérios de semelhança (DEL, produção de leite anterior e o número de lactações). O Grupo Controle (GC) recebia dieta basal totalmente misturada (TMR) sem aditivo, enquanto o Grupo *Bacillus* (GB) era suplementado com 3g de Bovacillus™ (Novonesis, Bagsvaerd, Dinamarca), por animal/dia adicionados na TMR. O fornecimento do produto na dieta era realizado diariamente, dos 30 dias antes da data prevista para o parto até os 60 dias após o parto.

As dietas foram ofertadas na forma totalmente misturada (TMR), seguindo as recomendações do NASEM (2021). A alimentação foi fornecida 2 vezes ao dia, com sobra estimada de 5% de matéria seca (MS). A dieta pré-parto teve 61,6% de volumoso e 38,4% de concentrado, enquanto a dieta pós-parto tinha 56% de volumoso e 44% de concentrado.

A produção de leite foi avaliada diariamente por meio do sistema eletrônico de ordenha (Alpro®, DeLaval, EUA), com os animais sendo ordenhados três vezes ao dia. Semanalmente, foram coletadas amostras de leite para análise em um laboratório regional, com foco nos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado.

Os resultados foram analisados no JMP Pro 14 (SAS Institute Inc., 2018) usando o método de medidas repetidas com PROC MIXED, considerando tratamento, tempo e interação como efeitos fixos e vaca como efeito aleatório. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo estão descritos na Tabela 1. A produção de leite foi maior no GB em relação ao GC. No estudo de CHOONKHAM et al (2020), foi relatada uma maior produção de leite com suplementação de *Bacillus* em vacas. A maior produção é prevista, pois os probióticos são recomendados para melhorar a digestibilidade dos alimentos, aumentando a eficiência na utilização dos nutrientes (PAN et al., 2022).

Ainda, quando avaliada a produção de gordura em kg/dia, foi possível observar um aumento no grupo suplementado com *Bacillus* em comparação ao grupo controle, não suplementado. OYEBABE et al., (2023) especulou que os *Bacillus spp.* podem contribuir para uma maior digestibilidade da gordura bruta,

aumentando assim, a produção de gordura. Além disso, a inclusão dos *Bacillus* na dieta pode ter melhorado a digestão da fibra efetiva, estimulando a ruminação e a produção de saliva, ajudando a manter o pH adequado para a digestão da fibra. Isso aumenta a produção de ácido acético, que é o principal precursor da gordura no leite (MÜHLBACH, 2003).

Além do aumento na produção de leite e gordura, o grupo suplementado com *Bacillus* também apresentou um incremento na proteína do leite, assim como descrito no estudo de CAPPELLOZZA et al. (2024). Esse aumento foi atribuído ao fato de que a proteína do leite está intimamente ligada relacionada ao fornecimento de energia proveniente da fermentação dos nutrientes no rúmen, especialmente os ácidos graxos voláteis (AGVs). Assim, uma maior eficiência na fermentação resulta em uma maior produção de proteína microbiana disponível para o animal, culminando em um aumento no rendimento de proteína no leite. Contudo, não houve diferença significativa nos valores de sólidos totais e extrato seco desengordurado entre os grupos.

Tabela 1: Produção de leite, gordura, proteína, lactose, sólidos totais e extrato seco desengordurado de vacas multíparas suplementadas com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* no período de transição. Valores representam média ± erro padrão

Parâmetro	Média ± EP ¹	Média ± EP ¹	p-value		
	GC ²	GB ³	Grupo	Semana	Grupo*Semana
Produção (kg/dia)	38,25±0,23	38,98±0,23	0,03	<0,01	1,00
Gordura (kg/dia)	1,37±0,01	1,43±0,01	<0,01	<0,01	1,00
Proteína (kg/dia)	1,19±0,01	1,22±0,01	0,03	<0,01	1,00
Lactose (kg/dia)	1,75±0,01	1,78±0,01	0,06	<0,01	1,00
Sólidos Totais (kg/dia)	4,75±0,03	4,78±0,03	0,39	<0,01	1,00
ESD ⁴ (kg/dia)	3,33±0,02	3,38±0,02	0,09	<0,01	1,00

1-Erro Padrão; 2-Grupo Controle; 3-Grupo *Bacillus*; 4-Extrato Seco Desengordurado

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados, observou-se que a adição de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* na dieta de animais vacas no período de transição pode aumentar a produção de leite e o conteúdo de gordura e proteína, possivelmente por influenciar a digestibilidade da dieta e a eficiência da fermentação ruminal. Embora não tenham sido encontradas diferenças significativas para sólidos totais e extrato seco desengordurado, a tendência de aumento na lactose indica que mais estudos são necessários para compreender plenamente esses efeitos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BISWAS, S.; KIM, M. H.; BAEK, D. H.; KIM, I. H. Probiotic mixture (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*) a potential in-feed additive to improve broiler production efficiency, nutrient digestibility, caecal microflora, meat quality and to diminish hazardous odour emission. **Journal Of Animal Physiology And Animal Nutrition**, v. 107, n. 4, p. 1065-1072, 2023.

CAPPELLOZZA, B. I.; SOUSA, D.O.; ALVEBLAD, C.; QUEIROZ, O.; JOERGENSEN, J. N.; RUSTAS, B. Effects of supplementing a *Bacillus*-based direct-fed microbial on performance, nutrient digestibility, rumen fermentation characteristics, and metabolic responses of lactating dairy cows. **Jds Communications**, v. 5, n. 2, p. 107-112, 2024.

CHOONKHAM, W; SCHONEVILLE, J; BERNARD, J; SURIYASATHAPORN, W. Effects of on-farm supplemental feeding of probiotic *Bacillus subtilis* on milk production in lactating dairy cows under tropical conditions. **Journal Of Animal And Feed Sciences**, v. 29, n. 3, p. 199-205, 2020.

FILHO, E. A. et al. Balanço energético negativo. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 11, Ed. 116, Art. 785, 2010.

KHAN, M. Z; HUANG, B; KOU, X; CHEN, Y; LIANG, H; ULLAH, Q; KHAN, I. M; KHAN, A; CHAI, W; WANG, C. Enhancing bovine immune, antioxidant and anti-inflammatory responses with vitamins, rumen-protected amino acids, and trace minerals to prevent periparturient mastitis. **Frontiers In Immunology**, v. 14, p. 1-25, 2024

KULKARNI, N. A.; CHETHAN, H. S.; SRIVASTAVA, R; GABBUR, A. B. Role of probiotics in ruminant nutrition as natural modulators of health and productivity of animals in tropical countries: an overview. **Tropical Animal Health And Production**, v. 54, n. 2, p. 1-15, 2022.

LARSEN, N; THORSEN, L; KPIKPI, E. N; STUER-LAURIDSEN, B; CANTOR, M. D; NIELSEN, B; BROCKMANN, E; DERKKX, P. M. F.; JESPERSEN, L. Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed. **Applied Microbiology And Biotechnolog**, v. 98, n. 3, p. 1105-1118,2013.

LUISE, D; BOSI, P; RAFF, L; AMATUCCI, L; VIRDIS, S; TREVISI, P. *Bacillus* spp. Probiotic Strains as a Potential Tool for Limiting the Use of Antibiotics, and Improving the Growth and Health of Pigs and Chickens. **Frontiers In Microbiology**, v. 13, p. 1-19, 2022.

MÜHLBACH, P. R. F. Nutrição da vaca em lactação e a qualidade do leite. Em: **Simpósio de Bovinocultura de leite**, 2003, Chapecó. Sociedade Catarinense de Médédicos Veterinários – Núcleo Oeste.

NALLA, Kirankumar; MANDA, Naresh Kumar; et al. Impact of Probiotics on Dairy Production Efficiency. **Frontiers In Microbiology**, v. 13, p. 1-12, 2022.

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

PAN, L.; HARPER, K.; QUEIROZ, O.; COPANI, G.; CAPPELLOZZA, B. I. Effects of a *Bacillus*-based direct-fed microbial on in vitro nutrient digestibility of forage and high-starch concentrate substrates. **Translational Animal Science**, v. 6, n. 2, p. 1-9, 2022.

TRAN, C.; Cock, I. E.; Chen, X.; Feng, Y. Antimicrobial *Bacillus*: metabolites and their mode of action. **Antibiotics**, v. 11, n. 1, p. 88, 2022.