

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Digestibilidade de nutrientes no trato digestivo de bovinos Nelore
terminados a pasto suplementados com probiótico a base de *Bacillus***

Eduardo Bergamasco Pereira

**JABOTICABAL – SP
2026**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Digestibilidade de nutrientes no trato digestivo de bovinos Nelore
terminados a pasto suplementados com probiótico a base de *Bacillus***

Eduardo Bergamasco Pereira

Orientador: Prof. Dr. Danilo Domingues Millen

Coorientador: Me. Rodrigo José de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias –
FCAV - Unesp, Campus de Jaboticabal, como
parte das exigências para graduação em
Zootecnia.

**JABOTICABAL- SP
07/2026**

P436d	Pereira, Eduardo Bergamasco Digestibilidade de nutrientes no trato digestivo de bovinos Nelore terminados a pasto suplementados com probiótico a base de <i>Bacillus</i>. / Eduardo Bergamasco Pereira. -- Jaboticabal, 2026 40 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Danilo Domingues Millen Coorientador: Rodrigo José de Oliveira 1. Bovinos de Corte. 2. Pastagens. 3. Probióticos. 4. Micro-organismos. 5. <i>Bacillus</i>. I. Título.
-------	---

Eduardo Bergamasco Pereira

**Digestibilidade de nutrientes no trato digestivo de bovinos Nelore terminados a pasto
suplementados com probióticos a base de Bacillus.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Danilo Domingues Millen

Coorientador (se houver): Me. Rodrigo José de Oliveira

Área de Concentração: Nutrição de Ruminantes

Trabalho aprovado em 04/07/2026

Banca Examinadora:

 Documento assinado digitalmente
RODRIGO JOSÉ DE OLIVEIRA
Data: 12/07/2026 12:33:29-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Me. Rodrigo José de Oliveira

UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal

 Documento assinado digitalmente
PEDRO HENRIQUE CAVALCANTE RIBEIRO
Data: 12/07/2026 19:17:56-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Me. Pedro Henrique Cavalcante Ribeiro

UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal

 Documento assinado digitalmente
ARIANY FARIA DE TOLEDO
Data: 13/07/2026 08:05:35-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dra. Ariany Faria de Toledo

UNESP - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal


Prof. Dr. José Maurício Barbanti Duarte
Chefe do Departamento

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por me conceder saúde, força e perseverança ao longo de toda a minha trajetória acadêmica, permitindo que eu superasse os desafios encontrados no caminho e alcançasse este momento tão importante da minha formação.

Aos meus pais, Adriana Bergamasco Pereira e Alírio Gomes Pereira, expresso minha mais profunda gratidão pelo amor, apoio incondicional, incentivo constante e confiança em minhas escolhas. Vocês foram fundamentais para que eu pudesse chegar até aqui.

À minha irmã, Maria Julia Bergamasco Pereira, pelo apoio, companheirismo e incentivo ao longo desse período, sempre me encorajando diante dos desafios.

Aos meus companheiros de equipe, Rodrigo José de Oliveira e Pedro Henrique Cavalcante Ribeiro, pelo treinamento, colaboração e auxílio na realização das análises, bem como por toda a ajuda prestada durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos Artur, Matheus, Letícia e José Pedro pelo apoio ao longo dos anos de graduação, pela parceria nas atividades práticas no setor de Bovinocultura de Corte e pelo incentivo constante durante essa jornada.

Ao meu orientador, Danilo Domingues Millen, pela oportunidade de desenvolver este trabalho, pela orientação, dedicação e pelos conhecimentos compartilhados ao longo desse processo.

Agradeço a todos os amigos, em especial, Gabriel, João Rodrigo, Leonardo, Lucas e Vítor que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração deste trabalho e que fizeram parte da minha trajetória durante este período da graduação, tornando essa caminhada mais leve e significativa.

Por fim, agradeço a Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), pela excelência na formação acadêmica, pela infraestrutura e por todas as oportunidades proporcionadas ao longo da graduação. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pelo auxílio financeiro para desenvolvimento desta pesquisa – 2024/16317-8.

Obrigado!

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. HIPÓTESE.....	9
4. OBJETIVOS.....	9
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
5.1 Animais, dieta e manejo.....	9
5.2 Digestibilidade dos nutrientes.....	10
5.3 Desempenho animal	12
5.4 Análise estatística	12
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
7. CONCLUSÃO	21
8. RESUMO	23
9. ABSTRACT	24
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

ABREVIACÕES

AGCC	Ácidos Graxos de Cadeia Curta
ANOVA	Análise de Variância (<i>Analysis of Variance</i>)
BsEXLX1	Proteína semelhante à expansina recombinante expressa por <i>Bacillus subtilis</i>
CFU	Unidades Formadoras de Colônia (<i>Colony Forming Units</i>)
CMS	Consumo de Matéria Seca
DFM	Microrganismos de Alimentação Direta (<i>Direct-Fed Microbials</i>)
d	Dia(s) experimental(is)
EPM	Erro Padrão da Média
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
FDN	Fibra em Detergente Neutro
FDNi	Fibra em Detergente Neutro Indigestível
GMD	Ganho Médio Diário
kg	Quilograma
LECO	Método de determinação de nitrogênio/proteína por combustão (equipamento LECO)
MM	Matéria mineral
MO	Matéria orgânica
MS	Matéria seca
NASEM	Academia Nacional de Ciências, Engenharia e Medicina dos Estados Unidos (<i>National Academies of Sciences, Engineering and Medicine</i>)
OMS	Organização Mundial da Saúde

ABREVIACÕES

PB	Proteína bruta
PC	Peso corporal
PROC MIXED	Procedimento MIXED do software SAS para modelos mistos
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
TiO ₂	Dióxido de Titânio

1. INTRODUÇÃO

A produção de bovinos de corte no Brasil é baseada predominantemente em sistemas de pastejo. Cerca de 90% da carne bovina é produzida em regime de pastagens, os quais dependem diretamente da disponibilidade e qualidade da forragem para sustentar o desempenho animal (Yara Brasil, 2022). Em sistemas de pastejo bem manejados e conduzidos, espera-se que a pastagem atenda a maior parte das necessidades nutricionais dos animais. Nesse contexto, a suplementação é utilizada estrategicamente para adensar o fornecimento de nutrientes aos animais, aumentar o desempenho dos bovinos e a produtividade, pela redução no tempo de abate dos animais (Reis et al., 2009; Resende et al., 2013), inclusive durante a estação chuvosa do ano.

Contudo, pontua-se que um dos principais desafios desses sistemas de produção é prever com precisão o impacto da suplementação sobre o desempenho dos animais, de forma a garantir maximização do consumo e digestibilidade da forragem disponível. A suplementação de ruminantes a pasto aumenta a quantidade de substrato no rúmen, as taxas de fermentação e a atividade de microrganismos, impactando diretamente a produção dos animais (Berchielli et al., 2011; Gurgel et al., 2018).

Em bovinos em pastejo, a suplementação mostra grande potencial produtivo, sobretudo para aumentar ganho médio diário (GMD) e peso de carcaça (Tambara et al., 2021; Sousa et al., 2022; De Paula et al., 2019). Estratégias específicas podem melhorar a produtividade do sistema, por garantir maior lotação (Tambara et al., 2021; Bones et al., 2023). Em meta-análise com

bovinos em pastagens tropicais, cada 1% do peso corporal (PC) em suplemento elevou o GMD em 0,308 kg, com potencial de 112 kg por animal ao ano na estação chuvosa e na estação seca. ambas as estações (Tambara et al., 2021).

Em conjunto, melhorias na eficiência de utilização de forragens e rações podem ser potencializadas com a utilização de aditivos, que modificam processos metabólicos específicos, resultando em aumento na produção (Fereli et al., 2010). Os probióticos são aditivos microbianos compostos por diferentes espécies de leveduras e bactérias benéficas, como *Bacillus* spp., utilizados na alimentação animal. Esses microrganismos contribuem para o equilíbrio da microbiota do trato gastrointestinal, promovendo benefícios ao hospedeiro. Os microrganismos de alimentação direta (DFM) destacam-se por sua capacidade de modular a fermentação ruminal, melhorar o aproveitamento dos nutrientes e favorecer o desempenho de ruminantes. Seus efeitos incluem a ação sobre a microbiota ruminal, a degradação de nutrientes, a estabilidade do ambiente fermentativo e o metabolismo do nitrogênio, sendo especialmente eficazes em dietas à base de forragens tropicais de baixa e média qualidade (Mamuad et al., 2019; Rigon, 2025).

A inclusão dessas cepas probióticas representa uma estratégia para melhorar a eficiência alimentar, o ganho de peso e a saúde gastrointestinal de bovinos de corte. Dada a dificuldade de terminar bovinos Nelore inteiros em pastagens tropicais, onde é desafiador depositar mínimo de gordura na carcaça, torna-se necessário otimizar o aproveitamento da forragem consumida. Embora estudos *in vitro* e experimentos conduzidos com vacas leiteiras tenham demonstrado resultados promissores para *Bacillus* spp., informações sobre os

efeitos dessas cepas sobre a digestibilidade de nutrientes em bovinos Nelore terminados a pasto ainda são limitadas. Nesse contexto, a suplementação com probióticos à base de *Bacillus* representa uma estratégia promissora para modular a fermentação ruminal e potencialmente aumentar a eficiência de utilização dos nutrientes em bovinos terminados em pastagens tropicais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Bacillus* como probiótico na nutrição animal

Durante muitas décadas os antibióticos foram usualmente utilizados como promotores de crescimento para animais de produção, e descrito como técnica auxiliar na intensificação da produção e atendimento da demanda crescente por alimentos de produtos de origem animal (Cameron e McAllister, 2019; Pézsa et al., 2022). Contudo, o uso indiscriminado dessas substâncias ocasionou o surgimento de resistência antimicrobiana, resíduos em alimentos humanos e poluição ambiental (Pan et al., 2017; Luise et al., 2022; Pézsa et al., 2022), resultando em proibição dessa prática em diversos países. Esse cenário apresenta novos desafios aos sistemas de produção animal, a desenvolverem por meio de pesquisas importantes, novas estratégias e produtos que otimizem a eficiência digestiva e potencializem o desempenho produtivo dos rebanhos.

Aliado à diminuição do uso de antibióticos, a crescente dos conceitos de qualidade de vida e segurança alimentar pelo mercado consumidor tem aumentado a utilização de suplementos naturais à base de probióticos para promover o crescimento e saúde animal (Sharma et al., 2018). Por definição, os probióticos são microrganismos vivos e não patogênicos que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do

hospedeiro (FAO/OMS, 2001) e por isso se tornam candidatos não invasivos atraentes para larga utilização na nutrição de animais de produção (Tachibana et al., 2020; Xu et al., 2021; Pézsa et al., 2022), inclusive ruminantes (Cameron e McAllister, 2019).

Os probióticos, microrganismos vivos naturais ou geneticamente modificados, podem fazer parte da composição de alguns alimentos ou de suplementos dietéticos e que, em quantidades adequadas e dependendo da composição desses alimentos/suplementos no que diz respeito a outros nutrientes, conferem benefícios para o hospedeiro (Koppe, Mafra, Fouque, 2015). Devido à sua habilidade de formar endosporos, que permanecem viáveis mesmo em condições extremas, como temperaturas elevadas e baixas, radiação, pH desfavorável e presença de produtos químicos tóxicos, as bactérias do gênero *Bacillus* têm despertado interesse como candidatas promissoras ao desenvolvimento de aditivos alimentares probióticos (Algburi et al., 2016; Ruiz Sella et al., 2021; Hong et al., 2009).

Embora complexa, a ação probiótica inclui a limitação do crescimento de patógenos nas mucosas por método de exclusão competitiva, competindo por receptores e nutrientes; propriedades antioxidantes, promoção da imunidade mucosa e sistêmica do organismo, do crescimento de microrganismos benéficos, síntese de substâncias antimicrobianas, como as citocinas, e estimulação das proteínas de choque térmico (Wang et al., 2018; Feng e Wang, 2020; Tellez-Isaias et al., 2021; Pézsa et al., 2022).

A grande maioria das bactérias probióticas são pertencentes aos gêneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Enterococcus*, originárias do intestino dos animais (Nithya e Halami, 2013; Dubreuil, 2017; Pézsa et al., 2022). As cepas de *Bacillus* não fazem parte da flora comensal, mas são potenciais candidatas aos probióticos devido à propriedade de formação de esporos resistentes a condições ambientais adversas, como as características químicas do trato gastrointestinal (Nithya e Halami, 2013; Pahumunto et al., 2021; Pézsa et al., 2022). Entre vários *Bacillus* spp., as estirpes *B. subtilis* e *B. licheniformis* são caracterizadas por produzirem enzimas, aminoácidos, vitaminas e outras substâncias (Larsen et al., 2014; Harwood et al., 2018; Pézsa et al., 2022).

2.2 *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* na alimentação de ruminantes

Evidências sugerem que *Bacillus* spp. podem modificar o padrão de fermentação ruminal e melhorar a utilização dos nutrientes, o que se reflete em melhorias produtivas (Peng et al., 2009; Qiao et al., 2010). Avaliando a utilização de *B. subtilis* para vacas leiteiras no início da lactação, Peng et al. (2009) relataram aumento no desempenho de lactação, em possível resposta à alteração do padrão de fermentação ruminal, com aumento no propionato e redução do acetato produzidos no rúmen (Peng et al., 2009).

Por outro lado, Qiao et al. (2010) não encontraram efeito do *B. subtilis* sobre as características de fermentação, fluxo de nitrogênio duodenal e digestibilidade dos nutrientes em vacas leiteiras, enquanto o *Bacillus licheniformis* aumentou a digestibilidade ruminal da fibra e da matéria orgânica, produção de leite e de proteína láctea devido ao incremento do fluxo de proteína microbiana para o duodeno e redução do nitrogênio amoniacal no rúmen (Qiao

et al., 2010), indicando maior eficiência de utilização de nitrogênio, inferindo maior atividade bacteriana ruminal que responde aumentando a taxa de degradação da fibra e liberando mais bactérias para o trato digestivo como fonte de proteína.

As cepas de *Bacillus* aderem às paredes intestinais do trato gastrointestinal dos animais e competem com patógenos perigosos, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, além de prevenir a disbiose durante o tratamento com antibióticos, melhorando, em consequência, a digestão e o trânsito alimentar (Bernardeau et al., 2017; Alagawany et al., 2018; Ruiz Sella et al., 2021). A ação probiótica de inibir patógenos como *Salmonella typhimurium*, espécies de *Clostridium*, *Campylobacter*, *Streptococcus*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Teo e Tan, 2005; Guo et al., 2006; Teo e Tan, 2006) foi descrita para *B. subtilis*. Esses microrganismos probióticos foram administrados a bezerros por Sun et al. (2010), que relataram melhora da função imunológica dos animais.

Estudos prévios indicaram que diferentes espécies de *Bacillus* têm a capacidade de produzir uma ampla gama de enzimas fibrolíticas, amilolíticas, lipolíticas e proteolíticas (Ghani et al., 2013; Elshagabee et al., 2017; Su et al., 2020), as quais têm potencial de melhorar a digestibilidade dos nutrientes e o desempenho dos animais. Recentemente, Pan et al. (2022) relataram que a combinação de *B. licheniformis* e *B. subtilis* melhorou, *in vitro*, a degradabilidade da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN), bem como a digestibilidade do amido em alimentos forrageiros e concentrados. Isso sugere que a capacidade das espécies de *Bacillus* de produzir e liberar uma ampla

variedade e quantidade de enzimas pode levar a uma melhor utilização de alimentos ou nutrientes por animais ruminantes (Schallmey et al., 2004; Elshaghabee et al., 2017; Luise et al., 2022).

Evidências científicas demonstram que a adição de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* melhora a digestibilidade de nutrientes no trato digestivo de ruminantes, sobretudo a da fibra (Deng et al., 2018; Pech-Cervantes et al., 2019; Pan et al., 2022). Em geral, seus efeitos nos ruminantes se dão através da modificação do ambiente ruminal, competindo com o *Streptococcus bovis* e limitando a produção de lactato, aumentando a população de bactérias celulolíticas, com isso apresentando melhor fermentação da fração fibrosa (Dezfuli e Babaei, 2018 apud Coelho, 2022) ou usando excesso de lactato, para redução da acidose ruminal (Sirisan et al., 2013 apud Coelho, 2022), alteração do pH ruminal, concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e redução na emissão de metano entérico (Wang et al., 2015; Deng et al., 2018).

O efeito de *B. subtilis* sobre a digestibilidade ruminal da fibra pode ser descrito pelos achados de Pech-Cervantes et al. (2019), em que relataram que *B. subtilis* apresentam alta capacidade de fabricar e liberar proteínas semelhantes à expansina, proteínas decodificadas por bactérias e fungos que podem afrouxar, expandir ou romper os constituintes da parede celular vegetal, como celulose e hemicelulose (Saloheimo et al., 2002; Bunternngsook et al., 2014; Pech-Cervantes et al., 2019) permitindo maior acesso das bactérias ruminais à fibra, aumentando degradação e digestibilidade desse componente nutricional.

Pech-Cervantes et al. (2019) descreveram em seu estudo que as proteínas semelhantes à expansina recombinante expressa de *Bacillus subtilis*

(BsEXLX1) aumentaram a área de superfície da fibra em mais que o dobro, aumentando a digestibilidade *in vitro* da hemicelulose e a concentração de butirato, além de aumentar a atividade da celulase e, em efeitos sinérgicos, BsEXLX1 + celulase, a digestibilidade *in vitro* da FDN em até 23,3% (Pech-Cervantes et al., 2019).

Em sistemas baseados em forragens, probióticos à base de *Bacillus spp.* têm sido relatados como capazes de reduzir o consumo, aumentar a digestibilidade aparente total da MS, da proteína bruta (PB) e da fibra, além de reduzir as concentrações plasmáticas de nitrogênio ureico, sugerindo maior eficiência na utilização dos nutrientes e menor excreção de nitrogênio (Limede et al., 2025). Entretanto, outros estudos não observaram melhorias na digestibilidade, mesmo em dietas com elevado teor de fibra (Calaca et al., 2022; Dias et al., 2022).

Essa variabilidade nas respostas sugere que os efeitos de *Bacillus* não dependem exclusivamente do teor de FDN da dieta, mas também de interações sinérgicas entre as cepas e da dose fornecida, fatores que podem potencializar a capacidade celulolítica da microbiota ruminal (Wang et al., 2016).

Segundo Calaca et al. (2022), a ausência de efeitos sobre o desempenho e as características de carcaça pode estar relacionada ao longo período de adaptação anterior ao início da suplementação, o que favorece o estabelecimento de uma comunidade microbiana estável em animais saudáveis, condição na qual os benefícios dos probióticos tendem a ser menos evidentes. Apesar dos resultados promissores, os efeitos da suplementação com *Bacillus*

spp. permanecem inconsistentes entre os estudos, variando conforme a espécie animal, a dieta, a cepa utilizada, a dose fornecida e as condições experimentais.

3. HIPÓTESE

A suplementação de bovinos Nelore terminados a pasto com probiótico a base de *Bacillus* aumenta a digestibilidade dos nutrientes, sobretudo da fibra, e o consumo de pasto pelos animais.

4. OBJETIVOS

Avaliar o consumo de pasto e a digestibilidade aparente dos nutrientes no trato digestivo total de bovinos Nelore terminados a pasto e suplementados com probiótico à base de *Bacillus*.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais, dieta e manejo

O estudo foi conduzido na área experimental do Setor de Bovinocultura de Corte da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Jaboticabal. Todos os procedimentos envolvendo a utilização de animais no estudo seguiram as diretrizes estabelecidas pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Estadual Paulista - UNESP (protocolo nº 0151/2019).

Foram utilizados 28 animais da raça Nelore, machos, inteiros, com peso vivo inicial médio de 405 kg (13,5 @s), alocados em 4 piquetes de *Urochloa brizantha* cv. *Marandu* e distribuídos em delineamento em blocos casualizados, utilizando o peso corporal (PC) e piquete como fatores de blocagem.

Em cada piquete, os animais foram distribuídos aleatoriamente à duas estratégias nutricionais de suplementação: Controle (sem aditivo alimentar) ou com probiótico a base de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*,

com administração de 2 gramas/cabeça/dia ($6.4E+09$ CFU/cabeça/dia).

Cada piquete apresentava aproximadamente 2,5 hectares de área e possuíam bebedouro com água *ad libitum* e Sistema Calan Gates® para suplementação individual dos animais. O Calan Gate® é um sistema de controle eletrônico de alimentação, onde os animais são equipados com colares magnetizados (*transponders*) responsáveis pela abertura dos cochos de forma exclusiva, através de um sistema de reconhecimento eletrônico. Dessa forma, é possível que cada animal tenha acesso apenas a um cocho individual, permitindo a mensuração da ingestão de suplemento de cada animal, e a avaliação de diferentes dietas em animais alojados em grupo, como o pasto.

Os suplementos experimentais foram formulados segundo o National Research Council, Nutrient Requirements of Beef Cattle – (NASEM, 2016), e fornecidos a 0,3% do PC dos animais, diferindo apenas quanto à inclusão ou não do aditivo, que foi ofertado aos animais junto ao suplemento. Os animais foram mantidos a pasto durante todo o estudo e o suplemento, fornecido uma vez ao dia no Sistema Calan Gates®, no início da manhã, aproximadamente às 05h00. Após 24 horas, as sobras do suplemento ofertado no dia anterior foram pesadas para determinação do consumo de suplemento, antes da nova oferta da suplementação. O estudo teve no total uma duração de 112 dias.

5.2 Digestibilidade dos nutrientes

Durante o intervalo entre o d11 e d15 de cada período experimental (correspondendo ao d11 – d15; d39 – d43; d67 – d71; d95 – d99 do calendário experimental, foram ofertados 15 gramas de dióxido de titânio [TiO_2], direto no cocho dos animais por cima do suplemento, por dia por animal durante 9 dias e as coletas foram realizadas durante os últimos 5 dias de oferta. A coleta de fezes foi por defecação espontânea e coletada uma vez por dia, no período da

manhã, durante os intervalos descritos. As fezes coletadas em cada período do estudo foram homogeneizadas para compor uma amostra composta para cada animal, em cada período.

Os ingredientes do suplemento foram amostrados, e os animais foram submetidos a observação de pastejo para simulação e coleta da fração do pasto consumida, as coletas foram realizadas no começo de cada período. Todas as amostras (ingredientes do suplemento, forragem e fezes) foram submetidas a pré-secagem em estufa de ventilação forçada à 65°C, por mínimo de 72 horas. Posteriormente, as amostras pré-secas foram moídas em peneira de 1 mm e submetidos à análise de composição química, em relação aos teores de MS, matéria mineral (MM) (Detmann et al., 2012), PB, (LECO) e FDN (Van Soest. et al., 1991).

A digestibilidade aparente de cada nutriente foi calculada pela relação entre o consumo e excreção (fezes) dos nutrientes. O consumo de nutrientes foi determinado pela relação entre a composição e a quantidade de pasto e suplemento consumidos.

O consumo de suplemento foi obtido pela diferença da quantidade ofertada e das sobras diárias, após período de 24 horas, enquanto o consumo de pasto foi determinado pela utilização de marcadores externos (dióxido de titânio [TiO₂]) e internos (fibra em detergente neutro indigestível [FDNi]) dos alimentos. Amostras representativas da forragem consumida foram obtidas nos dias 14, 42, 70 e 98 por meio da observação direta do comportamento de pastejo dos animais, coletando-se material semelhante ao efetivamente selecionado quanto à proporção de folhas, colmos, material morto e comprimento das folhas.

As amostras foram secas em estufa a 65 °C durante 72 horas, moídas e submetidas às análises de composição química e fibra em detergente neutro

indigestível (FDNi). A FDNi foi utilizada como indicador interno para estimar o consumo de pastagem. As amostras de forragem, suplemento e fezes foram moídas em peneira de 2 mm e analisadas conforme Casali et al. (2008), após incubação *in situ* no rúmen durante 288 horas.

5.3. Desempenho animal

No início e ao final do período experimental, bem como a cada 28 dias nas pesagens intermediárias, os animais foram pesados após jejum de sólidos por 16 horas. A eficiência biológica foi utilizada como indicador do aproveitamento dos nutrientes pelos animais, sendo calculada pela relação entre o kg de MS acumulado e a @ produzida durante o período experimental. Esse índice expressa a quantidade de ganho de peso obtida por unidade de matéria seca consumida, permitindo avaliar a capacidade dos animais em converter os nutrientes ingeridos em carcaça.

5.4 Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando o PROC MIXED do SAS (SAS University Edition, Cary. NC), e testados para normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias. Foi realizada análise de variância (ANOVA) pelo teste F com nível de significância de $P \leq 0,05$. O modelo considerou delineamento em blocos casualizados, com efeito fixo do suplemento (adição de probiótico à base de *Bacillus*) e efeito aleatório do bloco.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A adição das cepas de *Bacillus* no suplemento reduziu o consumo de matéria seca (CMS) total da dieta, considerando pasto e suplemento, da matéria orgânica (MO), PB e FDN ($P = 0,02$). Por outro lado, não houve efeito sobre a digestibilidade dos nutrientes entre as dietas ($P \geq 0,05$; Tabela 5).

A utilização de cepas de *Bacillus* na nutrição de ruminantes tem sido pesquisado como estratégia para melhorar os parâmetros nutricionais e eficiência dos animais. Contudo, os efeitos dos *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* utilizados individualmente e de forma associada diferem entre os estudos. Qiao et al. (2010) encontraram melhora na digestibilidade dos nutrientes quando vacas foram alimentadas com *B. licheniformis*, mas não com *B. subtilis*, enquanto Pech-Cervantes et al. (2019) descreveram efeito do *B. subtilis* sobre melhora na digestibilidade da fibra.

A composição bromatológica da pastagem evidenciou alterações ao longo do período experimental, principalmente em função da maturidade da forragem. (Tabela 1). Observou-se redução do teor de proteína bruta e aumento da matéria seca e da FDN no último período experimental, indicando avanço no estágio de maturação do capim marandu. Apesar dessas alterações na qualidade da forragem, a suplementação foi formulada para suprir parte das exigências nutricionais dos animais, fornecida a 0,3% do peso corporal e mantendo composição constante durante todo o experimento.

Dessa forma, as diferenças observadas posteriormente no consumo e desempenho dos animais podem ser atribuídas principalmente ao efeito da suplementação com *Bacillus* e não a alterações na composição do suplemento.

Tabela 1. Composição química da pastagem de capim-marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) durante a fase de terminação.

Meses	Período experimental			
	28	56	84	112
Matéria seca, %	36.7	43.5	47.6	66.4
Composição Nutricional (% da matéria seca, MS)				
Proteína bruta	6.8	7.1	7.2	4.2
Fibra em detergente neutro (FDN)	65.0	64.2	63.1	70.2
Fibra em detergente ácido (FDA)	44.1	43.8	41.5	38.4

Matéria mineral (Cinzas)	6.9	7.1	6.5	6.4
--------------------------	-----	-----	-----	-----

Tabela 2. Consumo de pastagem, suplemento e matéria seca total de touros Nelore terminados em pastagem tropical e suplementados com um probiótico à base de *Bacillus*.

Dias	Tratamentos*		EPM ¹	P valor
	Controle	Probiótico		Tratamento
Consumo de pastagem (kg de MS/dia)				
0 – 28	6.2	5.4	0.74	0.41
29 – 56	10.2	8.8	1.10	0.26
57 – 84	6.5	5.5	0.58	0.05
85 – 112	6.2	5.6	0.50	0.31
Média geral	7.2	6.3	0.69	0.04
Consumo de suplemento (kg de MS/dia)				
0 – 28	1.8	1.7	0.07	0.27
29 – 56	1.9	1.9	0.06	0.13
57 – 84	1.8	1.7	0.06	0.02
85 – 112	1.8	1.8	0.06	0.20
Média geral	1.8	1.8	0.06	0.12
Consumo total de matéria seca (kg/dia)				
0 – 28	8.0	7.1	0.78	0.40
29 – 56	12.1	10.7	1.14	0.24
57 – 84	8.4	7.2	0.69	0.04
85 – 112	8.0	7.4	0.48	0.29
Média geral	9.3	8.2	0.80	0.02

CON: suplemento energético-proteico sem adição de aditivo (n = 14); Probiótico: suplemento energético-proteico contendo 2 g de probiótico/animal/dia (n = 14). O probiótico era composto por *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* ($6,4 \times 10^9$ UFC/g). ¹EPM: erro padrão da média. P valor: nível de significância estatística. O nível de significância adotado foi de $P \leq 0,05$, enquanto valores de $0,05 < P \leq 0,10$ foram considerados como tendência.

A suplementação com o probiótico promoveu redução no consumo de pastagem e, conseqüentemente, no CMS, sem alterar o consumo de suplemento. Esse resultado demonstra que a diminuição da ingestão ocorreu exclusivamente pela menor ingestão de forragem, caracterizando um possível efeito substitutivo do consumo de pasto.

Considerando que a digestibilidade dos nutrientes permaneceu inalterada, é possível que a suplementação tenha modificado mecanismos relacionados ao comportamento ingestivo ou à dinâmica ruminal, reduzindo a necessidade de maior ingestão sem promover ganhos na eficiência digestiva.

Tabela 3. Consumo de proteína bruta de touros Nelore terminados em pastagem tropical e suplementados com um probiótico à base de *Bacillus*.

Dias	Tratamentos*		EPM ₁	P valor
	Control	Probiótico		
	e	o		to
Consumo de proteína bruta proveniente da pastagem (kg de MS/dia)				
0 – 28	0.64	0.55	0.08	0.39
29 – 56	0.99	0.86	0.11	0.27
57 – 84	0.56	0.46	0.05	0.05
85 – 112	0.44	0.42	0.09	0.72
Média geral	0.66	0.57	0.06	0.03
Consumo de proteína bruta proveniente do suplemento (kg de MS/dia)				
0 – 28	0.24	0.24	0.01	0.27
29 – 56	0.27	0.27	0.01	0.14
57 – 84	0.27	0.26	0.01	0.03
85 – 112	0.27	0.26	0.01	0.20
Média geral	0.26	0.26	0.01	0.09
Consumo total de proteína bruta (kg/dia)				
0 – 28	0.88	0.79	0.08	0.37
29 – 56	1.26	1.13	0.12	0.25
57 – 84	0.83	0.72	0.06	0.03
85 – 112	0.70	0.68	0.09	0.65
Média geral	0.92	0.83	0.07	0.02

CON: suplemento energético-proteico sem adição de aditivo (n = 14). Probiótico: suplemento energético-proteico contendo 2 g de probiótico/animal/dia (n = 14). O probiótico era composto por *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* ($6,4 \times 10^9$ UFC/g). ¹ EPM: erro padrão da média. P valor: nível de significância estatística. Considerou-se $P \leq 0,05$ como significativo e $0,05 < P \leq 0,10$ como tendência.

A redução do consumo de PB observada nos animais suplementados foi (Tabela 3) consequência direta da menor ingestão de pastagem, uma vez que o consumo de proteína proveniente do suplemento permaneceu semelhante entre os tratamentos. Esse resultado indica que a suplementação com o probiótico não alterou a ingestão do concentrado fornecido, mas reduziu o consumo da principal fonte de proteína da dieta, representada pela forragem.

Tabela 4. Consumo de fibra em detergente neutro (FDN) de tourinhos Nelore terminados em pastagem tropical e suplementados com um probiótico à base de *Bacillus*.

Dias	Tratamentos*		EPM ₁	P valor
	Control	Probiótico		
				Tratament

	e	o	o	
³ Consumo de FDN proveniente da pastagem (kg de MS/dia)				
0 – 28	3.9	3.4	0.47	0.41
29 – 56	6.2	5.4	0.62	0.27
57 – 84	4.4	3.7	0.38	0.05
85 – 112	4.2	3.7	0.37	0.15
Média geral	4.8	4.2	0.44	0.02
³ Consumo de FDN proveniente do suplemento (kg de MS/dia)				
0 – 28	0.30	0.30	0.01	0.27
29 – 56	0.28	0.28	0.01	0.13
57 – 84	0.26	0.25	0.01	0.02
85 – 112	0.27	0.26	0.01	0.20
Média geral	0.28	0.27	0.01	0.13
Consumo total de FDN ³ (kg/dia)				
0 – 28	4.2	3.7	0.47	0.40
29 – 56	6.5	5.7	0.63	0.26
57 – 84	4.7	4.0	0.39	0.05
85 – 112	4.4	4.0	0.33	0.31
Média geral	5.1	4.4	0.45	0.02

CON: suplemento energético-proteico sem adição de aditivo (n = 14). Probiótico: suplemento energético-proteico contendo 2 g de probiótico/animal/dia (n = 14). O probiótico era composto por *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* ($6,4 \times 10^9$ UFC/g). ¹ EPM: erro padrão da média. P valor: nível de significância estatística. Considerou-se $P \leq 0,05$ como significativo e $0,05 < P \leq 0,10$ como tendência. ³ FDN: fibra em detergente neutro.

A suplementação com o probiótico reduziu o consumo de FDN proveniente da pastagem e, conseqüentemente, o consumo total dessa fração fibrosa, sem alterar a ingestão de FDN oriunda do suplemento. Esse resultado está diretamente relacionado à menor ingestão de forragem pelos animais suplementados e discorda com a hipótese inicial de que a associação entre *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* aumentaria o consumo e o aproveitamento da fibra.

Tabela 5. Consumo de pasto e suplemento e Digestibilidade dos nutrientes da dieta de bovinos Nelore terminados a pasto com suplementação a 0,3% do peso corporal contendo *Bovacillus*

Variáveis	Suplementos		EPM ¹	P valor
	Controle	<i>Bovacillus</i>		
Consumo de nutrientes, kg de MS				
Matéria seca	9.30	8.20	0.80	0.02
Matéria orgânica	8.40	7.50	0.73	0.02

Proteína bruta	0.92	0.83	0.07	0.02
Fibra em detergente neutro	5.10	4.40	0.45	0.02
Digestibilidade da MS ² , %				
0 – 28 dias	47.00	46.90	3.39	0.96
29 – 56 dias	55.60	56.50	4.21	0.52
57 – 84 dias	31.90	35.00	4.79	0.17
85 – 111 dias	36.70	39.60	1.98	0.19
Média geral	42.60	44.50	2.80	0.19
Digestibilidade da MO ³ , %				
0 – 28 dias	50.90	50.90	2.94	0.99
29 – 56 dias	57.40	58.50	4.08	0.51
57 – 84 dias	34.60	37.60	4.57	0.21
85 – 111 dias	37.80	40.50	2.22	0.28
Média geral	45.00	46.80	2.56	0.26
Digestibilidade da PB ⁴ , %				
0 – 28 dias	50.10	49.80	2.32	0.92
29 – 56 dias	47.20	46.00	4.08	0.68
57 – 84 dias	33.40	35.50	3.47	0.50
85 – 111 dias	30.80	33.80	4.04	0.20
Média geral	40.50	41.70	1.30	0.39
Digestibilidade da FDN ⁵ , %				
0 – 28 dias	44.20	44.50	4.80	0.92
29 – 56 dias	56.60	58.00	3.58	0.40
57 – 84 dias	34.40	36.50	3.80	0.39
85 – 111 dias	39.50	39.80	2.74	0.90
Média geral	44.60	44.60	2.65	0.99

NOTA: **1** EPM: erro padrão da média. **2** MS = matéria seca; **3** MO = matéria orgânica; **4** PB = proteína bruta; **5** FDN = fibra em detergente neutro.

Entretanto, no presente estudo, a redução do consumo de FDN não foi acompanhada por aumento na digestibilidade dessa fração, indicando que a adição de probiótico utilizada não foi suficiente para potencializar a degradação da fibra nas condições de pastejo avaliadas. Dessa forma, os resultados sugerem que a resposta à suplementação depende de fatores como dose, concentração de microrganismos viáveis, combinação de cepas, qualidade da forragem e ambiente ruminal, podendo limitar a expressão do potencial fibrolítico

desses probióticos em sistemas de produção a pasto.

Contudo, estes trabalhos não avaliaram a associação de *B. licheniformis* + *B. subtilis* na mesma dieta, conforme nosso estudo. Pan et al. (2022) relataram que a combinação dessas cepas melhorou, *in vitro*, a degradabilidade da MS e FDN de alimentos originários da Austrália. A diferença do comportamento encontrado em nosso estudo em relação ao descrito por Pan et al. (2022) pode estar relacionado ao método do estudo, uma vez que trabalhos *in vivo* estão mais sujeitos a maior variabilidade biológica, além da diferença na composição dos alimentos utilizados, uma vez que a diferença nas condições climáticas entre Brasil e Austrália pode afetar a composição nutricional dos alimentos produzidos em cada país.

Além disso, a resposta à suplementação com *Bacillus* pode variar conforme a categoria animal, o estado fisiológico, o tipo de dieta, a qualidade da forragem e o nível de concentrado. Nesse sentido, estudos conduzidos com vacas leiteiras, novilhas e bovinos de corte em diferentes sistemas têm demonstrado respostas inconsistentes, com efeitos positivos sobre digestibilidade, fermentação ruminal ou desempenho em algumas condições, mas ausência de resposta em outras. Portanto, a divergência entre estudos não deve ser atribuída apenas à composição nutricional dos alimentos, mas também ao ambiente ruminal formado por cada dieta e à condição fisiológica dos animais avaliados.

Em vacas em lactação, por exemplo, a maior exigência nutricional e o fornecimento de dietas parcialmente misturadas com maior proporção de concentrado podem favorecer respostas distintas daquelas observadas em machos Nelore terminados em pastagem tropical com suplementação.

Em nosso estudo, além da suplementação com as cepas de *Bacillus* ter

reduzido o CMS, não alterou a digestibilidade aparente dos nutrientes. Estes resultados indicam uma possível redução na taxa de passagem da dieta e aumentado o tempo de retenção das partículas no rúmen, permitindo mais tempo para ação dos microrganismos ruminais e degradação dos alimentos e nutrientes, tornando semelhante os parâmetros de digestibilidade entre as estratégias de suplementação e o menor consumo pelos animais.

Em consonância com a ausência de efeitos sobre a digestibilidade dos nutrientes, os resultados de desempenho produtivo estão apresentados na Tabela 6. De modo geral, a suplementação com *Bacillus* afetou negativamente o GMD ($P = 0,02$), resultando, consequentemente, em menor peso corporal final (PCF) quando comparado ao Controle (600,5 vs. 582,9 kg; $P = 0,02$), o menor consumo dos animais suplementados influenciou tais parâmetros. Entretanto, a suplementação não influenciou a eficiência alimentar dos animais, tanto do suplemento, quanto do pasto ($P > 0,11$), da eficiência biológica ($P = 0,81$), do rendimento de carcaça (RC) ($P = 0,30$) e nem do PCQ ($P = 0,30$).

Estes resultados indicam que, mesmo diante da redução do CMS observada nos animais, estes mantiveram o mesmo PCQ entre os diferentes tratamentos no abate, sugerindo que a menor ingestão não resultou em prejuízo produtivo. Esses resultados sugerem que a suplementação com *Bacillus*, em condições de pastejo, pode ter modificado a dinâmica microbiana ruminal (Sun et al., 2016).

Tabela 6. Desempenho de bovinos Nelore terminados a pasto com suplementação a 0,3% do peso corporal contendo *Bovacillus*

Variáveis	Suplementos		EPM ¹	P valor
	Controle	<i>Bovacillus</i>		
Peso corporal, kg				
0	503,70	501,50	7,27	0,69

28	530,70	525,50	2,72	0,21
56	556,60	538,00	4,58	< 0,01
84	587,90	571,10	4,22	0,01
112	600,50	582,90	4,37	0,02
Ganho médio diário, kg/dia				
0–28	1,10	0,90	0,10	0,21
0–56	1,00	0,70	0,06	< 0,01
0–84	1,10	0,90	0,05	0,01
0–112	0,90	0,80	0,04	0,02
28–56	0,90	0,50	0,09	0,01
56–84	1,10	1,10	0,09	0,74
84–112	0,40	0,50	0,07	0,23
Eficiência alimentar				
Pasto	0,129	0,128	0,008	0,94
Suplemento	0,495	0,448	0,022	0,11
Geral	0,101	0,098	0,005	0,76
Peso de carcaça quente, Kg	320,30	318,60	4,18	0,70
Rendimento de carcaça, %	52,70	53,90	0,75	0,30
Eficiência biológica (CMS acumulado kg/@ produzida)	211,70	210,21	0,34	0,81

NOTA:1 EPM: erro padrão da média.

De acordo, Calaca et al. (2022) observaram que os bovinos suplementados com probióticos e terminados em pastagem apresentaram aumento na proporção de isovalerato, um ácido graxo de cadeia ramificada derivado da degradação de aminoácidos e um fator de crescimento essencial para bactérias celulolíticas, sugerindo modificações na fermentação ruminal que não se traduziram em melhora na eficiência digestiva ou no desempenho animal.

Embora a suplementação com *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* possa ter promovido alterações na dinâmica fermentativa ruminal, conforme sugerido por estudos anteriores, essas modificações não se refletiram em maior digestibilidade dos nutrientes nem em melhor desempenho produtivo dos animais nas condições avaliadas. Esses achados evidenciam que, em condições

de pastejo tropical, a utilização de *Bacillus* não apresenta benefícios práticos para o desempenho produtivo, reforçando a necessidade de novos estudos que avaliem diferentes níveis de suplementação, combinações de probióticos e categorias de animais, a fim de compreender melhor o potencial de aplicação dessa estratégia.

A dose de probiótico utilizada no presente estudo (2 g/animal/dia) foi inferior às empregadas em outros trabalhos que avaliaram produtos à base de *Bacillus* em ruminantes. Qiao et al. (2010) suplementaram vacas Holandesas lactantes com 100 g/animal/dia de uma cultura contendo *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*, enquanto Peng et al. (2012) utilizaram 10 g/animal/dia de um produto de fermentação de *Bacillus subtilis natto* em vacas no início da lactação. Apesar da menor quantidade de produto fornecida no presente estudo, os resultados demonstram que a suplementação com apenas 2 g/animal/dia foi suficiente para promover alterações no consumo de nutrientes.

Entretanto, a comparação direta entre as doses deve ser realizada com cautela, pois a eficácia dos probióticos depende não apenas da quantidade de produto administrada, mas também da concentração de microrganismos viáveis, das cepas utilizadas, do veículo de administração, da categoria animal, da dieta e das condições de manejo adotadas em cada experimento.

7. CONCLUSÃO

A suplementação de bovinos Nelore terminados a pasto com probiótico à base de *Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis* reduziu o consumo de nutrientes, o peso corporal final e o GMD; contudo, não afetou a digestibilidade aparente

dos nutrientes, inclusive da fração fibrosa, nem a eficiência alimentar, o rendimento de carcaça e o PCQ dos animais.

8. RESUMO

A utilização de *Bacillus* como probióticos para ruminantes tem apresentado tendência a incrementar a digestibilidade da fibra dos alimentos. Objetivou-se avaliar o efeito de probiótico à base de *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* sobre a digestibilidade dos nutrientes, o consumo de pasto e o desempenho em bovinos Nelores terminados a pasto. Vinte e oito bovinos Nelore, machos inteiros, com peso corporal inicial de 405 kg, foram blocados por peso corporal e distribuídos em quatro piquetes de *Urochloa brizantha* cv. *Marandu*, sendo aleatoriamente designados a dois tratamentos: Controle (sem aditivo) ou suplementado com Bovacillus® (*Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis*, [2 g/cabeça/dia]). O período experimental foi de 112 dias, divididos em 4 períodos de 28 dias. O suplemento foi fornecido a 0,3% do peso corporal dos animais. Amostras do suplemento, pasto e fezes foram submetidas a análises de composição química para determinação da digestibilidade dos nutrientes pela relação entre consumo e excreção de cada nutriente. Os animais foram pesados no início do período experimental e no final de cada período de 28 dias, a eficiência biológica, a eficiência alimentar e o GMD foram calculados para cada período. Os dados foram analisados pelo PROC MIXED do SAS (2003), com significância em $P \leq 0,05$. A adição das cepas de *Bacillus* no suplemento reduziu o CMS, a MO, PB e FDN ($P = 0,02$) da dieta total, considerando a ingestão de pasto e suplemento. Contudo, não houve efeito do Bovacillus sobre a digestibilidade dos nutrientes ($P \geq 0,05$). Conclui-se que a adição de 2g de Bovacillus no suplemento de bovinos Nelore em terminação a pasto, não afeta a digestibilidade dos nutrientes das dietas.

Palavras-chave: *calan gate*; consumo de pasto; fibra em detergente neutro; microrganismos; pastejo.

9. ABSTRACT

The use of *Bacillus* as probiotics for ruminants has shown a tendency to increase the digestibility of feed fiber. The objective was to evaluate the effect of a probiotic based on *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on nutrient digestibility pasture intake, and performance in Nellore cattle finished on pasture. Twenty-eight intact male Nellore cattle, with an initial body weight of 405 kg, were blocked by body weight and distributed into four paddocks of *Urochloa brizantha* cv. *Marandu*, being randomly assigned to two treatments: control (without additive) or supplemented with Bovacillus® (*Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*, [2 g/head/day]). The experimental period was 112 days, divided into 4 periods of 28 days. The supplement was provided at 0.3% of the animals' body weight. Samples of the supplement, pasture, and feces were subjected to chemical composition analyses to determine nutrient digestibility by the relationship between consumption and excretion of each nutrient. The animals were weighed at the start of the experimental period and at the end of each 28-day period; biological efficiency, feed efficiency, and ADG were calculated for each period. Data were analyzed using the PROC MIXED method of SAS (2003), with significance at $P \leq 0.05$. The addition of *Bacillus* strains to the supplement reduced the DMI, CP, and NDF NDF ($P = 0.02$) of the total diet, considering pasture and supplement intake. However, there was no effect of Bovacillus on nutrient digestibility ($P \geq 0.05$). It is concluded that the addition of 2g of Bovacillus to the supplement of Nellore cattle finishing on pasture does not affect the nutrient digestibility of the diets.

Keywords: *calan gate*; pasture consumption; neutral detergent fiber; microorganisms; grazing.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRÃO, F. O. et al. Enzimas microbianas: potencial biotecnológico e efeitos modulatórios em ruminantes. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2017.

ALAGAWANY, M.; et al. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 10611-10618, 2018.

ALGBURI, A.; et al. Safety properties and probiotic potential of *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 and *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895. **Advances in Microbiology**, v. 6, n. 6, p. 432-452, 2016.

BERCHIELLI, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. Nutrição de Ruminantes. FUNEP, Jaboticabal, Brazil, 2011.

BERNARDEAU M.; et al. Importance of the gastrointestinal life cycle of *Bacillus* for probiotic functionality. **Journal of Food and Science Technology**, v. 54, n. 8, p. 2570–2584, 2017.

BONES, E.; PARIS, W.; COSTA, O. A. D.; PAULA, A. L. D.; BELLI, V. P.; SILVA NEVES, A. C.; MENEZES, L. F. G. Influence of irrigation and supplementation on performance and ingestive behavior of beef cattle on mixed grass pastures. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 52, e20220055, 2023. DOI: <https://doi.org/10.37496/rbz5220220055>

BUNTERNGSOOK, B.; et al. Identification of novel bacterial expansins and their synergistic actions on cellulose degradation. **Bioresour. Technol.** 159:64–71, 2014.

CAI, Q.; et al. 13-Methyltetradecanoic acid exhibits anti-tumor activity on T-cell lymphomas *in vitro* and *in vivo* by down-regulating p-AKT and activating caspase-3. **PloS one**, 8(6), e65308, 2013.

CALACA, A. M. M.; FIGUEIREDO, C. B.; SILVA, M. B.; FERNANDES, J. J. R.; FERNANDES, M. H. M. R.; SILVA, L. F.; COUTO, V. R. M. Effect of a *Bacillus* probiotic strain on Nellore cattle finished on pasture during the dry season. **Livestock Science, Amsterdam**, v. 264, art. 105068, 2022.

CAMERON, A. e MCALLISTER, T. A. Could probiotics be the panacea alternative to the use of antimicrobials in livestock diets? **Beneficial microbes**, 10(7), 773-799, 2019.

CAPPELLOZZA, B. I. et al. Evaluation of a *Bacillus*-based direct-fed microbial probiotic on in vitro rumen gas production and nutrient digestibility of different feedstuffs and total mixed rations. **Translational Animal Science**, v. 7, n. 1, 2023.

CASTILLO-LOPEZ, E.; DOMÍNGUEZ-ORDÓÑEZ, M. G. Factores que afectan la composición microbiana ruminal y métodos para determinar el rendimiento de la proteína microbiana. **Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias**, v. 10, n. 1, p. 120-148, 2019.

COELHO, Gabriela de Jesus; ALVES, Kaliandra Souza; MEZZOMO, Rafael. PROBIÓTICOS COMO ALTERNATIVA AOS IONÓFOROS EM DIETAS DE RUMINANTES. **Ciência Animal**, [S. l.], v. 30, n. 4, p. 117–130, 2022.

DENG, K. D.; et al. Ruminal fermentation, nutrient metabolism, and methane emissions of sheep in response to dietary supplementation with *Bacillus licheniformis*. **Animal Feed Science and Technology**, 241, 38-44, 2018.

DE PAULA, N. F.; PAULINO, M. F.; COUTO, V.; DETMANN, E.; MACIEL, I.; BARROS, L. V.; LOPES, S.; VALENTE, É.; ZERVOUDAKIS, J.; MARTINS, L. Effects of supplementation plan on intake, digestibility, eating behavior, growth performance, and carcass characteristics of grazing beef cattle. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, supl. 2, p. 3233–3252, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n6supl2p3233>.

DEZFULI, B.T.; BABAEI, M. Fitting five models to describe milk production curve for Khuzestani buffaloes of Iran in different parities and seasons. **Buffalo Bulletin**, v.37, n.4, p.513–526, 2018.

DI CERBO, A.; et al. Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli. **J. Clin. Pathol.**, 69, 187–203, 2016.

DUBREUIL, J.D. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and probiotics in swine: What the bleep do we know? **Biosci. Microbiota Food Health**, 36, 75–90, 2017.

ELSHAGHABEE, F. M. F.; et al. *Bacillus* as Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 8, p. 1490, 2017.

FAO/OMS. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Exper consultation report: Cordoba, Argentina: Food and agriculture organization of the United Nations and World Health Organization, 2001.

FENG, T. e WANG, J. Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: A systematic review. **Gut Microbes**, 12, 1801944, 2020.

FERELI, F.; et al. Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas para bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência de síntese microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, 2010.

FOX, D. G.; et al. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. **Animal Feed Science and Technology**, v. 112, p. 29-78, 2004.

GHANI, M.; et al. Isolation and characterization of different strains of *Bacillus licheniformis* to produce commercially significant enzymes. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 4, p. 691-697, 2013.

GUO X. H.; et al. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. **International Journal of General and Molecular Microbiology** 90:139–146, 2006.

GURGEL, A. L. C.; et al. Suplementação estratégica para animais em pasto. **Pubvet**, v.12, p.147, 2018.

HARWOOD, C.R.; et al. Secondary metabolite production and the safety of industrially important members of the *Bacillus subtilis* group. **FEMS Microbiol. Rev.**, 42, 721–738, 2018

HONG, H. A.; et al. The use of bacterial spore formers as probiotics. **FEMS Microbiol. Rev.** 29:813-835, 2005.

HONG, H. A.; et al. Defining the natural habitat of *Bacillus* spore-formers. **Research in Microbiology**, v. 160, n. 6, pág. 375-379, 2009.

JIA, F.; et al. Developmental defects of *Caenorhabditis elegans* lacking branched-chain α -ketoacid dehydrogenase are mainly caused by monomethyl branched-chain fatty acid deficiency. **Journal of Biological Chemistry**, 291(6), 2967-2973, 2016.

LAMONTAGNE, J.; et al. *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* used as probiotics to enhance lactation performance and milk branched-chain fatty acids in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 102(Suppl. 1):233. (Abstr.), 2019.

LA RAGIONE, R. M.; et al. *Bacillus subtilis* spores competitively exclude *Escherichia coli* O78:K80 in poultry. **Vet. Microbiol.** 79:133-142, 2001.

LARSEN, N.; et al. Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 98, 1105–1118, 2014.

LESER, T. D. E MOLBAK L. Better living through microbial action: the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. **Environ. Microbiol.** 11:2194-2206, 2009.

LIMEDE, Arnaldo C.; et al. Effects of a *Bacillus*-based direct-fed microbial on digestibility, ruminal *in situ* nutrient disappearance, microbiome, and fermentation parameters in forage-fed beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 103, 2025.

LIU, H.Y.; et al. Effects of *Lactobacillus johnsonii* and *Lactobacillus reuteri* on gut barrier function and heat shock proteins in intestinal porcine epithelial cells. **Physiol. Rep.**, 3, e12355, 2015.

LUISE, D.; et al. *Bacillus* spp. Probiotic Strains as a Potential Tool for Limiting the Use of Antibiotics, and Improving the Growth and Health of Pigs and Chickens. **Frontier Microbiology**, v. 7, n. 13, p.801827, 2022.

MAMUAD, L.L.; KIM, S.H.; BISWAS, A.A.; YU, Z.; CHO, K.K.; KIM, S.B.; LEE, K.; LEE, S.S. Rumen fermentation and microbial community composition influenced by live *Enterococcus faecium* supplementation. **AMB Express**, v.9, n.1, p.1–12, 2019.

MCNAUGHT, C. E. e MACFIE, J. Probiotic in clinical practice: a critical review of the evidence. **Nutrition Research**. 21:343-353, 2001.

MILLEN, D. D.; et al. Current outlook and future perspectives of beef production in Brazil. **Animal Frontiers**, v. 1; p.46-52, 2011.

MINSON, D. J. **Forage in ruminant nutrition** San Diego: Academic Press, 1990. 483p.

MYERS, W. D.; et al. Technical note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 179-183, 2004.

NITHYA, V. e HALAMI, P.M. Evaluation of the probiotic characteristics of *Bacillus* species isolated from different food sources. **Ann. Microbiol.**, 63, 129–137, 2013.

OELSCHLAEGGER, T.A. Mechanisms of probiotic actions—a review. **Int. J. Med. Microbiol.**, 300, 57–62, 2010.

OYEBADE, A. O.; et al. A multi-species direct-fed microbial supplement alters the milk lipidome of dairy cows. **J. Dairy Sci.** Short communication, 4:25-30, 2023.

PAHUMUNTO, N.; et al. Evaluation of Potential Probiotic Properties of *Lactobacillus* and *Bacillus* Strains Derived from Various Sources for Their Potential Use in Swine Feeding. **Probiotics Antimicrob. Proteins**, 1–12, 2021.

PAN, L.; et al. Probiotic supplementation protects weaned pigs against enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 challenge and improves performance similar to antibiotics. **J. Anim. Sci.**, 95, 2627–2639, 2017.

PAN, L.; et al. Effects of a *Bacillus*-based direct-fed microbial on *in vitro* nutrient digestibility of forage and high-starch concentrate substrates. **Translational Animal Science**, 6(2), txac067, 2022.

Pastagem - Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/qualidade-da-carne/carne-bovina/producao-de-carne-bovina/pastagem>>.

PECH-CERVANTES, A. A.; et al. An expansin-like protein expands forage cell walls and synergistically increases hydrolysis, digestibility and fermentation of livestock feeds by fibrolytic enzymes. **PLoS One** 14:e0224381, 2019.

PENG, H.; et al. Effect of feeding *Bacillus subtilis natto* fermentation product on milk production and composition, blood metabolites and rumen fermentation in early lactation dairy cows. **Anim. Physiol. Anim. Nutr.** 96:506–512, 2012.

PÉZSA, N. P; et al. Effects of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* on gut barrier function, proinflammatory response, ROS production and pathogen inhibition properties in IPEC-J2—*Escherichia coli*/Salmonella Typhimurium co-culture. **Microorganisms**, 10(5), 936, 2022.

QIAO, G. H; et al. Effect of supplemental *Bacillus* cultures on rumen fermentation and milk yield in Chinese Holstein cows. **J. Anim. Physiol. and Anim. Nutr.** 94:429–436, 2010.

RAN-RESSLER, R. R.; et al. Branched chain fatty acid content of United States retail cow's milk and implications for dietary intake. **Lipids** 46:569–576, 2011.

REIS, R. A.; et al. Supplementing the diet of beef cattle as a pasture management strategy. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 38(special supplement), p. 147-159, 2009.

RESENDE, F. D.; et al. Supplementation strategies in the rearing of beef cattle. In: Forage farming: Science, Technology and Management of Forage Resources. Reis, RA; Bernardes, TF and Siqueira, GR, eds. FUNEP, Jaboticabal, p.563-588, 2013.

RIGON, Fernanda. Inclusão de aditivos à base de microrganismos de alimentação direta na dieta de bovinos Nelore recriados a pasto em condições tropicais. 2025. 94 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 2025.

ROSELLI, M.; et al. The novel porcine *Lactobacillus sobrius* strain protects intestinal cells from enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 infection and prevents membrane barrier damage. **J. Nutr.**, 137, 2709–2716, 2007.

RUIZ SELLA, S. R. B; et al. *Bacillus subtilis* natto as a potential probiotic in animal nutrition. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 41, n. 3, p. 355-369, 2021.

SALOHEIMO, M.; et al. *Swollenin*, a *Trichoderma reesei* protein with sequence similarity to the plant expansins, exhibits disruption activity on cellulosic materials. **European journal of biochemistry**, 269(17), 4202-4211, 2002.

SCHALLMEY M.; SINGH A.; WARD O. P. Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 1-17, 2004.

SHARMA, C.; et al. Antimicrobial resistance: Its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. **Front Vet Sci.** 4:237, 2018.

SIRISAN, V.; PATTARAJINDA, V.; VICHITPHAN, K.; LEESING, R. Isolation, identification and growth determination of lactic acid-utilizing yeasts from the ruminal fluid of dairy cattle. **Letters in Applied Microbiology**, v.57, n.2, p.102-107, 2013.

SOUSA, L. C. O.; PALMA, M. N.; FRANCO, M.; DETMANN, E. Does frequency of protein supplementation affect performance of cattle under grazing in tropical pastures? **Animal Feed Science and Technology**, v. 291, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115316>.

SU, Y.; et al. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. **Microbial cell factories**, v. 19, n. 1, p. 1-12, 2020.

SUN, P.; et al. Effects of *Bacillus subtilis* natto on performance and immune function of preweaning calves. **J. Dairy Sci.** 93:5851–5855, 2010.

SUN, P.; et al. Effects of *Bacillus natto* on milk production, rumen fermentation and ruminal microbiome of dairy cows. **Animal**. 7(2):216-222, 2012.

TACHIBANA, L.; et al. *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects on growth performance, gut microbiota modulation and innate immunology. **Aquaculture Research**, 52(4), 1630-1642, 2021.

TAMBARA, A. A. C.; HÄRTER, C. J.; RABELO, C. S.; KOZLOSKI, G. Effects of supplementation on production of beef cattle grazing tropical pastures in Brazil during the wet and dry seasons: a meta-analysis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 50, e20210020, 2021. DOI: <https://doi.org/10.37496/rbz5020210020>.

TELLEZ-ISAIAS, G.; et al. Developing probiotics, prebiotics, and organic acids to control *Salmonella* spp. in commercial turkeys at the University of Arkansas, USA. **Ger. J. Vet. Res.**, 3, 7–12, 2021.

TEO A. Y. L. e TAN, H. M. 2005. Inhibition of *Clostridium perfringens* by a novel strain of *Bacillus subtilis* isolated from the gastrointestinal tracts of healthy chickens. **Applied and Environmental Microbiology** 71:4185–4190;

TEO A. Y. L. e TAN, H. M. Effect of *Bacillus subtilis* PB6 (CloSTAT) on broilers infected with a pathogenic strain of *Escherichia coli*. **Journal of Applied Poultry Research** 15:229–235, 2006.

VALENTE, T. N. P.; DETMANN, E.; SAMPAIO, C. B. Recent advances in evaluation of bags made from different textiles used in situ ruminal degradation. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 95, p. 493–498, 2015.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583–3597, 1991.

WANG, Z.; et al. Comparison of two live *Bacillus* species as feed additives for improving *in vitro* fermentation of cereal straws. **Anim. Sci. J.** 87:27–36, 2016.

WANG, J.; et al. Swine-derived probiotic *Lactobacillus plantarum* inhibits growth and adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* and mediates host defense. **Front. Microbiol.**, 9, 1364, 2018.

WONGTANGTINTHARN, S.; et al. Incorporation of branched-chain fatty acid into cellular lipids and caspase-independent apoptosis in human breast cancer cell line, SKBR-3. **Lipids in health and disease**, 4, 1-13, 2005.

XU, Y.; et al. Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance, immunity, short chain fatty acid production, antioxidant capacity, and cecal microflora in broilers. **Poultry science**, 100(9), 101358, 2021.

YANG, F.; et al. *Lactobacillus reuteri* I5007 modulates tight junction protein expression in IPEC-J2 cells with LPS stimulation and in newborn piglets under normal conditions. **BMC Microbiol.**, 15, 32, 2015.

YARA BRASIL. Conheça as estratégias para manejo de pastagem. Disponível em: <<https://www.yarabrasil.com.br/conteudo-agronomico/blog/estrategias-para-manejo-de-pastagem/>>. Acesso em: 30 jun. 2026.