

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

FARELO DE GLÚTEN DE MILHO SECO NA DIETA DE BOVINOS NELORE EM
TERMINAÇÃO: COMPORTAMENTO INGESTIVO, SAÚDE RUMINAL, PERFIL
METABÓLICO SANGUÍNEO E EXPRESSÃO RELATIVA DE mRNA DE GENES
TRANSPORTADORES DE ÁCIDOS GRAXOS RUMINAL

HUGO LENNON CORRÊA
ZOOTECNISTA

BOTUCATU - SP
AGOSTO – 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CÂMPUS DE BOTUCATU

FARELO DE GLÚTEN DE MILHO SECO NA DIETA DE BOVINOS NELORE EM
TERMINAÇÃO: COMPORTAMENTO INGESTIVO, SAÚDE RUMINAL, PERFIL
METABÓLICO SANGUÍNEO E EXPRESSÃO RELATIVA DE mRNA DE GENES
TRANSPORTADORES DE ÁCIDOS GRAXOS RUMINAL

HUGO LENNON CORRÊA
ZOOTECNISTA

Orientador: Dr. Danilo Domingues Millen
Coorientador (a): Dr. Mário De Beni Arrigoni
Dr^a. Cynthia Ludovico Martins

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

BOTUCATU - SP
AGOSTO – 2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Corrêa, Hugo Lennon.

Farelo de glúten de milho seco na dieta de bovinos nelore em
terminação : comportamento ingestivo, saúde ruminal, perfil
metabólico sanguíneo e expressão relativa de mRNA de genes
transportadores de ácidos graxos ruminais / Hugo Lennon Corrêa.
- Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de
Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Danilo Domingues Millen
Coorientador: Mário De Beni Arrigoni
Coorientador: Cynthia Ludovico Martins
Capes: 50405004

1. Bovinos de corte. 2. Expressão gênica. 3. Ruminação
digestiva. 4. Metabolismo. 5. Glúten. 6. Farelo de milho.

Palavras-chave: Bovinos de corte; Expressão gênica; Farelo de
glúten de milho seco; Saúde ruminal; Terminação de bovinos.

Ofereço

A Deus pelas benções concedidas, por me guiar, proteger e fazer seguir em frente. O Senhor é a minha paz e com Você sempre quero estar.

Dedico

À minha família, minha mãe, Tânia de Jesus Corrêa, meu pai, Romison de Souza Teixeira e irmãos, Louane Tainá Corrêa Teixeira e Lucas Matheus Corrêa Teixeira pelo apoio e ajuda constante e amor incondicional.

Vocês sempre estarão comigo!

Agradecimentos

A Deus por todas as oportunidades que tive em compreender, aprender e ensinar;

À minha família que, em todos os momentos, sempre deram apoio incondicional e uma palavra de conforto para manter os planos;

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" pela oportunidade em cursar a pós-graduação;

Ao Orientador, Professor Dr. Danilo Domingues Millen pelas orientações concedidas e oportunidades de compartilhamento de conhecimentos;

Aos co-orientadores Dr. Mário de Beni Arrigoni e Dr^a Cinthya Ludovico Martins por todo apoio e confiança depositado, bem como por ajudar continuamente nesta pesquisa e em meu desenvolvimento pessoal e profissional;

Ao professor Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto por toda supervisão concedida ao longo do desenvolvimento desta pesquisa;

À equipe de execução do projeto em campo, Wellington Luiz de Paula Araújo, Mateus Silva Ferreira, Bismarck Moreira Santiago e Tainá Eburnêo Martins, obrigado pela oportunidade em compartilhar experiências e vivência diária no confinamento;

A todos os estagiários: Ana Bárbara Sartor, Luiz Antônio Fogaça, João Victor Ishikawa, Camila Prado, Adelino Francischinelli, Ana Gabriela Sabadini, Monise Santos, Matheus Parra, Rafael Bitu e demais integrantes da Empresa Júnior NUTRIR – UNESP, entre outros que participaram indiretamente. Sem a ajuda e colaboração de vocês não teríamos concluído esse projeto com sucesso;

Aos funcionários do setor do Confinamento de novillo precoce Carlos Eduardo, Wilson Bizantino e Sr. Benedito e aos demais funcionários da FMVZ por todo tipo de informação e experiência de vida concedida;

A técnica Gisele Setznagl e Stefanilly Souza Leite pela ajuda no Laboratório de Bromatologia da FMVZ – UNESP;

Ao professor José Roberto Sartori do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, por disponibilizar o laboratório de imagens para as análises histológicas;

Aos funcionários do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal, tanto os professores, funcionários administrativos e limpeza e entre outras repartições da UNESP que colaboraram na minha formação ao longo desses anos;

Aos funcionários da seção técnica de pós-graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, senhora Ellen Cassimiro e Claudia Cristina pela ajuda, colaboração e paciência durante esta etapa;

À Universidade Federal de Lavras pela parceria institucional com a execução de análises moleculares;

A empresa Nutron/Cargil representado por Dr. Pedro Veiga Paulino pela parceria em projeto de pesquisa com a UNESP.

Ao professor Dr. Antônio Chalfun Júnior pela contribuição com as análises moleculares e autorização para que eu pudesse desenvolver atividade laboratorial e permitir a divisão de experiência com toda equipe do Laboratório de Fisiologia Molecular Vegetal – UFLA, MG;

Aos supervisores Dr. Carlos Henrique Cardon e Dra. Kellen Kauanne Pimenta de Oliveira por toda ajuda e acompanhamento diário com as análises moleculares, além de todos aqueles que contribuíram indiretamente na execução desta pesquisa;

À minha querida companheira, namorada e amiga de todas as horas, Daiane Cristina Marques da Silva. Obrigado por todo o apoio e ajuda nos momentos de dificuldade, alegria, cansaço e felicidade encontrado nesta caminhada;

Aos meus amigos da República Mato-Minas, Vitão (Victor Oliveira Maia), Bruno Frank (Bruno), Vinicius R. Arantes (Vini), Gean Monteiro (Gaúcho), Rafael Bibiano (Bibi), Júlio César (Trator), Jean Gil (Sequela), Luís Miguel (Insulina), Rodrigo Faria (Pepa) e ao mascote, Milo (PET) pela moradia, acolhimento, momentos de descontração, alegria e confraternizações;

À República Lobo Mal e Villa Velha, em nome de Thiago Silva Ramos (Fumaça), pela estadia, acolhimento e companheirismo durante o período de análises no município de Lavras-MG.

À Usina São Manuel, pela doação do bagaço-de-cana;

A todos os bovinos que participaram desta pesquisa, meus sinceros agradecimentos;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo bolsa concedida e apoio financeiro por meio da reserva técnica de bolsa (Processo 2018/18002-3).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

MUITO OBRIGADO!

“As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do(s) autores(s) e não necessariamente refletem a visão da FAPESP”

SUMÁRIO

Página

CAPÍTULO 1	7
Considerações iniciais	10
1. Introdução	10
2. Panorama da bovinocultura	11
3. Farelo de glúten de milho seco	12
3.1 Generalidades, formas de obtenção e composição	12
3.2 Farelo de glúten de milho na alimentação de bovinos.....	16
4. Saúde ruminal de bovinos confinados	20
5. Consumo e comportamento alimentar	26
6. Expressão relativa de mRNA de genes associados a processos digestivos	28
Objetivo	36
Referências bibliográficas	37
CAPÍTULO 2	56
Resumo	58
Abstract.....	60
1. Introdução	61
2. Materiais e Métodos	62
2.1 Local, clima e período experimental	62
2.2 cuidados na recepção, manejo alimentar e condução experimental	62
2.3. Ingestão de matéria seca e desempenho	64
2.4. Avaliação do comportamento alimentar	64
2.5. Avaliação do índice de seletividade da ração total	65
2.6. Estimativa da energia para ganho de peso e custo de ganho	66
2.7. Perfil metabólico sanguíneo	67
2.8. Índice de rumenites e abscessos hepáticos	67
2.9. Morfologia das papilas ruminais	68
2.10. Histologia das papilas ruminais	69
2.12. Genes candidatos, primers e análise relativa da expressão gênica (RT – qPCR)..	71
2.13. Delineamento experimental e análise estatística	72
3. Resultados.....	74
4. Discussão	85
5. Conclusão	91
6. Literatura Citada	92

LISTA DE TABELAS

1		
2	Tabela 1. Níveis de inclusão de ingredientes nas dietas experimentais	63
3	Tabela 2. Composição química do farelo de glúten de milho seco (FGMS) fornecido aos	
4	animais durante o período experimental.....	64
5	Tabela 3. Genes alvos e sequências de nucleotídeos iniciadores da RT- qPCR.....	73
6	Tabela 4. Consumo de matéria seca, desempenho produtivo e consumo de FDN e Amido	
7	de bovinos nelores confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS.	
8		74
9	Tabela 5. Comportamento ingestivo de bovinos nelores confinados e alimentados com	
10	níveis crescentes de inclusão de FGMS	76
11	Tabela 6. Distribuição e índice de seletividade de partícula da ração de bovinos nelore	
12	confinados alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta	77
13	Tabela 7. Morfometria das papilas ruminais de bovinos nelore confinados alimentados	
14	com níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta	78
15	Tabela 8. Histologia das papilas ruminais de bovinos nelore confinados e alimentados	
16	com níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta	78
17	Tabela 9. Perfil metabólico hepático de bovinos nelore confinados e alimentados com	
18	níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta.....	79
19	Tabela 10. Perfil metabólico sanguíneo de bovinos nelore confinados e alimentados com	
20	níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta.....	80

21

22

23

24

25

26

27

28

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Fluxograma de obtenção do farelo de milho seco..... 14

Capítulo 2

Figura 1. Expressão relativa de mRNA de genes (CLDN1 e DGS1) responsáveis pela proteção da barreira epitelial nas papilas ruminais de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS. 81

Figura 2. Expressão relativa de mRNA de genes (MCT1, MCT4, NHE3, NHE1, PAT1 e UT-B) responsáveis pelo transporte de AGCC e controle de pH intracelular nas papilas ruminais de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS 84

Figura 3. Expressão relativa de mRNA de genes (TNF- α , TLR4 e CD14) receptores de respostas inflamatórias a LPS nas papilas ruminais de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS. 85

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas os sistemas de produção de ruminantes apresentou evolução considerável na melhoria da produtividade e qualidade do produto ofertado (CAETANO e JÚNIOR, 2017), e diante do crescimento da população mundial, os sistemas de produção animal, principalmente aqueles destinados a produção de carne, tem sido estimulado a criar modelos de produção que englobam o a utilização de novas tecnologias com o objetivo de intensificar a produção e obter resultados mais eficientes (SILVA et al.,2009).

Atualmente, a indústria animal brasileira tem contribuído diretamente com o crescimento econômico do país e, a criação de bovinos de corte é uma vertente com efeitos multiplicadores de renda e oportunidade de empregos em diversos nichos do agronegócio, intensificando a demanda por insumos, cuidados sanitários, melhoramento genético, aperfeiçoamento e modernização das técnicas de manejo produtivo e bem-estar animal. A integração desses fatores e a busca por alternativas tecnológicas e sustentáveis, permitem maior eficiência do sistema produtivo e determinam a permanência da atividade no mercado.

O número de confinamentos comerciais de bovinos de corte apresentou crescimento substancial nos últimos anos, devido principalmente ao aumento das exportações de boi gordo (OLIVEIRA e MILLEN, 2014). Em contrapartida, a busca pela melhoria da qualidade dos animais comercializados, bem como eficiência na utilização dos recursos, tem aumentado os custos despendidos com alimentação, em consequência principalmente do aumento do teor de grãos nas rações, uma vez que o grão de milho é o principal cereal utilizado para na alimentação animal, além de ser fonte de energia nas dietas de bovinos terminados em confinamentos.

A utilização de subprodutos do processamento do milho tem sido foco em estudos com ruminantes, buscando resultados relacionados aos níveis de inclusão, potencialidades no aproveitamento, parâmetros ruminais, desempenho animal e qualidade de carne, uma vez que podem atuar como fonte de energia substituindo parcial ou totalmente ingredientes tradicionalmente utilizados em formulações de dietas. Além de ser uma opção de ingredientes altamente disponível, os subprodutos otimizam os custos operacionais dos confinamentos principalmente em épocas de baixa oferta e entressafra da cultura do milho e auxiliam a saúde ruminal devido à redução no teor de amido na ração (PEREIRA et al., 2007).

2. PANORAMA DA BOVINOCULTURA

O rebanho mundial de bovinos é de aproximadamente 1,5 bilhão de animais, sendo o Brasil, Índia, Estados Unidos China e a Etiópia os países com maiores rebanhos de animais vivos (FAO, 2018).

O Brasil se destaca há muitos anos no cenário mundial devido a uma das principais atividades no seguimento da agropecuária, a bovinocultura de corte. O efetivo brasileiro do rebanho bovino é aproximadamente de 214 milhões de cabeças (FAO, 2018), sendo a região Centro-Oeste (34,34%) com o maior rebanho, seguido da região Norte (22,46%), Sudeste (17,56%), Nordeste (13,24%) e Sul (12,40%) (Adaptado de ABIEC, 2020). Além disso, segundo a mesma associação, no ano de 2019 foram abatidos cerca de 43,3 milhões de animais com produção de aproximadamente 10,5 milhões de toneladas de equivalente carcaça (TEC). Este fato, deve-se principalmente à liderança nas exportações que representam aproximadamente um quinto da carne comercializada internacionalmente e vendida em mais de 154 países, necessitando que a quantidade de animais abatidos seja maior para prover tanto o mercado externo quanto o interno.

Quanto às exportações, o Brasil é o maior exportador de carne bovina *in natura*, totalizando o volume de 2,49 milhões de toneladas, representado por 24% da sua produção, tendo como os principais importadores: Hong Kong, China, Egito Chile e Estados Unidos (ABIEC, 2020). Além disso, em relação a Cota Hilton, o Brasil se encontra credenciado com o limite de exportações de até dez mil toneladas de carne desossada de alto padrão, cerca de 85,7% deste total foi atendido no ano de 2017.

A pecuária brasileira destaca-se pela criação de animais criados em pasto, no entanto, em 2019, dos 43,3 milhões de animais abatidas, cerca de 6,1 milhões de animais eram oriundos de confinamentos comerciais, ou seja, aproximadamente 14,1% do total e correspondendo ao aumento de 510.00 animais abatidos em relação ao ano anterior (ABIEC, 2020) destacando o estado do Mato Grosso, Goiás, São Paulo e Mato grosso do Sul como os principais criadores de carne oriundo de confinados, representando aproximadamente 73% da produção (Adaptado de ANULAPEC, 2020). Além disso, segundo Oliveira e Millen (2014), ao realizar levantamento sobre recomendações nutricionais e práticas de manejo adotado em confinamentos no Brasil, a raça Nelore (77,4%) correspondeu a maioria dos bovinos confinados do país.

Por ser um grande produtor de proteína animal, o Brasil tem como o mercado interno seu principal destino, chegando a média de 80% do total produzido sendo consumido internamente. Segundo IBGE (2019), o Brasil registrou crescimento nominal na ordem de 6,8% de arrecadação do Produto Interno Bruto (PIB) em relação ao ano anterior e somente a pecuária de corte contribuiu com 8,5% desse crescimento. Além disso, segundo a ABIEC (2020), o consumo per capita de carne bovina se encontra em média 38,37 kg por habitante em 2019.

O aumento tanto no efetivo rebanho do país quanto nas exportações, tem sua origem como base nas variáveis edafoclimáticas que o país possui, além de característica climáticas favoráveis aliada à extensão territorial, contribui positivamente para o aumento desses índices. Adicionalmente, o investimento em tecnologia, capacitação profissional e desenvolvimento de políticas públicas permitem que a pecuária de corte brasileira se desenvolva de forma significativa, principalmente em relação ao controle sanitário, segurança alimentar, controle nutricional e rastreabilidade desde o nascimento ao abate dos animais, possibilita que o Brasil satisfaça às exigências criteriosas do mercado externo e conquiste um espaço no cenário mundial.

3. FARELO DE GLÚTEN DE MILHO SECO

3.1 Generalidades, formas de obtenção e composição

O milho é um dos principais cereais produzidos mundialmente (VASCONCELOS et al., 2013) e o Brasil possui potencialidade para a produção deste. Segundo o Boletim de monitoramento agrícola (CONAB, 2020), a produção da cultura de milho está em crescimento e a previsão é de que a safra de 2020/2021 alcance o total de 104,9 milhões de toneladas, com previsão de exportação de 34,5 milhões. Segundo Stock et al. (2000), o processo de industrialização do milho gera múltiplos produtos destinados aos mais diversos nichos dos seguimentos industriais, desde de insumos para alimentação humana, setor farmacêutico e químico, têxtil até alimentação animal.

O milho tem o amido como a principal fonte de carboidrato de reserva dos vegetais (FAHEY e BERGER, 1988). Por se tratar de um alimento caracteristicamente energético, sua estrutura física pode ser fracionada em quatro constituintes, sendo: endosperma (compreendendo em sua maior parte por amido), gérmen, pericarpo (casca) e ponta. Quanto aos métodos de processamento, pode ser moído por via seca ou por via úmida, permitindo a separação das estruturas físicas e posterior obtenção de subprodutos como o óleo, amido, adoçantes, xaropes (HAM et al., 1995).

A utilização de grãos de cereais na fabricação de produtos alimentícios para consumo humano, bebidas e combustível é crescente a cada ano, levando ao aumento na produção de resíduos industriais (STOCK et al., 2000). Segundo Klopfenstein et al. (2007), subprodutos oriundos da moagem do milho aumentam drasticamente a medida em que a indústria do etanol se desenvolve e podem ser obtidos por meio de dois processos: moagem à seco (*dry milling*) que origina os grãos secos de destilaria (DDG) e a moagem úmida (*wet milling*) que produz o farelo de glúten de milho e pode ser comercializado tanto na forma úmida quanto na forma seca (FGMU e FGMS).

O FGMS também é um dos principais resíduos da indústria da produção de amido, adoçantes, óleo e xarope de milho (WEIGEL et al., 1997; SAPNA et al., 2012) é obtido a partir do processo de moagem úmida antes da fermentação dos grãos e constitui uma opção de ingrediente de ampla aplicação na formulação de dietas para amplas categorias na indústria animal, principalmente como fonte proteica para ruminantes (HANKINS et al., 2005) devido ao baixo teor de gordura e amido e rico em fibra de alta digestibilidade (PEREIRA et al., 2007).

A moagem úmida do grão permite a separação em componentes, como: amido, óleo, farelo, gérmen e glúten (MENEHETTI e DOMINGUES, 2008; POORE et al., 2002; SAPNA et al., 2012). Após limpeza, os grãos são embebidos em tanques de imersão com solução fraca de ácido sulfuroso, oriundo da interação entre dióxido de enxofre e água ($\text{SO}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{H}_2\text{SO}_3$) responsável pelo controle da fermentação e na separação do amido e proteína (BLANCHARD, 1992; CRA, 2006), por aproximadamente dois dias, em que há formação do licor de infusão (concentrado de maceração) composto por proteínas solúveis, minerais, vitaminas e açúcares simples (NCRR, 1989; KENT e EVERS, 2018)

Os grãos, uma vez enturpecidos e após moagem, compõe uma pasta que é submetida a drenagem e centrifugação promovendo separação do gérmen, amido e farelo (resíduo fibroso) para seguidamente ser processado (segunda moagem e filtração) com o objetivo de diminuir o tamanho de partícula do amido. Uma vez separados, o produto final é filtrado permitindo que somente o farelo permaneça retido na peneira, onde será misturado ao líquido de infusão.

O NCRR (1989) e SAPNA et al. (2012) relatam que o amido é destinado a fabricação de produtos gastronômicos, o farelo é misturado ao licor de infusão e glúten e o gérmen submetido a extração de óleo, ou seja, o farelo de glúten de milho é a mistura da fração fibrosa ao licor de infusão mais glúten e farelo de gérmen.

Concluindo o processo com um produto de baixo amido, porém com alta fibra, proteína e umidade, além de conter cerca de 40% de matéria seca e 90% quando submetido ao processo de secagem rápida e posteriormente vendido à indústria pecuária (Figura 1).

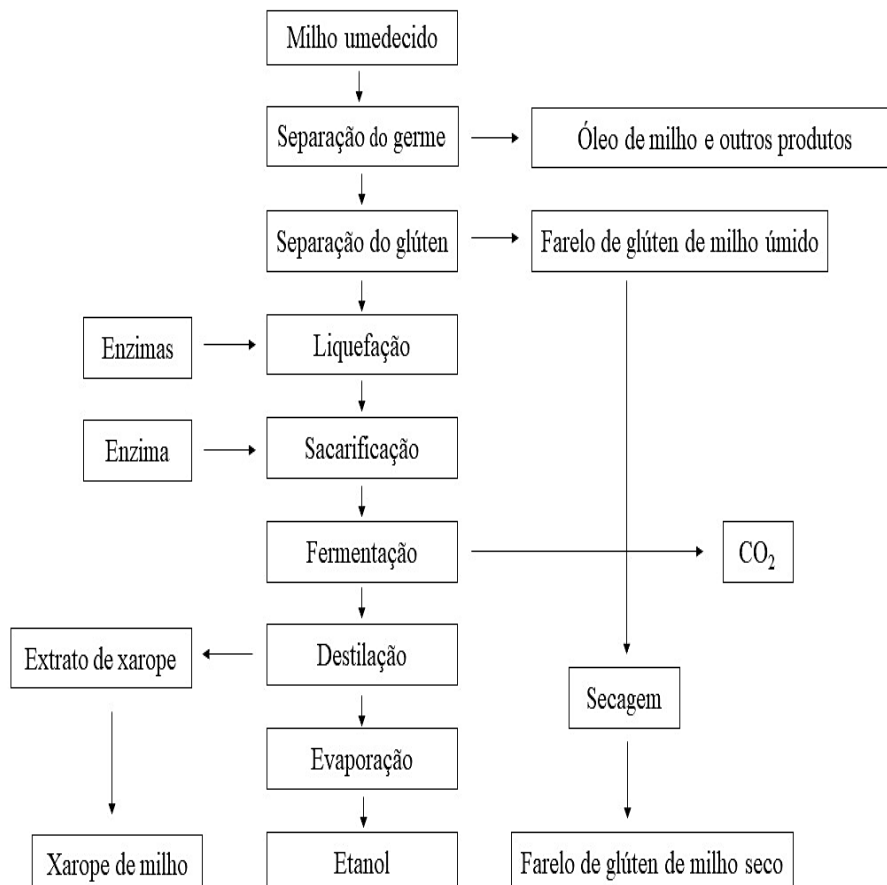


Figura 1 - Fluxograma de obtenção do farelo de glúten de milho seco.
Fonte: Adaptado de Sapna et al. (2012).

Segundo Macedo et al. (2003), no processo de beneficiamento do milho em que há geração de resíduos como o farelo de glúten, para cada 100 kg de milho em grãos são produzidos 62 a 68 kg de amido, 3 kg de óleo, 3,2 kg de farelo de gérmen, 20 kg de glúten e 4,5 kg de farinha de glúten.

Em termos nutricionais, o FGMS é relativamente alto em PB, variando de 20 a 60% com solubilidade próximo a 50% em que 60% deste é proteína de alto escape rumi-
 nal (ALCADE et al., 1994; NRC, 2001; KELZER et al., 2009), 3% de EE e 8,2% de MM por kg.ms⁻¹ (MYER E HERSOM, 2008; BCNRM, 2016).

Baixo em conteúdo amiláceo devido a maior parte deste ser extraído no processa-
 mento para obtenção do xarope, mas dispõe de 80% de NDT (quando comparado ao grão
 de milho inteiro com média de 88%) e corresponde a aproximadamente 1,91 Mcal EM/kg

MS. Para categorias leiteiras, Fellner & Belyea (1991) relatam que os menores valores de energia líquida para lactação de rações à base de FGM em comparação a rações à base de milho em grãos são compensadas com aumento de consumo, resultando em acréscimos de 1,5 a 1,8 kg de FDN/100 kg de peso vivo, superior aos valores obtidos quando a FDN é em sua maioria proveniente de forragem.

. Em geral, os valores de FDN entre 40 a 50% de FDN (HAO et al., 2017; BCNRM, 2016) do FGMS são mais altos comparados aos alimentos concentrados tradicionais e, embora a concentração de FDN esteja relacionada à ingestão de matéria seca, de modo que valores altos de FDN na ração possam limitar o consumo, isto não deve ocorrer devido a rápida e extensa degradabilidade (PEREIRA et al., 2007).

Han et al. (1995) ressalta que, apesar da alta concentração de FDN em comparação as demais fontes de fibra não volumoso, está pode variar conforme processamento e consequente alterações físicas, como o tamanho de partícula. Partículas menores passam pelo rúmen de forma mais rápida e não são eficientemente utilizadas pela microbiota ruminal.

Pesquisas relatam que o FGM úmido tem maior valor nutricional (POORE et al., 2002), quando comparado ao FGMS devido à alta PB, maior degradabilidade da FDN de fermentação rápida (CONWAY et al., 2012), além do processo de secagem industrial, por exemplo, que diminui o valor energético em comparação a forma úmida, apesar das circunstâncias serem desconhecidas (MACKEN et al., 2004). Em adição, o método de processamento também tem efeito na redução do no tamanho de partícula, o que favorece a maior taxa de passagem (FIRKINS et al., 1985; GREEN et al., 1987; HAM et al. 1995). Por outro lado, aumentos na taxa de passagem e baixa degradabilidade no rúmen otimiza a eficiência de utilização do nitrogênio no intestino delgado (MACEDO et al., 2003).

Por se tratar de subproduto resultante da moagem e separação física das estruturas do grão, ao utilizar o FGM úmido ou seco como ingrediente na formulação de dietas, maior atenção deve ser tomada devido ao desequilíbrio do perfil de aminoácidos, sobretudo a lisina, metionina, arginina e triptofano (SANTOS, 1998, HISANO et al., 2016), uma vez que o conteúdo de PM da dieta pode ser afetado dependendo do nível de substituição de um determinado ingrediente tradicional e o tipo de fonte de nitrogênio presente na dieta, como ureia ou proteína verdadeira (STOCK et al., 2000).

Dados da literatura descrevem a superioridade em energia presente no milho processado mecanicamente, bem como sua utilização no metabolismo ruminal (NCRR, 1989), porém devido maior taxa de fermentação microbiana, maior produção de ácido

ruminal e digestibilidade, a fermentabilidade do amido deprime a digestibilidade da fração fibrosa da dieta em comparação ao FGMS que possibilita maior aproveitamento (STAPLES et al., 1984; FIRKINS et al., 1985; HANNAH et al., 1987; KAMPMAN e LOERCH, 1988; STOCK et al., 1993; MYER e HERSOM, 2008), acréscimo na digestibilidade da matéria seca (HANNAH et al., 1987), além de promover maior síntese de proteína microbiana (CALSAMIGLIA et al., 2008).

3.2 Farelo de glúten de milho na alimentação de bovinos

A utilização de resíduos agroindustriais como ingredientes alternativos em dietas para ruminantes vem ganhando espaço na produção pecuária (SANTOS, et al., 2004; PEREIRA, 2007; ARRIGONI et al., 2013) e os motivos pela demanda destes consiste principalmente na capacidade de redução de custos com alimentação (LIMA, 2005; SANTOS et al., 2020) e redução no custo da arroba produzida (SANTOS et al., 2004), sobretudo por serem potenciais insumos agropecuários substitutos de volumosos e concentrados oriundo de cereais, principalmente quando umas das fontes alimentícias a ser substituída é largamente utilizada na alimentação humana (PEDROSO et al., 2009).

Os ruminantes possuem o aparelho digestório altamente desenvolvido e são capazes de aproveitar alimentos de baixo valor nutricional. Resíduos de agroindústrias processadoras de grãos, fruticultura e biocombustíveis, com baixa relevância para alimentação humana (OLIVEIRA et al., 2013), podem ser transformados em produtos de alto valor biológico por meio da fermentação microbiana (CARRERA et al., 2012).

A inclusão de resíduos de agroindústria em rações permite a redução na densidade energética da dieta com concomitante aumento nos teores de fibra digestível (PEDROSO, et al., 2009), resultando no controle da extensão da fermentação ruminal, norteador da severidade da variação do pH em níveis toleráveis à microbiota, otimizando a síntese de proteína microbiana e favorecendo o consumo de matéria seca (BLASI, et al., 2001; FARRAN et al., 2006).

Para fazer uso de subprodutos na dieta é necessário levar em consideração fatores como, localização das agroindústrias em relação ao rebanho a ser alimentado, disponibilidade e custos frente aos ingredientes tradicionalmente utilizados, safra de produção da matéria prima, forma de processamento, tamanho de partícula, custos operacionais por quilo de matéria seca transportada (NCRR, 1989; CARVALHO, 1992). Além disso, fatores intrínsecos ao tipo de resíduo deve ser considerado. Segundo Salman et al. (2014), o desempenho animal frente a utilização de resíduos de agroindústrias é dependente do

valor nutritivo dos ingredientes, ou seja, o teor de nutrientes presente e da forma na qual o mesmo é aproveitado, visto à importância do balanceamento adequado na formulação das dietas.

Scott et al. (1997) relata que a adição do farelo de glúten de milho úmido associado ao milho laminado moído fino ou grosso à dieta de terminação de novilhos English x Continental com 303 ± 23 kg de peso vivo, possibilitou aumento significativo na ingestão de matéria seca (10,0 vs 10,6 kg/d) e ganho médio diário (1,92 vs 1,91 kg/d) em comparação à dieta contendo somente o milho laminado moído fino ou grosso (9,3 vs 9,4 kg/d; 1,80 vs 1,74 kg/dia, respectivamente). Além disso, o autor reporta que a adição do subproduto em associação com o milho, possibilitou aumento na eficiência alimentar dos animais, possivelmente relacionado à potencialidade na redução de disfunções ruminais.

O arroçoamento de bovinos ao longo prazo com dietas ricas em carboidratos de rápida fermentabilidade, são precursores de alterações na estabilidade ruminal comumente denominada de acidose ruminal subaguda (SARA) (ZHANG et al., 2016). Mudança no metabolismo e composição microbiana do rúmen, aumento da produção excessiva de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (HOOK et al., 2008) e queda drástica do pH ruminal por longo período abaixo de 5,8, são fatores que estão correlacionados a baixa digestibilidade da ração, decréscimos no consumo de matéria seca e prejuízos econômicos significativo (ZEBELI et al., 2008). Além de fatores intrínsecos ao animal, características físicas e químicas dos ingredientes da dieta e suas interações podem exercer efeito sobre o consumo de matéria seca (ALLEN, 2000).

Avaliando o efeito da inclusão do FGMS sobre os parâmetros ruminais de vacas holandesas em lactação, Biricik et al. (2007) observaram que a inclusão de 25% de FGMS em substituição à silagem de milho, proporcionou aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta, destacando a menor relação acetato:propionato. Além disso, os autores relataram queda no pH e aumento nos níveis de nitrogênio amoniacal, atribuindo esses efeitos ao alto teor de amido da dieta, menor tamanho de partícula, menor tempo de ruminação e mastigação em comparação à dieta controle. No entanto, vale ressaltar que mesmo com mudanças significativas nos parâmetros ruminais, a ingestão de matéria em kg/d em %/PV, bem como o GMD/kg não foram significativos.

Ham et al. (1995) comparando uma dieta contendo 70% de inclusão de FGMS em adição a 17,5% de milho laminado e 8% de feno de alfafa, possibilitou aumento na ingestão média de matéria seca de 13,37 kg/dia ($P < 0,05$) e ganho médio diário de 1,51 kg

($P > 0,05$) em relação à dieta controle (82,5% de milho laminado, 8% de feno de alfafa e 5% de melaço), com 11,57 kg/MS/dia e 1,45 kg/dia, respectivamente.

Hankins et al. (2005) avaliaram o desempenho de bovinos (Angus x Simental) terminados em confinamento e recebendo duas dietas (50% de inclusão de farelo de glúten de milho e 50% de farelo de milho vs farelo de milho e silagem de milho) e não relataram diferença estatística ($P = 0,41$) no peso final (555,8 vs 571,1 kg, respectivamente). No entanto, houve tendência no GMD ($P = 0,08$) em bovinos recebendo 50% de inclusão FGMS em comparação a dieta contendo somente farelo e silagem de milho e aumento de 10% na conversão alimentar ($P < 0,05$) durante 75 a 130 dias de terminação.

Em rações para gado de corte, o FGMS aumenta o consumo e o ganho de peso, além de otimizar a eficiência alimentar (Santos et al., 2004). Porém resultado oposto foram relatados por Pereira et al. (2007) em houve redução significativa ($P < 0,05$) no consumo de matéria seca de bovinos terminados em confinamento recebendo dieta com 36% de inclusão de FGMS em comparação à dieta contendo farelo de trigo ou milho moído (9,31; 9,82 e 9,69 kg.ms.d⁻¹, respectivamente). Os autores atribuem está diferença no consumo de matéria seca à aceitabilidade do produto e à ausência de proteína metabolizável no intestino delgado.

Avaliando o efeito da inclusão de 10 e 30% de FGMS no consumo e digestibilidade nutrientes de novilhas nelore em crescimento, Azevêdo et al. (2011) verificaram aumento significativo ($P < 0,05$) no consumo de matéria seca, fibra em detergente neutro e carboidratos não fibrosos em kg/dia para o FGMS em comparação aos demais subprodutos, porém menor digestibilidade foi observado para CNF ($P < 0,01$) e EE ($P < 0,0001$). Além disso, não foi observado efeito sobre compostos nitrogenados excretados na urina como derivados de purinas por exemplo, nem diferenças na eficiência microbiana. No entanto, o balanço de nitrogênio em g/kg de CMS foi maior em dietas contendo FGMS independentemente dos níveis de inclusão em que, segundo os autores, maior balanço de N pode estar relacionado a melhor sincronização da degradação entre proteína e energia.

Beauchemin e Koenig (2005), avaliaram o desempenho de bovinos (Hereford x Charolês) terminados em confinamento e recebendo dieta a base de silagem de cevada e grão de milho com inclusão ou não de 7 e 23% de FMGS. Animais que receberam o FGMS apresentaram desempenho, CMS e conversão alimentar menor comparado dieta controle (664 vs 690 kg de PV; 11,3 vs 11,5 kg.ms/d, 7,92 vs 7,09 kgMS/kgPV, respecti-

vamente), o que segundo os autores está relacionado ao baixo conteúdo de energia digestível presente na dieta. Resultados similares também foram reportados por Kampman e Loerch (1988).

Scott et al. (1997), avaliaram o efeito da inclusão de 0, 15, 30, 45 e 60% de FGMU na dieta de terminação de bovinos Heriford em confinamento em substituição ao milho laminado e observou que a inclusão de 15 e 30% de FGMS proporcionou acréscimo no GMD, IMS, EA em comparação a dieta controle ($P < 0,01$). Os autores estimam que a inclusão de milho laminado à ração pode ter contribuído com quadro de acidose subaguda devido aos parâmetros de desempenho estarem similares a de animais recebendo dietas de alto grão e o FGMS foi capaz de reduzir o risco acidótico devido a menor fração de amido proporcionado pelo método de processamento úmido dos grãos.

Macken et al. (2004), avaliaram o efeito da inclusão de FMGS, FGMU e milho reidratado e comparação a dieta controle sobre o consumo e desempenho de novilhos em terminação. O estudo relata tendência na IMS ($P = 0,07$) para animais recebendo FGMS em comparação aos demais tratamentos (10,34, 9,48, 9,51 e 9,54 kg.MS/d⁻¹, respectivamente). O GMD e EA foi maior para os animais recebendo dieta controle ($P < 0,01$) e resultando em maior PVF e PCQ ($P < 0,02$) em comparação aos demais tratamentos que com GMD e PVF semelhantes. Os autores atribuem as diferenças no desempenho devido nível de energia aparente da dieta que está correlacionado a fase de processamento e que a inclusão superior a 30% de FGM diminui a eficiência de ganho na terminação de bovinos.

Moscardini (2008), avaliou a substituição total ou parcial do milho moído fino pelo FGM úmido e seco em associação ou não com polpa cítrica em bovinos nelores não castrados em confinamento. Ao nível de 34% de inclusão do FGM não foi observado diferença significativa para o PVF, IMS, GPD e EA ($P > 0,05$). No entanto, a similaridade numérica nos parâmetros de desempenho e consumo entre os tratamentos, viabiliza a utilização do subproduto em dietas de terminação principalmente em termos econômicos e saúde ruminal, tendo em vista a ausência do farelo de milho moído, baixa quantidade de amido (menor que 7% na MS) e inclusão de fontes de fibras oriundo de volumoso (5 % na MS).

Firkins et al. (1985), conduziram experimento com novilhos em terminação alimentados com dietas contendo 10% de volumoso, 37% de milho seco e 50% de FGM seco ou úmido. Animais que receberam FGM úmido responderam com uma redução de 7,0% no consumo de MS, mas ganhos de peso semelhantes e, consequentemente, um

aumento de 9,0% na eficiência alimentar em comparação com novilhos alimentados com FGM seco. Essa redução na ingestão de MS pode ter sido devido ao aumento do tamanho médio de partícula do FGM úmido (2 mm) em comparação com o FGM seco (0,9 mm) e possível efeito na taxa de passagem e a digestibilidade dos subprodutos.

A variabilidade nutricional do subproduto, níveis de inclusão, associado ou não outras fontes de fibra (forrageira ou não), regime de alimentação, composição da dieta (DARABIGHANE, et al., 2020), propriedades físicas e químicas da dieta (BRADFORD e MULLINS, 2012), além de fatores relacionados a variedade do grão de milho, adubação, localidade, método de processamento (STOCK et al., 2000), tamanho de partícula (BATAJOO e SHAVER, 1998), secagem e forma de comercialização (farelo ou pellets; seco ou úmido) contribuem para diferentes respostas no CMS, desempenho e parâmetros ruminais.

Os trabalhos de substituição de milho por farelo de glúten de milho para bovinos de corte em terminação são escassos ou anosos, principalmente aqueles em que se utilizou o resíduo produzidos em condições brasileiras e em sua forma seca. A maioria dos dados reportam experimentos que incluíram FGM úmido em dietas de bovinos leiteiros, principalmente em associação a fontes de volumosos, porém muitos apresentarem resultados opostos ou inconclusivos.

4. SAÚDE RUMINAL DE BOVINOS CONFINADOS

Anatomicamente, o sistema digestivo dos bovinos compreende a boca, faringe, esôfago, pré-estômagos (rúmen, retículo, omaso), estômago verdadeiro ou glandular (abomaso), intestino delgado, intestino grosso, reto e ânus. Os órgãos acessórios são: dentes, língua, glândulas salivares, fígado e pâncreas (FURLAN et al., 2011)

A presença do estômago compartimentado em bovinos, onde cada região desempenha função particular no animal, os caracterizam como animais herbívoros e ruminantes, ou seja, alimentam-se de materiais fibrosos e os regurgitam posteriormente para remastigá-los e deglutí-los. Este processo tem como principal finalidade o melhor aproveitamento do material fibroso pela flora microbiana presente no pré-estômago, por conta do menor tamanho das partículas oriundas da remastigação.

Kozloski (2009), descreve o rúmen como sendo um ecossistema microbiano diverso e único. Caracterizado como meio anaeróbico, ou seja, baixa concentração de oxi-

gênio, com temperatura em torno de 39 a 42°C, pH no intervalo de 6,0 a 7,0 e com presença permanente de substrato e atividade fermentativa realizada por bactérias, que constitui a maior parte da biomassa microbiana ruminal (60 a 90%), fungos e protozoários.

O ambiente ruminal é considerado complexo e ao mesmo tempo dinâmico, onde a fermentação exerce efeito exergônico, convertendo matérias-primas fermentáveis em ácidos orgânicos, dióxido de carbono, metano, amônia e, ocasionalmente, ácido lático. A colonização do rúmen e desenvolvimento exponencial da flora microbiana, permite que ocorra digestão anaeróbica de partículas fibrosas e consequentemente a produção de gases que são essenciais para o desenvolvimento das papilas do rúmen e retículo, bem como das folhas omasais (FURLAN et al., 2011).

O interior do rúmen, retículo e omaso é exclusivamente coberto por uma estrutura epitelial estratificada escamoso e aglandular com milhares de projeções digiformes denominada de papilas (CASTRO e VIDAL, 2020). O desenvolvimento das papilas é de extrema importância nutricional, pois aumenta a área de superfície absorptiva dos produtos finais da fermentação (STEELE et al., 2011) e sua formação e proliferação está estreitamente relacionado ao hábito alimentar, disponibilidade, digestibilidade e natureza da dieta (SILVA et al., 2004).

Ácido acético, propiônico e butírico são os principais AGCC produzido pelos microrganismos ruminais durante a fermentação de carboidratos e servem como principal fonte de energia para os ruminantes (BERGMAN, 1990) e dependendo da natureza da dieta, a produção destes podem variar em proporcionalidade. A utilização de alimentos ricos em carboidratos estruturais, por exemplo, silagem milho, bagaço de cana e cana picada, o ácido originado via processo fermentativo é, em sua maioria, o ácido acético. Por outro lado, a opção por utilizar alimentos ricos em carboidratos não estruturais presente no milho, soja e demais grãos de cereais, originam em maior proporção ácido propiônico e butírico e em menor quantidade, ácido acético.

A intensificação da industrial animal tem contribuído com o aumento na adoção do sistema de terminação animal em confinamento, estando relacionado principalmente aos bons resultados nas exportações do boi gordo (OLIVEIRA e MILLEN, 2014). A principal característica observada neste sistema é a utilização de dietas com alta proporção de ingredientes concentrados energéticos, o que pode refletir em consequências metabólicas negativas à saúde animal, como: problemas respiratórios e incidência de acidose ruminal que já é relatado como o segundo principal problema de saúde nos confinamentos brasileiros (PINTO e MILLEN, 2018).

As bactérias ruminais respondem ao aumento da disponibilidade de substratos fermentáveis, como amido e açúcares, resultando na extensão fermentativa e crescimento microbiano. Dessa forma, a acidose ruminal está associada geralmente à ingestão de grande quantidade de alimentos ricos em carboidratos altamente fermentáveis e em quantidades suficientes para resultar na produção e acúmulo excessivo de ácidos orgânicos no rúmen, com redução simultânea do pH (NAGARAJA e TITGEMEYER, 2007; ABDELA, 2016). Britton e Stock (1989), descrevem se tratar de uma enfermidade com influência diurna no grau de acidez ruminal, podendo afetar o crescimento e proliferação dos microrganismos, bem como as estruturas anatômicas do rúmen.

Os AGCC e às vezes ácido láctico, produzidos no processo fermentativo, podem se acumular e reduzir o pH ruminal caso o tamponamento não puder acompanhar este acúmulo (PLAIZIER et al., 2009), porém a remoção dos ácidos pode ocorrer por passagem na fase líquida para o omaso e por absorção através da parede ruminal (DIJKSTRA et al., 2020). A fermentação é considerada estável contanto que a disponibilidade de substrato não seja excessiva, bem como a taxa de absorção acompanhe a produção, permitindo a manutenção da faixa de pH ruminal entre 5,8 a 6,5 em animais adaptados à grãos (NAGARAJA e TITGEMEYER, 2007).

Valores de pH ruminal de 5,6 ou abaixo são geralmente considerados referência para acidose, pH de 5,0 a 5,6 é classificado como acidose subaguda (SARA) ou subclínica e é caracterizado pelo acúmulo de AGCC devido ao aumento no IMS em curto período, consequente superprodução e redução na absorção destes (NAGARAJA e TITGEMEYER, 2007). Por outro lado, valores de pH menor que 5,0 ou aproximando-se de 4,5 é considerado como acidose aguda ou acidose láctica e está associado ao acúmulo de ácido láctico (BRITTON e STOCK, 1989; OWENS et al., 1998; OGATA et al., 2020). Embora ocorra produção de ácido láctico durante a acidose subaguda, não há acúmulo porque as bactérias fermentadoras deste substrato permanecem ativas na faixa de pH e rapidamente o metaboliza em AGCC (GOAD et al., 1998).

Acidose láctica é um distúrbio gastrointestinal frequente em animais confinados e tem sua origem na introdução abrupta de dietas ricas em amido ou carboidratos de fermentação rápida sem prévia adaptação. É causado devido à proliferação excessiva de bactérias comensais do gênero *Streptococcus bovis* e *Lactobacillus spp.* e produção excessiva do enantiômero d-lactato (RUSSELL e ROUSSEL, 2007). São bactérias ácido tolerantes e sobrevivem em valores de pH abaixo de 5,0, tornando-as em maior quantidade no rúmen e inibindo o crescimento das demais bactérias, além de causar danos à

mucosa do TGI, ulceração e declínio na conversão alimentar (ALLISON et al., 1975; GILL, et al., 2000).

A variação diurna no pH ruminal, oriundo da produção de AGCC, pode ser controlado pela ruminação devido ao efeito tamponante da saliva que há em sua composição íons bicarbonato com potencial neutralizador atribuído à reação da anidrase carbônica, convertendo o bicarbonato e H^+ em CO_2 e H_2O (VAN SOEST, 1994; ALLEN, 2000). No entanto, o mecanismo de salivação é dependente de fontes de fibras incluídas na dieta, principalmente naquelas de terminação, pois além de estimular a ruminação, previne distúrbios digestivos e mantém a função ruminal adequada (CAMPBELL et al., 1992; OWENS et al., 1998). Segundo Allen (2000), cerca de 37% dos prótons são neutralizados no rúmen por tampões salivares, enquanto que cerca de 7% dos prótons desaparecem por taxa de passagem pelo TGI.

Outro mecanismo no controle das condições normais do rúmen é a absorção dos AGCC via alterações no pH em locais próximo à superfície absorviva do epitélio ruminal por meio da troca de íons hidrogênio e sódio pelas células. Os AGCC são absorvidos na forma livre ou não dissociados (ligados a íons H^+) por difusão passiva e de acordo com o gradiente de concentração entre a luz ruminal e as células epiteliais, bem como o tamanho individual da cadeia molecular (butírico>propiónico>acético) dos ácidos (FURLAN et al., 2011).

A remoção dos AGCC do rúmen também pode acontecer por difusão facilitada via transportadores mediados por carreadores localizados na membrana celular epitelial (MÜLLER et al., 2002; GRAHAM et al., 2007), onde proteínas chaves em atividade sinérgica com o pH e o transporte de ácidos orgânicos regulam as variações ocorridas no meio intracelular por meio da exportação de HCO_3^- ou H^+ do citosol para o lúmen ruminal (CONNOR et al., 2010), ou seja, a remoção do AGCC atua como via de mão dupla devido a troca por íons bicarbonatos que reagem com prótons por meio da reação da anidrase carbônica resultando em H_2O e CO_2 e podendo ser liberados via eructação.

Em condições de acidose láctica, a busca pelo controle homeostático estimula a absorção do ácido láctico pela corrente sanguínea e metabolização no fígado, dissociando-se em lactato e íons H^+ e posteriormente tamponado pelo HCO_3^- sanguíneo, seguida eliminação de CO_2 e aumento da frequência respiratória possibilitado a manutenção do equilíbrio ácido base (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). No entanto, em casos agudos de acidose, as reservas de HCO_3^- estão reduzidas e há decréscimo no pH e pressão sanguínea,

pressão de perfusão e queda no fornecimento de oxigênio aos tecidos periféricos, necessitando que o pulmão entre em atividade de hiperventilação com consequente diminuição do PCO₂, TCO₂, além do aumento na pressão de PO₂ e saturação de SO₂ (BLOOD et al., 1979; HILL, et al., 1990; MEYER, et al., 1998; GONZÁLEZ & SILVA, 2006). Uma vez estabelecida está condução o animal entre em quadro de acidose metabólica (OWENS, 1998; RUSSEL e ROUSELL, 2007).

Outros problemas observados no estabelecimento do quadro acidótico são as respostas de fase aguda, aumento na incidência de rumenites, abscessos hepáticos e laminites. KLEEN et al. (2003) descrevem a rumenite como um processo inflamatório que pode resultar em paraqueratose devido ao aumento na acidez do meio ruminal, baixa motilidade e reduzida capacidade de absorção de AGCC (DILORENZO et al., 2008; PLAIZIER, et al., 2009). Segundo Steele et al. (2011), o epitélio escamoso estratificado do rúmen é recoberto por células queratinizadas e atuam como barreira protetora, porém, sobre efeito da acidose acentuada, a taxa de metabolismo e proliferação celular do epitélio escamoso aumentam, resultando na transcrição prematura de células queratinózoas.

A proliferação celular desordenada do epitélio escamoso estratificado configura maior permeabilidade, espessura reduzida e desorganização celular, potencializando a fixação de bactérias oportunistas e causando estresse adicional ao epitélio ruminal, reduzindo a função de barreira e aumentando a captação paracelular de LPS (TOMLINSON e BLICKSLAGER, 2004; KHAFIPOUR et al., 2011; STEELE et al. 2011)

Além de prejudicar a função de barreira entre o ambiente ruminal e a corrente sanguínea, a paraqueratose e a rumenite também permitem a translocação de bactérias como a *Fusobacterium necrophorum*, compostos imunogênicos e LPS do rúmen para o fluxo sanguíneo portal e seguidamente colonização celular bacteriana e formação de abscessos hepáticos no fígado, entre outros órgãos, incluindo coração, pulmões e rins (NAGARAJA, 2007; STEELE et al. 2009).

As LPS bacteriana são unidades que compõe a estrutura da membrana externa de bactérias gram-negativas (PLAIZIER et al., 2012) e são liberadas durante o processo de renovação, expansão e crescimento bacteriano ou após desintegração e lise celular (HURLEY, 1995; WELLS E RUSSELL, 1996). Em sua forma livre, as LPS são denominadas de endotoxinas, pois tem capacidade de induzir respostas imune no hospedeiro ao entrarem na circulação interna ou sistema linfático (ALEXANDER e RIETSCHER, 2001) e estimular a produção de mediadores pró-inflamatórios como as citocinas

(PLAIZIER et al., 2012). As citocinas são proteínas produzidas por células tanto do sistema inato quanto adaptativo que ativam ou modulam repostas inflamatórias de proteínas de fase aguda, principalmente pelos hepatócitos, além de provocar inflamação local do epitélio ruminal como a rumenite (BAUMANN e GAULDIE, 1994; KLEEN et al. 2003).

O estudo do perfil bioquímico sanguíneo pode ser utilizado para avaliação e diagnóstico da saúde metabólica hepática de bovinos (RUSSELL e ROUSSEL, 2007), uma vez possibilita a mensuração da concentração de metabólitos plasmáticos como, por exemplo, proteínas de fase aguda e enzimas hepáticas envolvidas no metabolismo dos produtos da fermentação ruminal e pós-fermentativo (BROWN et al., 2000; MORI et al., 2007).

O processo metabólico de compostos oriundo da atividade fermentativa pode em algum momento sobrecarregar a atividade hepática. O fígado contém várias enzimas que são liberadas no sangue e são responsáveis pela sinalização de quadros inflamatórios e lesão hepática (GUO et al., 2007). Portanto a função hepática pode ser avaliada por meio de uma variedade de enzimas, como: gama glutamiltransferase (GGT) e alanina transferase (ALT) (PUPPEL e KUCZYNSKA, 2016), além de função não específica para o fígado, como: fosfatase alcalina (FA) e aspartato aminotransferase (AST), mas devendo ser analisadas em conjunto para avaliação da saúde hepática (KERR, 2003).

O desenvolvimento das condições acidóticas também depende de fatores operacionais, como: frequência e horário do arrojamento, característica e processamento do alimento, nível de inclusão, quantidade ofertada, além da condição individual de cada animal como, comportamento social, adaptação à dieta, frequência e velocidade de consumo, preferência e seletividade alimentar (SCHWARTZKOPF-GENSWEIN et al., 2003; DIJKSTRA et al., 2020; NEAVE et al., 2018), ou seja, cada animal pode variar acentuadamente na capacidade de lidar com os fatores dietéticos que os predispõe à acidose (DOUGHERTY et al., 1975; BROWN et al., 2000; DIJKSTRA et al., 2020), principalmente em confinamentos comerciais, onde há grande quantidade de animais alojados e maior dificuldade no gerenciamento dos fatores supracitados.

Krehbiel et al. (1995), avaliaram o efeito da inclusão de FGM úmido (FGMU) em associação à dieta contendo milho finamente moído no potencial de redução da acidose subaguda em bovinos fistulados. Os autores descrevem aumentos na concentração total de ácidos orgânicos, principalmente de lactato ruminal em animais consumindo 100% de milho finamente moído (MFM), 50 e 100% de inclusão de FGMU. A diminuição total no

pH ruminal e o acúmulo total de AGCC no período de 24 horas foram maiores para bovinos desafiados com 100% de MFM vs 50% FGMU e 100% de FGMU, respectivamente. No entanto, devido à similaridade no acúmulo de ácidos orgânicos totais, esses dados sugerem que a inclusão de FGMU não elimina a incidência de acidose, mas o tempo que os bovinos estão expostos à condição acidótica pode ser menor para animais recebendo maiores quantidades de FGMU comparo a MFM.

Subprodutos da moagem de milho em dietas de confinamento reduz os problemas relacionados à acidose. O FGMS e FGMU têm pouco ou amido remanescente após o processo de moagem e tem sido incluído em dietas de alta energia para bovinos em fase de terminação, pois contém fibra e proteína de alta digestibilidade e ainda reduz problemas referentes à acidose por diluir a concentração de amido da dieta advento de outras fontes de ingredientes e, portanto, tem influência no metabolismo ruminal (KREHBIEL et al., 1995; Richards et al., 1998; BCNRM, 2016).

5. CONSUMO E COMPORTAMENTO ALIMENTAR

O consumo alimentar é um dos componentes que mais exerce efeito no desempenho animal (BERCHIELLI et al., 2006). Além de fatores intrínsecos ao animal, características físicas e químicas dos ingredientes da dieta e suas interações podem atuar sobre o consumo de matéria seca (ALLEN, 2000). Os fatores que influenciam o consumo de alimento são complexos e de caráter multifatorial, além de não serem completamente conhecidos (WALDO, 1986; MERTENS, 1994), não há consenso de como os ruminantes regulam essa importante atividade (FORBES, 2007).

Rações utilizadas na indústria do confinamento são caracterizadas pela alta proporção de grãos em relação aos alimentos volumosos. A inclusão de grãos contribui na maior oferta de energia por unidade de alimento ingerido visto a maior fermentabilidade e produção de AGCC, principalmente o ácido propiônico. No entanto, o excesso de energia pode influenciar diretamente na ingestão voluntária e no comportamento alimentar.

A consumo voluntário de alimento é influenciado por mecanismos regulatórios. Mecanismo de regulação física é caracterizado pela ingestão da dieta com alto teor de fibra, em particular fibra em detergente neutro, e baixa concentração energética, em que o consumo é limitado pela capacidade de distensão do trato digestivo em associação com reações hormonais (MERTENS, 1994). O mesmo autor sugere que uma forma quantitativa de mensurar o efeito do enchimento físico do rúmen é quando o teor de FDN da dieta

ultrapassa 1,2% PV, condição que estabelece correlação negativa entre o consumo voluntário e o conteúdo de FDN da dieta.

Van Soest (1994), relata que a limitação da ingestão de alimento também pode ocorrer em consequência da concentração de AGCC e substâncias hormonais, como os peptídeos opióides (MAGGIONI et al., 2009), condição caracterizada como mecanismo de regulação fisiológica. Este, por sua vez, definido pela ingestão de ração com baixa capacidade de enchimento e alta densidade energética com compostos prontamente digestíveis ou basicamente alimentos concentrados ricos em grãos, o consumo de matéria seca voluntário é limitado devido a ingestão energética ser igual ao requerimento animal (MERTENS, 1994). Nesse contexto, é fundamental o estudo do comportamento alimentar de bovinos confinados, pois além de existir relação com os efeitos e tipo de alimentação, é utilizado com o objetivo de entender a influência da dieta no desempenho animal (ALBRIGHT, 1993).

Campbell et al. (1992) e Owens et al. (1998), sugerem que a inclusão de fontes de volumoso em dietas de terminação de bovinos em confinamento contribuem com a manutenção das funções ruminais, previne distúrbios digestivos, estimulam a ruminação e mantem o pH ruminal em valores adequados. Porém, tanto a concentração quanto a fonte de volumoso influencia no comportamento ingestivo devido a interferência no tempo de retenção, digestão e passagem do alimento (WEISS et al., 2017).

Segundo Dado e Allen (1995) e Carvalho et al. (2006b), o entendimento dos efeitos da dieta no comportamento animal pode ser elucidado por meio da observação e aferição do tempo de alimentação, ruminação e ócio, além da eficiência de alimentação e ruminação que interferem diretamente no número e duração das refeições, ambos variam consideravelmente conforme o manejo e o tipo de dieta fornecida (ALBRIGHT, 1993).

Dietas com maior inclusão de volumoso contribui com extensão no tempo de ruminação, aumento no período de permanência do alimento no TGI, redução no tamanho de partícula devido ao maior tempo de mastigação por unidade de MS ingerida, exposição da fibra potencialmente digestível e conseqüentemente mais degradação ruminal (MISSIO et al., 2010), porém, devido a características físico química da dieta, maior conteúdo de fibra pode estar relacionado inversamente ao conteúdo de energia líquida e os nutrientes ingeridos suficientes para otimização do desempenho (MERTENS, 1996).

O ócio é definido como o período em que o animal não está ingerido alimento, água ou ruminando e está relacionado a quantidade FDN ou densidade energética da dieta. Por um lado, níveis elevados de FDN otimizam a função ruminal, porém refletem em

efeitos negativos no consumo voluntário devido à dificuldade em reduzir o tamanho de partículas originadas de materiais ricos em fibras, enchimento físico e repleção ruminal (DULPHY et al., 1980; DETMANN, 2014). Por outro lado, a diminuição da relação volumoso\concentrado reduz o período de ruminação e alimentação com incremento do tempo em ócio, queda na eficiência da ruminação e alimentação da matéria seca por unidade de tempo. Portanto, as atividades diárias dos animais são excludentes, ou seja, mudanças no tempo de ruminação ou ócio exerce efeito no tempo de alimentação (HODGSON, 1990), e o máximo desempenho e saúde ruminal ocorre quando a dieta tem efeito de repleção, mas atende aos requerimentos nutricionais do animal sem necessariamente criar distensão do trato gastrointestinal (NASCIMENTO, 2009).

A presença de partículas longas na ração é necessária para manutenção do funcionamento saudável do rúmen e do pH ruminal, ao contrário de dietas com partículas de tamanho médio a curto que, geralmente, são mais fermentáveis e pode levar a maior produção de ácidos orgânicos e queda nos valores de pH (GRANT et al., 1990; LAMMERS et al., 1996).

Mullins et al. (2010), avaliando o efeito da inclusão de FGMU (0, 11, 23 e 34% da MS) no comportamento alimentar de vacas em lactação, observaram queda nos valores pH ruminal de animais alimentados com 34% do subproduto. Os autores reportam relação inversa da inclusão de FGMU e o tamanho médio de partículas, principalmente na redução da proporção de partículas entre 8 e 19 mm que contribuem diretamente com a ruminação e atividade mastigatória, estimulando maior produção de tamponante salivar e controle do pH ruminal. Além disso, apesar da queda nos valores de pH, os autores não observaram depressão na gordura do leite ($P = 0,12$), sugerindo que, com o aumento da inclusão de FGMU e redução no tamanho de partículas, a dieta ainda fornecia fibra fisicamente efetiva para evitar a queda drástica nos valores de pH.

6. EXPRESSÃO RELATIVA DE mRNA DE GENES ASSOCIADOS A PROCESSOS DIGESTIVOS

O advento do sequenciamento genômico dos bovinos na última década permitiu o desenvolvimento de estudos fisiológicos mais complexos relacionados ao processo de digestão a nível de transcrição gênica, possibilitando o conhecimento de genes envolvidos em mecanismos fisiológicos como, desenvolvimento e diferenciação do trato gastrointestinal (TGI), absorção e transporte de nutrientes através da barreira epitelial, manutenção

do pH e regulação da proliferação celular em diversos tecidos e, além disso, a possibilidade em relacionar condições que alteram o processo digestivo por meio da manipulação alimentar (CONNOR et al., 2010). A técnica de RT-qPCR pode ser utilizada para o estudo da expressão de conjunto de genes candidatos em tecidos que compreendem processos digestivos e absorptivos, além da tecnologia de sequenciamento de RNA (RNA-Seq) que fornece em tempo real o perfil transcricional de genes de expressão global, permitindo mensurar a expressão de genes codificadores de proteínas e associar padrões de expressão com imunidade, metabolismo e outros processos celulares (BUSH et al., 2019).

O rúmen é um órgão crítico com processos fermentativos que medeiam o uso dos nutrientes pelos ruminantes (CONNOR et al., 20013). O epitélio ruminal é responsável por várias funções fisiologicamente importante, incluindo absorção, transporte, metabolismo de AGCC e proteção e, a depender do tipo de alimentação, o desenvolvimento ruminal envolve crescimento e diferenciação celular do epitélio ruminal e resulta em grande mudança no padrão de nutrientes destinados ao intestino, fígado e demais tecidos periféricos no animal (BALDWIN et al., 2004).

Dietas ricas em concentrados induzem aumentos significativos na densidade, comprimento das papilas ruminais, além da área de superfície absorptiva do epitélio em relação a dietas a base de volumoso que aumentam principalmente o tamanho do rúmen (STOBO et al., 1966; ZITNAN et al., 1998). Apesar do conhecimento dos efeitos diferenciais dos AGCC no desenvolvimento da mucosa ruminal, pouco se sabe sobre os mecanismos moleculares que regulam essas alterações morfológicas e fisiológicas.

O processo fermentativo realizado pelos microrganismos ruminais tem como os principais produtos o ácido acético, propiônico e butírico e servem como importantes precursores energéticos para os ruminantes (BERGMAN, 1990). Desse modo, Sehested et al. (1999), sugerem que a captação e absorção dos gases pelas células apicais localizados na membrana do tecido epitelial é parcialmente dependente da difusão facilitada e via transportadores mediados por carreadores (MÜLLER et al., 2002; GRAHAM et al., 2007). Portanto, a absorção de AGCC, regulação do pH intracelular e exportação de HCO_3^- ou H^+ do citosol para o lúmen ruminal são regulados por proteínas chaves localizadas nas células epiteliais e a compreensão destes processos a nível molecular pode contribuir com o desenvolvimento de programas de manejo nutricional para bovinos de corte (BENEDETI et al., 2018).

Os transportadores de monocarboxilato (MCT) existem em múltiplas isoformas (MCT1 a MCT7) e já foram previamente estudados por Graham et al. (2007) no epitélio

ruminal de bovinos. Em estudo desenvolvido por Koho et al. (2005), avaliando a expressão de isoformas proteicas de MCTs, identificou maior expressão das isoformas MCT1 e MCT4 no rúmen, onde as concentrações de AGCC são maiores. Maior expressão de MCT4 foi localizada principalmente nas camadas epiteliais associadas ao lado luminal da barreira epitelial, enquanto que o MCT1 localizado no lado basal do epitélio ruminal é um co-transportador que contribui para o transporte de prótons do epitélio ruminal para o sangue e está associado às camadas sanguíneas, sugerindo que o MCT4 é responsável pela extração de prótons de H^+ junto a cada molécula de AGCC e ácido láctico do lúmen ruminal para dentro das células epiteliais (KIRAT et al., 2007; ASCHENBACH et al., 2009; CONNOR, et al., 2010).

Em dietas ricas em amido e alta digestibilidade, a produção AGCC e lactato é maior que a taxa de absorção e, o acúmulo destes, podem reduzir os valores de pH ruminal se a taxa de remoção e tamponamento não acompanharem a taxa de produção (ASCHENBACH et al., 2011; DIJKSTRA et al., 2012). Absorção basolateral de AGCC não dissociado via difusão passiva lipofílica (KIRAT et al., 2006; GRAHAM, et al., 2007) e absorção dependente de bicarbonato ($AGCC^-/HCO_3^-$) e independente (transportadores de membranas – MCTs) são os três diferentes mecanismos de absorção de AGCC do rúmen (BILK et al., 2005; DIJKSTRA et al., 2012), no entanto, a principal via absorção apical não difusional parece ser por meio da troca de íons bicarbonato (DIJKSTRA et al., 2020) e neste mecanismo o epitélio ruminal fornece uma quantidade de HCO_3^- ao rúmen contribuindo consideravelmente com a capacidade tampão.

Bilk et al. (2005) e Schlau et al. (2012), propuseram que a proteína PAT1 com mRNA expressos em maiores quantidades no estrato granuloso da membrana plasmática apical, é umas das proteínas responsáveis pela neutralização dos ácidos ruminais, movimento o HCO_3^- do epitélio ruminal ao lúmen ruminal, ou seja, importando AGCC dissociados e exportando HCO_3^- das células epiteliais. A secreção de bicarbonato para o lúmen é um fator central na manutenção dos valores de pH intraruminal próximo à neutralidade e constitui um importante mecanismo de regulação (DIJKSTRA et al., 2012).

A absorção de AGCC indissociado no epitélio ruminal é absorvido por difusão lipofílica e a forma dissociada ($AGCC^-$) é absorvida via troca $AGCC^-/HCO_3^-$ (ASCHENBACH et al., 2009), porém, ambos mecanismos causam aumento na concentração de prótons no citoplasma epitelial e diminuição dos valores de pH intracelular (MULLER et al., 2000; ASCHENBACH et al. 2011). A manutenção homeostática do pH intracelular ruminal é parcialmente realizada por meio de proteínas transportadoras

de íons Na^+/H^+ (NHE) que regulam volume celular, balanço hídrico, absorção transcelular de NaCl , secreção de HCO_3^- e principalmente o fluxo de prótons H^+ e o transporte de AGCC para o sangue (GABEL e ASCHENBACH, 2006; MÜLLER et al., 2000), ou seja os NHE Na^+/H^+ facilitam a troca de um Na^+ extracelular por um H^+ intracelular.

Graham et al. (2007), caracterizaram a expressão de mRNA das isoformas NH1, NHE2, NHE3, NH4 e NHE8 por RT-qPCR em rúmen de bovinos. As isoformas NHE1 e NH3 estão localizadas na região apical das células epiteliais e ambas quando expressas em grande quantidade, aumentam a absorção de Na^+ para células epiteliais e exportam H^+ para o rúmen, levando à diminuição dos valores de pH local e acréscimo da forma indissociada de AGCC e maior absorção por difusão simples (GRAHAM et al., 2007; CONNOR et al., 2010; SCHLAU et al., 2012).

Schweigel et al. (2005), demonstraram em estudos com células isoladas do rúmen ovino que, as isoformas NHE3 e NHE1 estão envolvidas na regulação do pH intracelular. Além disso, Rabbani et al. (2011), mostraram a localização da isoforma NHE3 na membrana apical e sua atividade pode ser considerada como uma primeira linha de defesa para evitar a redução do pH intracelular durante a captação de AGCC protonados pelo epitélio ruminal.

Os ruminantes reciclam ureia endógena e reutilizam para síntese de proteína microbiana e cerca de 40-80% da uréia produzida pelo fígado pode reentrar no trato gastrointestinal, sendo a maior parte da ureia reciclada direcionada para o rúmen (LAPIERRE e LOBLEY, 2001) por combinações do fluxo salivar e transferência pelo epitélio ruminal (KENNEDY e MILLIGAN, 1980). A transferência de ureia através do epitélio ruminal pode ocorrer via transportadores facilitadores de ureia (UT) localizados na membrana luminal e basolateral do epitélio e os níveis de expressão destes elucidam um possível mecanismo para explicar as mudanças na permeabilidade da ureia no epitélio ruminal (MARINI e VAN AMBURGH, 2003). A proteína UT-B isoformas B1 e B2 estão localizadas dentro da membrana celular do estrato basal, espinhoso e granuloso do epitélio ruminal e executam o papel de transporte de ureia do sangue para o lúmen ruminal (CONNOR et al., 2009)

Uma vez secretada para o lúmen ruminal, mesmo em quantidades excedentes à síntese microbiana, a ureia é rapidamente convertida pela urease bacteriana em NH_3 e CO_2 e devido ao elevado pK_a (9,21) é instantaneamente ligada a íons de H^+ e convertida em NH_4^+ ruminal (ASCHENBACH et al., 2010; DIJKSTRA et al., 2012).

Dijkstra et al. (2012) e Zhongyan et al. (2014), destacam que o mecanismo de transferência de ureia ruminal e seguida absorção de amônia pode ter importância significativa no tamponamento nas regiões próximas a parede ruminal e consequente regulação dos valores de pH ruminal. Os autores descrevem que dietas com altas concentrações de proteína degradável no rúmen (PDR) podem contribuir com a diminuição nos valores de pH causado pela rápida fermentação de carboidratos prontamente fermentáveis, uma vez que produtos de degradação de proteínas (amônia) podem neutralizar a acidez até certo ponto por meio do descarte de NH_4^+ .

Há relação positiva na quantidade de AGCC⁻ e a quantidade de NH_4^+ absorvido pelo rúmen (STUMPF et al., 2009), no entanto, permeabilidade da parede ruminal à uréia diminui rapidamente com maior concentração intraruminal de amônia ou quando o pH ruminal diminui para <6,2 devido ao excesso de AGCC, o que é comum em dietas de alta inclusão de energia, reduzindo o crescimento microbiano e a taxa de fermentação (ABDOUN et al., 2010). A interação do AGCC com a secreção de uréia e a absorção de amônia parecem ser importantes adaptações evolutivas dos ruminantes para regular ativamente o processo de fermentação (ASCHENBACH et al., 2010).

Sunny et al. (2007), sugeriram que a mediação na transferência da ureia sanguínea para o rúmen está altamente relacionada à concentração de uréia plasmática. Além disso, Simmons et al. (2009), relataram maior expressão de UT-B ruminal em novilhos com dieta rica em concentrado, sugerindo que a dieta pode induzir alterações na expressão relativa de transportadores de ureia.

A barreira epitelial é um sincício complexo de células com junções intercelulares que regulam a permeabilidade, absorção de nutrientes, metabolismo, regulação do pH (McCANN et al., 2016), evitam a translocação de LPS e demais compostos imunogênicos (MINUTI et al., 2015) e a diminuição da função de barreira tem sido classicamente associada a um pH diminuído e associado à longos períodos de fermentação rápida (ASCHENBACH et al., 2010).

Alterações da estrutura da parede celular podem contribuir para o aumento do transporte e permeabilidade, constituindo um mecanismo eficiente no aumento da absorção de AGCC do rúmen (O'SHEA et al., 2016), em resposta a alterações dos ácidos orgânicos imposta ao ambiente ruminal durante a acidose (STEELE et al., 2011a; PENNER et al., 2001). Segundo os mesmos autores, durante o início da acidose ruminal, a integridade estrutural do epitélio ruminal é comprometida, o que está ligado à expressão de vários genes estruturais e do metabolismo de AGCC.

Em particular, genes associados aos desmossomos (STEELE et al. 2011a) e claudinas (LIU et al. 2013), que são responsáveis pela adesão via junções estreitas, crescimento e diferenciação celular e obtiveram expressão relativamente alta em ruminantes recebendo dietas de alto grão (STEELE et al. 2011b). As junções estreitas ajudam a regular a permeabilidade das barreiras epiteliais e prevenir a translocação de LPS e outras toxinas (ULLUWISHEWA et al., 2011). Em adição, Liu et al. (2013), relataram que uma dieta rica em grãos em cabras causou ruptura maciça das junções estreitas com profundas alterações na estrutura epitelial ruminal e mudanças na expressão da claudinas.

Os desmossomos são um complexo multiprotéico responsável pela adesão intercelular (HOLTHÖFER et al., 2007. Segundo Wang et al. (2017), a desmogleína (DGS1), um componente dos desmossomos, é responsável pela expressão da desmogleína 1 que é uma estrutura celular envolvida nas junções endoteliais estreitas e aderência de uma célula a outra por meio de ligações iônicas, além de estar envolvida na proliferação de células epiteliais e são altamente expressas no epitélio escamoso estratificado e estrato granuloso. Steele et al. (2011) relatam comprometimento das junções estreitas quando bovinos receberam dietas à base de grãos e desenvolveram SARA e expressão regulada positivamente no epitélio ruminal de bovinos em recuperação de ataque acidótico.

A claudina isoforma 1 (CLND1) também está associada as junções endoteliais estreitas e são expressas principalmente nas células do estrato granuloso (COLLINS et al., 2006). Enquanto alguns membros da família claudina desempenham papéis essenciais na formação de barreiras impermeáveis, outros medeiam a permeabilidade a íons e pequenas moléculas. A ativação da CLDN1 representa uma resposta preventiva com a redução da permeabilidade do epitélio ruminal durante produção excessiva de AGCC (PEDERZOLLI et al., 2018). Os autores também relatam que, vacas holstein recebendo dietas de alto grãos e em condições de SARA expressaram positivamente as isoformas 1 e 4.

Petri et al. (2020), avaliando o efeito da adição de leveduras autolisada como aditivo em rações de alto grão para vacas holandesas e submetidos a eventos de SARA, observaram maior captação epitelial de AGCC e aumento na expressão relativa de CLDN1. Maior expressão de genes de função de barreira também foram previamente associados a aumentos de ingestão de MS (PETRI et al., 2018), e em associação com pH mais baixo (McCANN et al., 2016) na indução de SARA.

Dietas com alto teor de concentrado são rapidamente fermentáveis no rúmen e aumentam o risco de distúrbios metabólicos como, problemas de cascos, abscessos hepáticos e acidose ruminal (HUO et al., 2013), devido ao acúmulo excessivo de ácidos orgânicos no rúmen, que causam queda nos valores de pH ruminal ($<5,8$) e lesões na barreira gastrointestinal (ZEBELI et al., 2008; CHANG et al., 2015). Além disso, a acidez ruminal contribui com a lise celular bacteriana gram-negativas e seguida liberação de endotoxinas como os lipopolissacarídeos de membrana (LPS), resultando na expressão de mediadores inflamatórios e afetando o desempenho animal (KHAFIPOUR et al., 2009).

As LPS são indutoras da resposta de fase aguda, caracterizado como um mecanismo imunológico inespecífico destinado a restaurar a homeostase (EMMANUEL et al. 2008). Segundo os mesmos autores, após o reconhecimento das LPS, ocorre alterações no perfil biossintético do fígado, resultando na produção de proteínas de fase aguda (APP) e os principais estimuladores da produção de APP são as citocinas associadas à inflamação: interleucina (IL) -1 e IL-6, IFN- γ e fator de necrose tumoral (TNF- α) que são liberadas durante processo inflamatórios (GABAY e KUSHNER, 1999). Zebeli et al. (2012) e Cray et al. (2009), descrevem que as respostas de fase aguda em bovinos são caracterizadas por febre, alterações no metabolismo de vários órgãos, infecções, estresse, inflamações, redução no consumo de ração e lipólise.

A translocação de lipopolissacarídeos pode ocorrer devido ao aumento da permeabilidade do epitélio ruminal, permitindo que bactérias e demais toxinas entrem na circulação sistêmica, causando alterações metabólicas e respostas inflamatórias (EMMANUEL et al., 2007; NOCEK, et al., 1997), como liberação de citocinas pro-inflamatórias pelos macrófagos hepáticos que estimulam a atividade de proteínas de fase aguda, com funções de prevenir lesões adicionais, isolar e destruir organismos infecciosos e ativar os processos de reparo necessário à função normal do organismo (KHAFIPOUR et al., 2009; BAUMANN et al., 1994).

Durante infecções celulares, padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), são reconhecidos por proteínas receptores transmembranar do tipo Toll-Like (TLRs – dímeros de 1 a 10) (MOUNT et al., 2009), expressos por macrófagos, células dendríticas, neutrófilos (leucócitos polimorfonucleares) em resposta a agentes infecciosos como, bactérias gram-positivas e negativas, DNA e RNA viral, protozoários e fungos (KAWAI e AKIRA, 2010; BOWIE, 2007).

Kent-Dennis et al. (2019), investigaram a localização do receptor TLRs nos diferentes estratos do epitélio ruminal e identificaram maior expressão em células mais próximas a membrana basal e reduzindo sentido lúmen ruminal, conferindo baixa sensibilidade à LPS. Porém, em condições de SARA, em que pode ocorrer o comprometimento das células responsáveis pelas funções de barreira, a exposição dos estratos celulares a LPS pode conferir aumento na expressão da TLR4.

Segundo Ferraz et al. (2011), o dímero TLR4 reconhece principalmente o LPS da parede celular de bactérias gram-negativas, e o reconhecimento desses PAMPs desencadeiam vias de sinalizações que levam a secreções de quimiocinas pró-inflamatórias, recrutando diferencialmente populações de leucócitos para o local da infecção (DANFORTH et al., 1995; ZUGHAIER et al., 2005).

Pan et al. (2017), relataram que vacas leiteiras recebendo dieta rica em concentrado tiveram maior expressão relativa de TLR4 em comparação àquelas alimentadas com dietas ricas em forragem. Em contraste, Arroyo et al. (2017), relataram que genes associados à função imunológica e inflamação, incluindo TLR4, permaneceram inalterados no epitélio ruminal de vacas recebendo dieta de fermentação rápida.

Zhang et al. (2016), avaliando a expressão de genes relacionados à inflamação no epitélio ruminal de bovinos leiteiros, identificaram efeito significativo na expressão do mRNA da citocina TNF- α ($P < 0,05$). Portanto, animais que apresentaram baixos valores de pH, a expressão relativa de mRNA de TNF- α foi mais elevada, sugerindo que o pH associado ao nível mais elevado de LPS no rúmen de animais recebendo alto grão, são os principais responsáveis pela inflamação ruminal.

Dionissopoulos et al. (2012), não observaram nenhuma diferença na expressão relativa de genes associados a citocinas pró-inflamatórias, incluindo TNF- α , após SARA induzida por grãos. A aparente variabilidade nas observações das expressões de receptores e citocinas pró-inflamatórias em diferentes modelos de condições acidóticas pode sugerir que a exposição pós-exposição segue um padrão temporal complexo que só se tornaria aparente com frequente amostragem dos tecidos (KENT-DENNIS et al., 2019).

Na literatura, são escassos ou inexistentes estudos que evidenciam alterações na saúde ruminal, bem como alterações no perfil transcricional de genes presentes nas papilas ruminais de zebuínos terminados com dietas contendo inclusão FGMS.

Hipotetiza-se que:

- *O FGMS pode ser utilizado com fonte de energia e proteína em dietas de terminação sem prejuízos ao desempenho animal;*
- *Aumentos na inclusão de FGMS contribui com saúde ruminal sem alterar a morfologia e o perfil metabólico sanguíneo e hepático de bovinos em terminação;*
- *Bovinos alimentados com dieta contendo FGMS apresentam menores mudanças na expressão relativa de mRNA de genes relacionados a proteção da barreira epitelial, metabolismo de AGCC e receptores de respostas inflamatórias.*

OBJETIVO

Objetiva-se com o estudo, avaliar os efeitos da inclusão de níveis de FGMS no comportamento ingestivo, saúde ruminal parâmetros sanguíneo e expressão relativa de genes de bovinos nelore terminados em confinamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Disponível em: < <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/> >. Acesso em: 20 de outubro de 2020.

ABDELA, N. Sub-acute ruminal acidosis (SARA) and its consequence in dairy cattle: a review of past and recent research at global prospective. **Achievements in the Life Sciences**. v. 10, p. 187-196, 2016.

ABDOUN, K., STUMPF, F.; RABBANI, I.; MARTENS, H. Modulation of urea transport across sheep rumen epithelium in vitro by SCFA and CO₂. **American Journal of Physiology**. Gastrointestinal and Liver Physiology. n. 298, v.2, p. 190–202, 2010.

ALBRIGHT, J.L. Feeding behavior of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 76, n. 2, p. 485-498, 1993.

ALCADE, C.R.; GUIN, A.; TONANI, F.L.; ANDRADE, P. Avaliação da degradabilidade ruminal da glutenose 60 em bovinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 31, 1994. **Anais...** Maringá – PR. Sociedade Brasileira de Zootecnia, p. 521, 1994.

ALEXANDER, C.; RIETSCH, E.T. Invited review: bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. **Journal of Endotoxin Research**. v. 7, n. 3, p. 167-202, 2001.

ALLEN, M.S. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science** v. 8, p. 1598-1624, 2000.

ANUALPEC – Anuário de Pecuária Brasileira. Instituto FNP e Agra FNP pesquisas Ltda. 24 ed. São Paulo. p. 32, 2020.

ALLISON, M.J.; ROBINSON, I.M.; DOUGHERTY, R.W.; BUCKLIN, J.A. Grain overload in cattle and sheep: changes in microbial populations in the caecum and rumen. **American Journal of Veterinary Research**. v. 36, n. 2, p. 181-185, 2012.

ARRIGONI, M.D.B; MARTINS, C.L.; SARTI, L.M.N.; BARDUCCI, R.S.; FRANZÓI, M.C.S.; JÚNIOR, L.C.V.; PERDIGÃO, A. RIBEIRO, F.A.; FACTORI, M.A. Níveis elevados de concentrado na dieta de bovinos em confinamento. **Veterinária e Zootecnia**. v. 20, n. 4, p. 539-551, 2013.

ARROYO, J.M.; HOSSEINI, A.; ZHOU, Z.; ALHARTHI, A.; TREVISI, E.; OSORIO, J.S.; LOOR, J.J. Reticulo-rumen mass, epithelium gene expression, and systemic biomarkers of metabolism and inflammation in Holstein dairy cows fed a high-energy diet. **Journal of Dairy Science**. v. 100, n. 11, p. 9352-9360, 2017.

ASCHENBACH, J. R.; BILK, S.; TADESSE, G.; STUMPF, F.; GÄBEL, G. Bicarbonate-dependent and bicarbonate-independent mechanisms contribute to nondiffusive apical uptake of acetate in the ruminal epithelium of sheep. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**. n. 296, v. 5, p. 1098-1107, 2009.

ASCHENBACH, J.R.; PENNER, G.B.; STUMPF, F.; GÄBEL, G. Ruminant nutrition symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. **Journal of Animal Science**. n. 89, v. 4, p. 1092-1107, 2011.

AZEVEDO, J.A.G.; VALADARES FILHO, S.C.; PINA, D.S.; VALADARES, R.F.D.; DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; DINIZ, L.L.; FERNANDES, H.J. Consumo, digestibilidade total, produção de proteína microbiana e balanço de nitrogênio em dietas para ruminantes de subprodutos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 63, n. 1, p. 114-123, 2011.

BALDWIN, R.L.; McLEOD, K.R.; KLOTZ, J.L.; HEITMANN, R.N. Rumen development intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. **Journal of Dairy Science**. v. 87 (E. Suppl.), p. 55-65, 2004.

BATAJOO, K.K.; SHAVER, R.D. In situ dry matter, crude protein, and starch degradabilities of selected grains and by-products feeds. **Animal Feed Science Technology**. v. 71, p. 165-176, 1998.

BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. **Immunology Today**. v. 5, n. 2, p. 74-80, 1994.

BCNRM. Beef Cattle Nutrient Requirements Model. Eighth Revised Edition, p. 494, 2016.

BERCHIELLI, T.T.; VEGA-GARCIA, A.; OLIVEIRA, S. G. Principais técnicas de avaliação aplicadas em estudos de nutrição. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V. OLIVEIRA, A.G. (Eds.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal-SP, Funep, p. 397-421, 2006.

BENEDETI, P. D.B.; SILVA, B.C.; PACHECO, M.V.C.; SERÃO, N.V.L.; FILHO, I.C.; LOPES, M.M.; MARCONDES, M.I.; MANTOVANI, H.C.; VALADARES FILHO, S.C.; DETMANN, E.; DUARTE, M.S. Effects of grain processing methods on the expression of genes involved in volatile fatty acid transport and pH regulation, and keratinization in rumen epithelium of beef cattle. **PloSone**, v.13, n.6, p. 1-14, 2018.

BERGMAN, E.N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**. v. 70, n. 2, p. 567–590, 1990.

BEAUCHEMIN, K.A.; KOENIG, K.M. Feedlot cattle diets based on barley or corn supplemented with dry corn gluten feed evaluated using the NRC and CNCPS beef models. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 85, n. 31, p. 365-375, 2005.

BILK, S.; HUHN, K.; HONSCHA, K.U.; PFANNKUCHE, H.; GABEL, G. Bicarbonate exporting transporters in the ovine ruminal epithelium. **Journal of Comparative Physiology B**. v. 172, p. 365-374, 2005.

BIRICIK, H.; GENCOGLU, H.; BOZAN, B.; GULMEZ, B..H; TURKMEN, I.I.; The effect of dry corn gluten feed on chewing activities and rumen parameters in lactating dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**. v. 6, p. 61-70, 2007.

BLANCHARD, P. H. Technology of corn wet milling and associated processes. Industrial Chemistry Library. v. 4, p. 536, 1992.

BLASI, D.A.; DROUILLARD, J.; BROUK, M.J. MONTGOMERY, S.P. Corn gluten feed, composition and feeding value for beef and dairy cattle. Kansas State University Extension, p. 14, 2001.

BLOOD, D.C.; HENDERSON, J.A.; RADOSTITS, O.M. Doenças do trato alimentar. In: Clínica Veterinária. 5ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, p. 95-149, 1979.

BRADFORD, B., E MULLINS, C. Invited review: Strategies for promoting productivity and health of dairy cattle by feeding nonforage fiber sources. **Journal of Milk Science**. v. 95, p. 4735-4746, 2012.

BOWIE A. G. Translational mini-review series on Toll-like receptors: recent advances in understanding the role of Toll-like receptors in anti-viral immunity. **Clinical and Experimental Immunology**. n. 147, v. 226, p. 217-226, 2007.

- BRITTON, R.; STOCK, R. Acidosis: a continual problem in cattle fed high grain diets. Cornell Nutrition. Conference Feed Manufacturers. Cornell University. p. 8-15, 1989.
- BROWN, M. S., KREHBIEL, C. R., GALYEAN, M. L., REMENGA, M. D.; PETERS, J.P.; ROBINSON, J.; MOSELEY, M.S. Evaluation of models of acute and subacute acidosis on dry matter intake, ruminal fermentation, blood chemistry, and endocrine profiles of beef steers. **Journal of Animal Science**. v. 78, n. 12, p. 3155-3168, 2000.
- BUSH, S. J.; MCCULLOCH, M. E. B.; MURIUKI, C.; SALAVATI, M.; DAVIS, G. M.; FARQUHAR, I. L.; LISOWSKI, Z. M.; ARCHIBALD, A. L.; HUME, D. A.; CLARK, E. L. Comprehensive transcriptional profiling of the gastrointestinal tract of ruminants from birth to adulthood reveals strong developmental stage specific gene expression. **G3 (Bethesda)**. v. 9, n. 2, p. 359-373, 2019.
- CAETANO, G.A.O.; JÚNIOR, M.B.C; O estado da arte da nutrição de ruminantes. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 11, n. 4, p. 399-408, 2017.
- CAMPBELL, C.P.; MARSHALL, I.B.; WILTON, J.W. Effects of source of dietary neutral detergent fiber on chewing behavior in beef cattle fed pelleted concentrates with or without supplemental roughage. **Journal of Animal Science**. v. 70, p. 894-903, 1992.
- CARRERA, R.A.B.; VELOSO, C.M.; KNUPP, L.S.; JÚNIOR, A.H.S.; DETMANN, E. LANA, R.P. Protein co-products and by-products of the biodiesel industry for ruminants feeding. **Brasilian Journal of Animal Science**, v. 41, n. 5, p. 1202-1211, 2012.
- CALSAMIGLIA, S.; CARDOZO, P.W.; FERRET, A.; BACH, A. Changes in rumen microbial fermentation are due to a combined effect of type of diet and pH. **Journal of Animal Science**. v. 86, n. 3, p. 702 – 711, 2008.
- CARVALHO, F.C. Disponibilidade de resíduos agroindustriais e do beneficiamento de produtos agrícolas. *Informações Econômicas*, v. 22, n. 12, 1992.
- CASTRO, A.L.A.; VIDAL, J.M. Microbiologia Ruminal. In: CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. Bioquímica. Ilustrada. 3ª ed. Ed. Artmed. Porto Alegre, RS, p. 544, 2006.
- CHANG, G.; KAI, Z.; TIANLE, X.; DI, J.; HANS-MARTIN, S.; XIANGZHEN, S.; ZHUANG, S. Feeding a high-grain diet reduces the percentage of LPS clearance and

increases immune gene expression in goat liver. **BMC Veterinary Research**. v. 11, n. 67, p. 1-11, 2015.

COLLINS, N. T.; CUMMINS, P. M.; COLGAN, O. C.; FERGUSON, G.; BIRNEY, Y. A.; MURPHY, R.P.; MEAD, G.; CAHILL, P. A. Cyclic strain-mediated regulation of vascular endothelial occludin and ZO-1: Influence on intercellular tight junction assembly and function. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 26, n. 1, p. 62–68, 2006.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Boletim de monitoramento agrícola. Brasília, v. 9, n.10, p.1–21, 2020. Disponível em: < <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/monitoramento-agricola> >. Acesso em: 10 de novembro de 2020.

CONNOR, E.E.; LI, R.W.; BALDWIN, R.L.; LI, C. Gene expression in the digestive tissues of ruminants and their relationships with feeding and digestive processes. **Animal**. v. 4, n. 7, p. 993-1007, 2010.

CONWAY, L.K.; HALLFORD, D.M.; NAVARRO, S. Effects of wet corn gluten feed and yellow grease on digestive function of cattle fed steam-flaked corn-based finishing diets. **Animal Feed Science and Technology**. v. 178, p. 20-26, 2012.

CRA. Corn Refiners Association. Corn Wet Milled Feed Products. Pennsylvania Avenue, N.W. ed. 4, p. 1-31, 2006. Disponível em: <<https://corn.org/wp-content/uploads/2018/10/Feed2006.pdf>>. Acesso em: 10 de novembro de 2020.

CRAY C.; ZAIAS J.; ALTMAN, N.H. Acute phase response in animals: a review. **Comparative Medicine**. v. 59, n. 6, p. 517–526, 2009.

DANFORTH J. M.; STRIETER, R.M.; KUNKEL, S.L.; ARENBERG, D.A.; VANOTTEREN, G.M.; STANDIFORD, T.J. Macrophage inflammatory protein-1 alpha expression in vivo and in vitro: The role of lipoteichoic acid. **Clinical Immunology and Immunopathology**. v. 74, n. 1, p. 77–83, 1995.

DARABIGHANE, B.; AGHJEHGESHLAGH, M.F.; MAHDAVI, A.; NAVIDSHAD, B.; BERNARD, J.K. Effects of inclusion of corn gluten feed in dairy rations on dry matter intake, milk yield, milk components, and ruminal fermentation parameters: a meta-analysis. **Tropical Animal Health Production**. v. 52, p. 2359–2369, 2020.

DETMANN, E.; GIONBELLI, M.P.; HUHTANEN, P. A meta-analytical evaluation of the regulation of voluntary intake in cattle fed tropical forage-based diets. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 10, p. 4632 - 4641, 2014.

DIOLORENZO, N.; DAHLEN, C. R.; DIEZ-GONZALEZ, F.; LAMB, G. C.; LARSON, J. E.; DICOSTANZO, A. Effects of feeding polyclonal antibodies preparations on rumen fermentation patterns, performance, and carcass characteristics of feedlot steers. **Journal of Animal Science**. v. 86, n. 11, p. 3023-3032, 2008.

DIONISSOPOULOS, L.; STEELE, M.A.; ALZAHAL, O.; PLAIZIER, J.C.; MCBRI DE, B.W. A characterization of inflammatory and structural markers within the rumen epithelium during grain-induced ruminal acidosis in lactating dairy cattle. **American Journal of Animal Veterinary Science**. v. 7, n. 3, p. 141-148, 2012.

DIJKSTRA, J.; ELLIS, J.L.; KEBREAB, E.; STRATHE, A.B.; LÓPEZ, S.; BANNINK, A. Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. **Animal Feed Science and Technology**. v. 172, n. 1-2, p. 22-33, 2012.

DIJKSTRA, J.; VAN GASTELEN, S.; DIEHO, K.; NICHOLS, K.; BANNINK, A. Review: Rumen sensors: data and interpretation for key rumen metabolic processes. **Animal**. v. 14, p. 176-186, 2020.

DOUGHERTY, R.W.; RILEY, J.L.; BAETZ, A.L.; COOK, H.M.; COBURN, K.S. Physiologic studies of experimentally grain-engorged cattle and sheep. **American Journal of Veterinary Research**. v. 36, n. 6, p. 833-835, 1975.

DULPHY, J.P.; REMOND, B.; THERIEZ, M. Ingestive behavior and related activities in ruminants. In: RUCKEBUSH, Y.; THIVEND, P. (Eds). Digestive physiology and metabolism in ruminants. Lancaster: MTP, p. 103-122, 1980.

EMMANUEL, D.G.V.; MADSEN, K.L.; CHURCHILL, T.A.; DUNN, S.M.; AMETAJ, B.N. Acidosis and Lipopolysaccharide from *Escherichia coli* B:055 cause hyperpermeability of rumen and colon tissues. **Journal of Dairy Science**. v. 90, n. 12, p. 5552–5557, 2007.

FAHEY, G.C.; BERGER, L.L. Carbohydrate nutrition of ruminants. In: CHURCH, D.C. The ruminant animal digestive physiology and nutrition. **Inglewood Cliffs**. p. 269-297, 1988.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistical pocketbook world food and agriculture. 236p. 2015. Disponível em:<<http://www.fao.org/faostat/en/#data/TA>>. Acesso em: 28 de julho de 2018. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 11, n. 4, p. 399-408, 2017.

FELLNER, V.; BELYEA, L. Maximizing gluten feed in corn silage diets for dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 74, p. 996-1005, 1991.

FIRKINS, J.L.; BERGER, L.L.; FAHEY JÚNIOR, G.C. Evaluation of wet and dry distillers grains and wet and dry corn gluten feeds for ruminants. **Journal of Animal Science**. v. 60, n. 3, p. 847-860, 1985.

FORBES, J.M.; A personal view of how ruminant animals control their intake and choice of food: minimal total discomfort. **Nutrition Research Reviews**. v. 20, p. 132-146, 2007.

FURLAN, R.L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D.E. Anatomia e fisiologia do trato gastrointestinal. In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, A. G. (2º Ed.) **Nutrição de ruminantes**. Jaboticabal, Funep, 2011. p. 01-26.

GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. **The New England journal of medicine**. v. 340, n. 6, p. 448-454., 1999.

GÄBEL, G.; ASCHENBACH, J.A. Ruminant SCFA absorption: channeling acids without harm. In Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands. p.173–195, 2006.

GILL, H.S.; SHU, Q.; LENG, R.A. Immunization with *Streptococcus bovis* protects against lactic acidosis in sheep. **Vaccine**. v. 18, n. 23, p. 2541-2548, 2000.

GOAD, D.W.; GOAD, C.L.; NAGARAJA, T.G. Ruminant microbial and fermentative changes associated with experimentally induced subacute acidosis in steers. **Journal of Animal Science**. v. 76, n. 1, p. 234-241, 1998.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006.

GRAHAM, C.; GATHERAR, I.; HASLAM, I.; GLANVILLE, M.; SIMMONS, N.L. Expression and localization of monocarboxylate transporters and sodium/proton exchangers

in bovine rumen epithelium. **American Journal of Physiology**. Regulatory Integrative and Comparative Physiology. v. 292, n. 2, p. 997-1007, 2007.

GREEN, D.A.; STOCK, R.A.; GOEDEKEN, F.K.; KLOPFENSTEIN, T. J. Energy value of corn wet milling by-product feeds for finishing ruminants. **Journal of Animal Science**. v. 65, n. 6, p. 1655-1666, 1987.

HAM, G.A.; STOCK, R.A.; KLOPFENSTEIN, T.J.; HUFFMAN, R.P. Determining the net energy value of wet and dry corn gluten feed in beef growing and finishing diets. **Journal of Animal Science**. v. 73, n. 2, p. 353-359, 1995.

HAO, X.Y.; GAO, H.; WANG, X.Y.; ZHANG, G.N.; ZHANG, Y.G. Replacing alfalfa hay with dry corn gluten feed and Chinese wild rye grass: Effects on rumen fermentation, rumen microbial protein synthesis, and lactation performance in lactating dairy cows, **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 2672–2681, 2017.

HANKINS, S.L.; ARSENEAU, J.D.; LEMENAGER, R.P.; SUTTON, A.L. Performance, carcass traits, and nutrient excretion of beef feedlot cattle fed a corn gluten feed diet. **The Professional Animal Scientist**. v. 21, n. 1, p. 1-6, 2005.

HANNAH, S.M., PATERSON, J.A.; WILLIAMS, J.E.; BOWMAN, D.K. Effects of cracked corn over corn gluten feed on digestibility and utilization of alfalfa haylage by calves. **University of Missouri Animal Science**. p. 6, 1987.

HILL, L.L. Body composition, normal electrolyte concentrations and the maintenance of normal volume, tonicity, and acid-base metabolism. **Pediatric Clinics of North America**. v. 37, n. 2, p. 241-256, 1990.

HISANO, H.; PILECCO, J.L.; LARA, J.A.F. Corn gluten meal in pacu *Piaractus mesopotamicus* diets: effects on growth, haematology, and meat quality. **Aquaculture International**. v. 24, p. 1049-1060, 2016.

HODGSON, J. Grazing management: science into practice. In: Book Reviews. Agriculture. **Agricultural Systems**. v. 37, n. 2, p. 219-220, 1990.

HOOK, S.E.; STEELE, M.A.; NORTHWOOD, K.S.; DIJKSTRA, J.; FRANCE, J.; WRIGHT, A.D.; MCBRIDE, B.W. Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation and recovery on the density and diversity of bacteria in the rumen of dairy cows. **FEMS Microbiology Ecology**. v.78, n. 2, p. 275–284, 2011.

HUO W, ZHU W, MAO S. Effects of Feeding Increasing Proportions of Corn Grain on Concentration of Lipopolysaccharide in the Rumen Fluid and the Subsequent Alterations in Immune Responses in Goats. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. v. 26, n. 10 p. 1437–1445, 2013.

HURLEY, J.C. Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates **Clinical Microbiology Reviews**. v. 8, n. 2, p. 268-292, 1995.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa pecuária municipal**. Rio de Janeiro, v. 41, p. 1-108, 2019.

KENT-DENNIS, C.; PASTERNAK, A.; PLAIZIER, J.C.; PENNE, G.B. Potential for a localized immune response by the ruminal epithelium in nonpregnant heifers following a short-term subacute ruminal acidosis challenge. **Journal of Dairy Science**. v. 102, n. 8, p. 7556-7569, 2019.

KHAFIPOUR, E.; KRAUSE, D.O.; PLAIZIER, J.C. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. **Journal of Dairy Science**. v. 92, n. 3, p.1060–1070, 2009.

KAMPMAN, K.A.; LOERCH, S.C. Effects of dry com gluten feed on cattle feedlot performance and fiber digestibility. **Journal of Animal Science**. v. 67, n. 2, p. 501-512, 1988.

KAWAI, T.; AKIRA, S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. **Nature immunology**. v.11, n. 5, p. 373-384, 2010.

KELZER, J.M.; KONONOFF, P.J.; GEHMAN, A.M.; TEDESCHI, L.O; KARGES, K.; GIBSON, M.L. Effects of feeding three types of corn milling coproducts on milk production and ruminal fermentation of lactating Holstein cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 92, n. 10, p. 5120–5132, 2009.

KENT, N.L; EVERS, A.D. Technology of cereais: Introduction for students of food science and agriculture. 5th ed. London: Pergamon Press. p. 924, 2018.

KENNEDY, P.M.; MILLIGAN, L.P. The degradation and utilization of endogenous urea in the gastrointestinal tract of ruminants: a review. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 60, n. 2 60, 205–221, 1980.

- KERR, G.M. Exames laboratoriais em Medicina Veterinária. 2.ed. São Paulo: Roca. p. 436, 2003.
- KIRAT, D.; MASUOKA, J.; HAYASHI, H.; IWANO, H.; YOKOTA, H.; TANIYAMA, H.; KATO, S. Monocarboxylate transporter 1 (MCT1) plays a direct role in short-chain fatty acids absorption in caprine rumen. **The Journal of Physiology**. v. 576, n. 2, p. 635–647, 2006.
- KIRAT, D.; MATSUDA, Y.; YAMASHIKI, N.; HAYASHI, H.; KATO, S. Expression, cellular localization and functional role of monocarboxylate transporter 4 (MCT4) in gastrointestinal tract of ruminants. **Gene**. v. 391, n. 1-2, p. 140–149, 2007.
- KLEEN, J.L.; HOOIJER, G.A.; REHAGE, J.; NOORDHUIZEN, J.P. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. **Journal of Veterinary Medicine. A Physiology, Pathology, Clinical Medicine**. v.50, n. 8, p. 406-414, 2003.
- KLOPFENSTEIN, T. J.; ERICKSON, G. E.; BREMER, V. R. Feeding corn milling by products to feedlot cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 2, p.223-245, 2007.
- KOZLOSKI, V.G. Metabolismo microbiano ruminal. In: Bioquímica dos ruminantes. 1 ed. Santa Maria. p. 212, 2009.
- KREHBIEL, C.R.; STOCK, R.A.; HEROLD, D.W.; SHAIN, D.H.; HAM, G.A.; CARULLA, J.E. Feeding wet corn gluten feed to reduce subacute acidosis in cattle. **Journal of Animal Science**. v. 73, n. 10, p. 2931-2939, 1995.
- LAPIERRE, H.; LOBLEY, G.E. Nitrogen recycling in the ruminant: a review. **Journal of Dairy Science**. v. 84, (E. Suppl.), p. 223–236, 2001.
- LIMA, M.L.M. Uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Goiânia. **Anais...Sociedade Brasileira de Zootecnia**, p.322-329, 2005.
- LIU, J.; XU, T.; LIU, Y.; ZHU, W.; MAO, S. A high-grain diet causes massive disruption of ruminal epithelial tight junctions in goats **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 305, n. 3, p. 232-241, 2013.
- LU, Z.; STUMPF, F.; DEINER, C.; ROSENDAHL, J.; BRAUN, H.; ABDOUN, K.; ASCHENBACH, J. R.; MARTENS, H. Modulation of sheep ruminal urea transport by

ammonia and pH. **American Journal of Physiology**. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. v. 307, n. 5, p. 558-570, 2014.

MACEDO, L.G.P.; DAMASCENO, J.C.; MARTINS, E.N.; MACEDO, V.P.; SANTOS, G.T.; FALCÃO, A.J.S.; NETO, S.C. Substituição do farelo de soja pela farinha de glúten de milho na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 32, n. 4, p. 992-1001, 2003.

MACKEN, C.N.; ERICKSON, G.E.; KLOPFENSTEIN, T.J.; MILTON, C.T.; STOCK, R.A. Effects of dry, wet, and rehydrated corn bran and corn processing method in beef finishing diets. **Journal of Animal Science**. v. 82, n. 12, p. 3543–3548, 2004.

MAGGIONI, D.; MARQUES, J.A.; ROTTA, P.P.; ZAWADZKI, F.; ITO, R.H; PRADO, I.N. Ingestão de Alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 30, n. 4, p. 963-974, 2009.

MARINI, J.C.; VAN AMBURGH, M.E. Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**. v. 81, n. 2, p. 545-552, 2003.

MEYER D.J.; HARVEY J.W. Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis. 2. ed. Philadelphia, Sauders, 2004.

MENEGHETTI, C.C.; DOMINGUES, J.L.; Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. **Revista Eletrônica Nutritime**. v. 5, n. 2, p. 512-536, 2008.

MERTENS, D.R. Regulation of forage intake. In: FAHEY, J.R.; GEORGE, C. Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy. Crop Science Society American, Soil Science Society American., p. 450-493, 1994.

MERTENS, D.R. Using fiber and carbohydrate analyses to formulate dairy rations. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 7, p. 1463-1481, 1996.

MCCANN, J.C.; LUAN, S.; CARDOSO, F.C.; DERA KHSHANI, H.; KHAFIPOUR, E.; LOOR, J.J. Induction of subacute ruminal acidosis affects the ruminal microbiome and epithelium. **Frontiers Microbiome**. v. 7, p. 701, 2016.

MINUTI, A.; PALLADINO, A.; KHAN, M.J.; ALQARNI, S.; AGRAWAL, A.; PCCIOLI-CAPELLI, F.; HIDALGO, F.; CARDOSO, F.C. TREVISI, E.; LOOR, J.J. Abundance of ruminal bacteria, epithelial gene expression, and systemic biomarkers of

metabolism and inflammation are altered during the peripartal period in dairy cows J. **Dairy of Animal Science**. v. 98, n. 12, p. 8940-8951, 2015.

MISSIO, R. L.; BRONDANI, I.L.; ALVES FILHO, D.C.; SILVEIRA, M.F.; FREITAS, L.S.; RESTLE, J. Comportamento ingestivo de tourinhos terminados em confinamento, alimentados com diferentes níveis de concentrado na dieta. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 39, n. 7, p. 1571-1578, 2010.

MORI, A.; URABE, S.; ASADA, M.; TANAKA, Y.; TAZAKI, H.; YAMAMOTO, I.; KIMURA, N.; OZAWA, T.; MORRIS, S.T.; HICKSON, R.; KENYON, P.R. Comparison of plasma metabolite concentrations and enzyme activities in beef cattle raised by different feeding systems in Korea, Japan and New Zealand. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 54, n. 7, p. 342-345, 2007.

MOSCARDINI, M.C. Substituição do milho moído fino por polpa cítrica e/ou farelo de glúten de milho em rações para bovinos terminados em confinamento. 2008, 81f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2008.

MOUNT, J. A.; KARROW, N. A.; CASWELL, J. L.; BOERMANS, H. J.; LESLIE, K. E. Assessment of bovine mammary chemokine gene expression in response to lipopolysaccharide, lipotechoic acid + peptidoglycan, and CpG oligodeoxynucleotide 2135. **Canadian Journal of Veterinary Research**. Revue canadienne de recherche veterinaire. v. 73, n. 1, p. 49-57, 2009.

MYER, B.; HERSOM, M. Corn gluten feed for beef cattle. **Institute of Food and Agricultural Sciences**. Series AN201, 2008. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/an201>>. Acesso em: 11 de novembro de 2020.

MÜLLER, F.; ASCHENBACH, J.R.; GABEL, G. Role of exchange and HCO₃⁻ transport in pH_i recovery from intracellular acid load in cultured epithelial cells of sheep rumen. **Journal of Comparative Physiology B**. v. 170, n.4, p. 337-347, 2000.

MÜLLER, F.; HUBER, K.; PFANNKUCHE, H.; ASCHENBACH, J.R.; BREVES, G.; GABEL, G. Transport of ketone bodies and lactate in the sheep ruminal epithelium by monocarboxylate transporter 1. **American Journal of Physiology**. Gastrointestinal and Liver Physiology. v. 283, n. 5, p. 1139-1146, 2002.

NAGARAJA, T.G.; TITGEMEYER, E.C. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook. **Journal of Dairy Science**. v. 90, p. 17-38, 2007.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient Requirements of beef cattle. 7th ed. Washington: Nat. Acad. Press, 2001.

NCRR. North Central Regional Research. Corn gluten feed in beef cattle diets. Ohio, USA. v. 39, n. 129, 1989. Disponível em: <https://kb.osu.edu/bitstream/handle/1811/71868/1/OARDC_special_circular_n129.pdf>. Acesso em: 10 de novembro de 2020.

NOCEK, J.E. Bovine acidosis: Implications on laminitis. **Journal of Dairy Science**. v. 80, n. 5, p. 1005–1028, 1997.

NOVAK, T.E.; RODRIGUEZ-ZAS, S.L.; SOUTHEY, B.R.; STARKEY, J.D.; STOCKLER, R.M.; ALFARO, G.F.; MOISÁ, S.J. Jersey steer ruminal papillae histology and nutrigenomics with diet changes. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v. 103, n. 6, p. 1694-1707, 2019.

OGATA, T.; MAKINO, H. ISHIZUKA, N.; IWAMOTO, E.; MASAKI, T. KIZAKI, K. KIM, Y. H. SATO, S. Long-term high-grain diet alters ruminal pH, fermentation, and epithelial transcriptomes, leading to restored mitochondrial oxidative phosphorylation in Japanese black cattle. **Scientific Reports**. v. 10, n. 6381, p. 11, 2020.

OLIVEIRA, R.L.; LEÃO, A.G.; ABREU, L.L.; TEIXEIRA, S.; SILVA, T.M. Alimentos alternativos na dieta de ruminantes. **Revista Científica de Produção Animal**. v.15, n. 2, p.141-160, 2013.

OLIVEIRA, C.A.; MILLEN, D.D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**. v. 197, p. 64-75, 2014.

O'SHEA, E.; WATERS, S.M.; KEOGH, K.; KELLY, A.K.; KENNY, D.A. Examination of molecular control of ruminal epithelial function in response to dietary restriction and subsequent compensatory growth in cattle. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v. 7, n. 1, p. 1-12, 2016.

OWENS, F.N.; SECRIST, D.S.; HILL, W.J.; GILL, D.R. Acidosis in cattle: A review. **Journal of Animal Science**. v. 76, n. 1, p. 275-286, 1998.

PAN, L.F.; YU, L.; WANG, L.M.; HE, J.T.; SUN, J.L.; WANG, X.B.; BAI, Z.H.; WANG, H.; YAN, T.L.; PEI, H.H. The Toll-like receptor 4 antagonist TAK-242 protects against chronic pancreatitis in rats. **Molecular Medicine Reports**. v.16, n. 4, p. 3863-3868, 2017.

PEDROSO, A.M.; SANTOS, F.A.P; BITTAR, C.M.M. Substituição do milho em grão por farelo de glúten de milho na ração de vacas em lactação em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38, n. 8, p. 1614-1619, 2009.

PEDERZOLLI, R. A.; VAN KESSEL, A. G.; CAMPBELL, J.; HENDRICK, S.; WOOD, K. M.; PENNER, G. B. Effect of ruminal acidosis and short-term low feed intake on indicators of gastrointestinal barrier function in Holstein steers. **Journal of Animal Science**. v. 96, n. 1, p. 108-125, 2018.

PENNER, G.B.; STEELE, M.A.; ASCHENBACH, J.R.; MCBRIDE, B.W. Molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets. **Journal of Animal Science**. v.89, n. 4, p. 1108-1119, 2011.

PEREIRA, E.D.; SANTOS, F.A.P.; BITTAR, C.M.M.; RAMALHO, R.R.; COSTA, D.F.A.; MARTINEZ, J.C. Substituição do milho por farelo de trigo ou farelo de glúten de milho na ração de bovinos de corte em terminação. **Acta Scientiarum**. v. 29, n. 1, p. 49-55, 2007.

PETRI, R. M.; KLEEFISCH, M. T.; METZLER-ZEBELI, B. U.; ZEBELI, Q.; KLEVE NHUSEN, F. Changes in the rumen epithelial microbiota of cattle and host gene expression in response to alterations in dietary carbohydrate composition. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 84, n. 12, p. 0384-18, 2018.

PINTO, A.N.J.; MILLEN, D.D. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 brazilian survey. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 99, p. 392-407, 2018.

PLAIZIER, J.C.; KEUNEN, J.E.; WALTON, J.P.; DUFFIELD, T.F.; B.W.; MCBRIDE, B.W. Effect of subacute ruminal acidosis on in situ digestion of mixed hay in lactating dairy cows. **Canadian Journal of Animal Science**. v. 81, n. 3, p. 421-423, 2001.

PLAIZIER, J.C.; KRAUSE, D.O.; GOZHO, G.N.; MCBRIDE, B.W. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. **Veterinary Journal**. v. 176, n. 1, p. 21-31, 1997.

POORE, M.H.; JOHNS, J.T.; BURRIS, W.R. Soybean hulls, wheat middlings, and corn gluten feed as supplements for cattle on forage-based diets. **Veterinary Clinics Food Animal**. v. 18, n. 2, p. 213-231, 2002.

PUPPEL. K.; KUCZYNSKA, B. Review: Metabolic profiles of cow's blood. **Journal of the Science of food and Agriculture**. v. 96, n. 13, p. 4321-4328, 2016.

RICHARDS, C.J.; STOCKS, R.A.; KLOPFENSTEINK, T.J.; SHAIN, D.H. Effect of corn gluten feed, supplemental protein, and tallow on steer finishing performance. **Journal of Animal Science**, v.76, n. 2, p.421-428, 1998.

RUSSEL, K.E.; ROUSELL, A.J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.

SANTOS, F.A.P.; SANTOS, J.E.P.; THEURER, C.B.; HUBER, J.T. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review. **Journal of Dairy Science**. v. 81, n. 12, p. 3182-3213, 1998.

SALMAN, A.K.D; SANTOS, M.G.R.; SANTOS, L.O.; TOWNSEND, C.R. Avaliação nutricional de subprodutos do processamento agroindustrial de cupuaçu, pupunha e castanha-do-brasil em Porto Velho, Rondônia. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. n. 72, p. 15, 2014.

SANTOS, F.A.P.; PEREIRA, E.M.; PEDROSO, A.M. Suplementação energética de bovinos de corte em confinamento. In: Simpósio sobre Bovinocultura de Corte. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários "Luiz de Queiroz". p. 261-297, 2004.

SANTOS, G.C.L.; NETO, S.G.; BEZERRA, L.R.; MEDEIROS, A.N. Use of cakes to feed dairy cows: a review. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**. v. 3, n. 1, p. 89-113, 2020.

SAPNA, D.P.; CHAUDHARY, R. K.; MANDHANIA, S.; SRIVASTAVA, P.; KUMAR, A.; KUMAR, R.; KUMAR, R.S. Corn to Ethanol: Retrospect's and Prospects, Maize:

Leading to a new Paradigm. Directorate of Maize Research. **Technical Bulletin**. p. 28, 2012.

SCHLAU, N, GUAN, LL AND OBA, M. The relationship between rumen acidosis resistance and expression of genes involved in regulation of intracellular pH and butyrate metabolism of ruminal epithelial cells in steers. **Journal of Dairy Science**. v.95, n.10, p. 5866–5875, 2012.

SCHWARTZKOPF-GENSWEIN, K.S., BEAUCHEMIN, K.A., GIBB, D.J.; CREWS, D.H.; HICKMAN, D.D.; STREETER, T.A.; MCALLISTER, T.A. Effect of bunk management on feeding behavior, ruminal acidosis and performance of feedlot cattle: a review. **Journal of Animal Science**. v. 81, n. 14, (supplement 2), p. 149-158, 2003.

SCOTT, T.; KLOPFENSTEIN, T.J.; KLEMESRUD, M.; STOCK, R. Evaluation of corn bran and corn steep liquor for finishing steers. **Nebraska Beef Reports**. v. 457, p. 72-74, 1997.

SEHESTED, J.; DIERNÆS, L.; MØLLER, P.D.; SKADHAUGE, E. Ruminal transport and metabolism of short-chain fatty acids (SCFA) in vitro: effect of SCFA chain length and pH. **Comparative Biochemistry and Physiology a Molecular & Integrative Physiology**. v. 123, n. 4, p. 359-68, 1999.

SILVA, T. M.; OLIVEIRA, M.D.S.; ARTONI, S.M.B.; CRUZ, C. Desenvolvimento alo-métrico do trato gastrointestinal de bezerros da raça holandesa alimentados com diferentes dietas líquidas durante o aleitamento. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v. 26, n. 4, p. 493-499, 2004.

SILVA, F.F.; SÁ, J.F.; SCHIO, A.R.; ÍTAVO, R.C.V.; SILVA, R.R.; MATEUS, R.G. Suplementação a pasto: disponibilidade e qualidade x níveis de suplementação x desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 38 (suple. especial), p.371-389, 2009.

SIMMONS N.L.; CHAUDHRY A.S.; GRAHAM, C.; SCRIVEN, E.S.; THISTLETHWAITE, A.; SMITH, C.P.; STEWART, G.S.; Dietary regulation of ruminal bovine UT-B urea transporter expression and localization. **Journal of Animal Science**. v. 87, n. 10, p. 3288-3299, 2009.

STAPLES, C.R., C.L DAVIS, G.C. MCCOY, AND J.H. CLARK. Feeding value of wet corn gluten feed for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 67, n. 6, p. 1214-1220, 1984.

STEELE, M.A.; ALZAHAL, O.; HOOK, S.E.; CROOM, J.; MCBRIDE, B.W. Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow: a case report. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v. 51, n. 39, p. 1-6, 2009.

STEELE, M.A.; VANDERVOORT, G.; ALZAHAL, O.; HOOK, S.E.; MATTHEWS, J. C.; MCBRIDE, B.W. Rumen epithelial adaptation to high-grain diets involves the coordinated regulation of genes involved in cholesterol homeostasis. **Physiological Genomics**, v. 43, n. 6, p. 308-316, 2011.

STEELE, M.A.; CROOM, J.; KAHLER, M.; ALZAHAL, O.; HOOK, S.E.; PLAIZIER, K.; MCBRIDE, B.W. Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. **American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. v. 300, n. 6, p. 1515-1523, 2011.

STOBO, I.J.F.; ROY, J.H.B.; GASTON, H.J. Rumen development in the calf. 1. The effects of diets containing different proportions of concentrates to hay on rumen development. **The British Journal of Nutrition**. v.20, n.2, p. 171–191, 1966.

STOCK, R.A.; BRITTON, R.A. Acidosis in feedlot cattle Scientific update on Rumensin/Tylan for the profession feedlot consultant. Elanco Animal Health, Indianapolis. p. 1-6, 1993.

STOCK, RICK; LEWIS, J. M.; KLOPFENSTEIN, TERRY J.; AND MILTON, C. T. Review of New Information on the Use of Wet and Dry Milling Feed By-Products in Feedlot Diets. **Proceedings...Faculty papers and publications in animal science**. v. 555, p. 13, 2000.

STUMPFF, F.; MARTENS, H.; BILK, S.; ASCHENBACH, J.R.; GÄBEL, G. Cultured ruminal epithelial cells express a large-conductance channel permeable to chloride, bicarbonate, and acetate. **Pflugers Archiv: European Journal of Physiology**. v. 457, n. 5, p. 1003–1022, 2009.

SUNNY, N. E.; OWENS, S.L.; BALDWIN, R.L.; EL-KADI, S.W.; KOHN, R.A.; BEQUETTE, B.J. Salvage of blood urea nitrogen in sheep is highly dependent on plasma urea concentration and the efficiency of capture within the digestive tract. **Journal of Animal Science**. v. 85, n. 4, p. 1006–1013, 2007.

TOMLINSON, J.E.; BLICKSLAGER, A.T. Interactions between lipopolysaccharide and the intestinal epithelium. **American Veterinary Medical Association**. v. 224, n. 9, p. 1446-1452, 2004.

ULLUWISHEWA, D.; ANDERSON, R.C.; MCNABB, W.C.; MOUGHAN, P.J.; WELLS, J.M.; ROY, N.C. Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. **Journal of Animal Science**. v. 141, n. 5, p. 769-776, 2011.

VAN SOEST, P.J. Function of the ruminant forestomach. In *Nutritional ecology of the ruminant*, 2ed. Cornell University Press. Ithaca, NY, USA. p. 230–252, 1994.

VASCONCELOS, M.C.B.M.; BENNETT, R.; CASTRO, C.; CARDOSO, P.; SAAVEDRA, M.J.; ROSA, E. A. Study of composition, stabilization and processing of wheat germ and maize industrial by-products. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 292-298, 2013.

WALDO, D.R. Effect of forage quality on intake and forage-concentrate interactions. **Journal of Dairy Science**. v. 69, n. 4, p. 617-631, 1986.

WANG, B.; WANG, D.; WU, X.; CAI, J.; LIU, M.; HUANG, X.; WU, J.; LIU, J.; GUAN, L. Effects of dietary physical or nutritional factors on morphology of rumen papillae and transcriptome changes in lactating dairy cows based on three different forage-based diets. **BMC Genomics**. v. 18, n. 1, p. 15, 2017.

WEIGEL, J.C.; LOY, D.; KILMER, L. Feed Co-products of the Corn Wet Milling Process. Washington D.C Renewable Fuels Association. p. 11-12, 1997.

WELLS, J.E.; RUSSELL, J.B. The effect of growth and starvation on the lysis of the ruminal cellulolytic bacterium *Fibrobacter succinogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 62, n. 4, p. 1342-1346, 1996.

WEISS, C.P. GENTRY, W.W.; MEREDITH, C.M.; MEYER, B.E.; COLE, N.A.; TEDESCHI, L.O.; MCCOLLUM, F.T.; JENNINGS, J.S. Effects of roughage inclusion and particle size on digestion and ruminal fermentation characteristic of beef steers. **Journal of Animal Science**. v. 95, n. 4, p. 1707-1714, 2017.

ZHANG, R.; ZHU, W.; MAO, S. High-concentrate feeding upregulates the expression of inflammation-related genes in the ruminal epithelium of dairy cattle. **Journal of Animal Science and Biotechnology**. v. 7, n. 42, p. 1-13, 2016.

ZEBELI, Q.; DIJKSTRA, J.; TAJAJ, M.; STEINGASS, H.; AMETAJ, B.N.; DROCHNER, W. Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. **Journal of Dairy Science**. v. 9, n. 5, p. 2046–2066, 2008.

ŽITNAN, R.; VOIGT, J.; SCHÖNHUSEN, U.; WEGNER, J.; KOKARDOVÁ, M.; HAGEMMEISTER, H.; LEVKUT, M.; KUHLA, S.; SOMMER, A. Influence of dietary concentrate to forage ratio on the development of rumen mucosa in calves. **Archives of Animal Nutrition**. v.51, n.4, p. 279–291, 1998.

ZUGHAIER, S.M.; ZIMMER, S.M.; DATTA, A.; CARLSON, R.W.; STEPHENS, D.S.; Differential induction of the toll-like receptor 4-MyD88-dependent and independent signaling pathways by endotoxins. **Infection and Immunity**. v. 73, n. 5, p. 2940–2950, 2005.

CAPÍTULO 2

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Animal*, excetuando-se a formatação, idioma e posicionamento de tabelas e figuras.

FARELO DE GLÚTEN DE MILHO SECO NA DIETA DE BOVINOS NELORE EM
TERMINAÇÃO: COMPORTAMENTO INGESTIVO, SAÚDE RUMINAL, PERFIL
METABÓLICO SANGUÍNEO E EXPRESSÃO RELATIVA DE mRNA DE GENES
TRANSPORTADORES DE ÁCIDOS GRAXOS RUMINAL¹

¹Agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP Bolsa de Doutorado Regular - Processo (2018/18002-3). As opiniões, hipóteses e conclusões ou recomendações expressas neste material são de responsabilidade do autor e não necessariamente refletem a visão da FAPESP.

Resumo

As dietas de confinamentos são em sua totalidade composta por alta proporção de grãos, e o milho grão moído é o principal ingrediente energético da dieta. Dietas com alta energia podem comprometer os parâmetros ruminais, causando instabilidade nos processos fermentativos e consequentemente prejudicar o desempenho animal. O objetivo desta pesquisa é avaliar o efeito da inclusão do farelo de glúten de milho seco comportamento ingestivo, saúde ruminal e expressão gênica das papilas de bovinos nelores terminados em confinamento. Foram utilizados 120 bovinos Nelore (*Bos indicus*) não-castrados, com peso vivo média inicial de $361,66 \pm 14,85$ kg, submetidos aleatoriamente em delineamento em blocos casualizado com quatro tratamentos com diferentes níveis de inclusão de farelo de glúten de milho seco (0, 18, 36, 54% da MS da dieta). Foi avaliado o efeito da dieta no comportamento alimentar, morfológicos histológicos das papilas, parâmetros metabólico e hepático no sangue, presença de abscessos hepáticos, além da expressão relativa de mRNA nas papilas ruminais de genes relacionados a transporte e controle do pH intracelular. Os dados foram analisados utilizando o procedimento PROC MIXED do software estatístico SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA) e a opção CONTRAST do SAS para avaliar os efeitos linear, quadrático e cúbico. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey sendo considerados efeitos significativos valores de $P < 0,05$ e tendência $P \leq 0,10$. O FGMS é subproduto do milho, rico em fibras e proteínas de alta solubilidade e o nível mais alto de inclusão na dieta contribuiu desempenho produtivo sem efeitos negativos nos parâmetros morfohistológicos das papilas ruminais, metabólitos sanguíneos e expressão de genes transportadores de ácidos graxos e de barreira epitelial. Menor expressão de genes receptores de resposta inflamatória como, CD14, TLR4 e TNF- α , foram menos expressos no grupo de animais alimentados com FGMS em comparação ao grupo controle. O FGMS em alta inclusão pode substituir parcialmente o milho moído e totalmente o farelo de soja sem efeitos negativos no consumo, desempenho e saúde ruminal.

Palavras-chave: bovinos de corte, saúde ruminal, subproduto do milho, expressão gênica, terminação de bovinos

**DRY CORN GLUTEN FEED IN DIET OF FEEDLOT BEEF CATTLE
NELORE: BEHAVIOR INTAKE, RUMINAL HEALTH, BLOOD PROFILE
METABOLIC, AND RELATIVE EXPRESSION OF mRNA OF GENES
TRANSPORTERS FATTY ACID RUMINAL¹**

¹Appreciation is expressed to São Paulo Research Foundation - FAPESP (Process 2018/18002-3) - Doctor's scholarship. The opinions, hypotheses and conclusions or recommendations expressed in this material are the responsibility of the author and do not necessarily reflect the views of FAPESP.

Abstract

Feedlot diets are entirely composed of a high proportion of grains, and ground corn is the main energy ingredient in the diet. High energy diets can compromise ruminal parameters, causing instability fermentation processes and consequently harming animal performance. The objective of this research is to evaluate the effect of the inclusion of dry corn gluten feed on feeding behavior, ruminal health and gene expression of the papillae of Nellore cattle finished in feedlot. We used 120 non-castrated Nellore cattle (*Bos indicus*) with an average initial body weight of 361.66 ± 14.85 kg submitted in a randomized blocks design with four treatments with different levels of inclusion of dry corn gluten feed (0, 18, 36, 54%, dietary DM basis). Were evaluated the effect of diet on feeding behavior, histological and morphology papillae, metabolic and blood hepatic parameters, presence of liver abscesses and the relative expression of mRNA in ruminal papillae of genes related to transport and control of intracellular pH. The data were analyzed using the PROC MIXED procedure of the SAS statistical software (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA) and the CONTRAST option of the SAS to assess linear, quadratic and cubic effects. Means were compared using the Tukey test, with values of $P < 0.05$ and trend $P \leq 0.10$ being considered significant effects. FGMS is a by-product of corn, rich in fiber and high solubility proteins and the highest level of inclusion in the diet contributed to productive performance without negative effects on morphohistological parameters of ruminal papillae, blood metabolites and expression of fatty acid and fatty acid transporter genes of epithelial barrier. Lower expression of inflammatory response receptor genes such as CD14, TLR4 and TNF- α were less expressed in the group of animals fed with FGMS compared to the control group. High inclusion FGMS can partially replace ground corn and fully replace soybean meal without negative effects on dry matter intake, performance and rumen health.

Key words: beef cattle, ruminal health, corn by-product, gene expression

1. Introdução

A intensificação no sistema de criação animal com objetivo de melhorar a eficiência dos índices produtivos tem buscado medidas alternativas na otimização do custo de produção e racionalização dos recursos alimentares, vistos que os gastos despendidos com alimentação superam 70% dos custos operacionais nos sistemas produtivos (PACHECO et al., 2006).

O abastecimento de grãos como, milho e soja no mercado interno brasileiro para utilização na alimentação animal tem sido comprometido devido ao aumento do uso destes na produção de etanol e biodiesel, além do uso na alimentação humana que tornam os preços elevados, principalmente na entressafra em que há épocas que o clima desfavorece a produção (ÁVILA et al., 2020). Além disso, Pinto e Millen et al., (2018) também reportam que o milho como fonte de energia e o farelo de soja com fonte de proteína são os ingredientes mais utilizados na formulação de dietas de terminação de bovinos de corte em confinamentos brasileiros.

O Farelo de glúten de milho seco (FGMS) é um dos principais resíduos da indústria da produção de amido, adoçantes, óleo e xarope de milho (WEIGEL et al., 1997; SAPNA et al., 2012) é obtido a partir do processo de moagem úmida antes da fermentação dos grãos e constitui uma opção de ingrediente de ampla aplicação na formulação de dietas para amplas categorias na indústria animal, principalmente como fonte proteica para ruminantes (HANKINS et al., 2005), devido ao baixo teor de gordura e amido e rico em fibra de alta digestibilidade (PEREIRA et al., 2007).

Subprodutos da moagem de milho em dietas de confinamento reduz os problemas relacionados à acidose. O FGMS tem pouco amido remanescente após o processo de moagem e tem sido incluído em dietas de alta energia para bovinos em fase de terminação, pois contém fibra e proteína de alta digestibilidade e ainda reduz problemas referentes à acidose por diluir a concentração de amido da dieta advento de outras fontes de ingredientes e, portanto, tem influência no metabolismo ruminal (KREHBIEL et al. 1995; Richards et al., 1998; BCNRM, 2016).

Na literatura não é evidenciado pesquisas relacionando aos níveis de inclusão de FGMS com a saúde ruminal, bem como alterações no perfil de expressão de genes presentes nas papilas ruminais de zebuínos terminados em confinamento. Portanto, objetiva-se com o estudo, avaliar os efeitos da inclusão de níveis de FGMS na dieta de terminação

de bovinos Nelore sobre o comportamento ingestivo, saúde ruminal, parâmetros sanguíneo e expressão gênica de bovinos nelore terminados em confinamento.

2. Materiais e Métodos

2.1 Local, clima e período experimental

O manejo e os procedimentos experimentais com os animais foram conduzidos de acordo com os princípios éticos na experimentação animal determinados pela Câmara de Ética do Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual Paulista – FMVZ - UNESP, Botucatu/SP, Brasil, sob o protocolo nº 05/2015 - CEUA.

O experimento foi conduzido no período de agosto a dezembro no Confinamento Experimental de Bovinos de corte, unidade pertencente ao Departamento de Melhoramento Genético e Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizada no município de Botucatu e situada no centro-oeste do Estado de São Paulo, numa altitude média de 556 metros, a 22°49' 6.43" de latitude Sul e 48°24'29.55" de longitude Oeste. O clima, segundo Koppen, é classificado como temperado quente (mesotérmico) úmido. A temperatura média do mês mais quente é superior à 22° C.

2.2 cuidados na recepção, manejo alimentar e condução experimental

Utilizou-se 120 bovinos (*Bos taurus indicus*) contemporâneos da raça Nelore, machos não-castrados com 24 ± 3 meses de idade e aproximadamente $361,2 \pm 15$ kg de peso vivo inicial e submetidos aleatoriamente em quatro tratamentos com diferentes níveis de inclusão de farelo de glúten de milho seco - (Promill®, Cargill, Castro, PR, Brasil) na proporção de 0, 18, 36, 54% da MS da dieta. O delineamento experimental foi em blocos casualizado, adotando o peso inicial como critério para distribuição dos animais. Cada tratamento foi composto por seis repetições (baia), considerando cinco animais por baia.

Os animais foram pesados, identificados e submetidos ao manejo sanitário de entrada, incluindo desvermifugação e vacinação contra raiva, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), leptospirose bovina e clostridioses. Os animais foram alocados em instalação coberta com baias de piso de concreto vazado de fácil limpeza com lotação de até cinco animais (5,4 m² por animal e 1,0 m linear de cocho por animal) e providos de bebedouros automáticos. Utilizou-se o protocolo de adaptação em escada (*step-up*) de 23 dias, em que os animais foram divididos em dois grupos para pré-

adaptação à dieta, sendo: sem inclusão e com inclusão de FGMS (0 e 6%, respectivamente). A seguir, o grupo que recebeu FGMS, foi submetido a aumentos sucessivos da inclusão de FGMS (18, 36 e 54%) por três períodos em protocolo *step-up* com duração de três dias cada. O tempo de cocho dos animais foi de 113 dias, sendo: quatorze de pré-adaptação, nove dias de protocolo *step-up* e noventa dias de terminação.

As dietas foram formuladas com auxílio do sistema Large Ruminant Nutrition System (LRNS) – Nível 2 (FOX et al., 2004; Tabela 1), atendendo às exigências nutricionais dos bovinos e estimando ganhos de peso diário de 1,50 a 1,70 kg/dia/animal. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, sendo: às 10h00 (40% da ração total) e às 16h00 (60% da ração total) com acesso livre a água *ad libitum*. A composição química do FGMS se encontra na tabela 2.

Tabela 1. Níveis de inclusão de ingredientes nas dietas experimentais.

Ingredientes	Proporção de ingredientes, % da MS			
	0	18	36	54
Milho grão moído	71,33	59,94	47,38	29,33
Bagaço de cana	13,22	13,23	13,20	13,24
Farelo de soja 46	11,89	5,40	-	-
Supl. Vitamínico-Mineral ¹	3,42	3,42	3,42	3,42
Cloreto de potássio	0,13	-	-	-
Farelo de glúten de milho 21 (Promil®)	0	18	36	54
Composição nutricional, % da MS				
Matéria seca	84,24	84,16	84,10	83,92
Proteína bruta	13,50	13,50	13,93	16,58
² Proteína degradável no rúmen, % PB	65,62	69,84	72,80	77,41
Proteína não degradável no rúmen, % PB	33,65	30,16	27,20	22,59
Extrato etéreo	3,13	3,56	3,95	4,22
Fibra em detergente neutro	27,11	31,11	35,00	38,68
³ FDNef	12,44	13,11	13,52	15,49
Amido	42,37	38,27	33,55	25,99
⁴ Carboidratos não fibrosos	55,73	48,56	40,84	30,58
Cálcio	0,76	0,78	0,80	0,83
Fósforo	0,29	0,39	0,50	0,64
Energia metabolizável, Mcal/kg de MS	2,84	2,79	2,74	2,68
Energia líquida ganho, Mcal/kg de MS	1,26	1,22	1,19	1,14

¹Composição do suplemento mineral (kg do produto) 19,5% Ca; 1,9% S; 1,5% Mg; 4,5% Na; 1,6% P; 1715 ppm Zn; 1285 ppm Mn; 428 ppm Cu; 25 ppm I; 5,7 ppm Se; 8,5 ppm Co; 286 ppm Fe; 86000 UI vit A;

115000 UI vit D3; 128000 UI vit E; 0,39% Urea; 945 ppm de monensina sódica; ²PDR/PNDR (%/PB) estimado pelo BCNRC; FDN fisicamente efetivo calculado considerando partículas acima de 8 mm da *Penn State Particle Separator*; ⁴Estimado pela equação $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDN)$.

Tabela 2. Composição química do farelo de glúten de milho seco (FGMS) fornecido aos animais durante o período experimental.

Alimento	Nutrientes, % MS					
	MS	PB	EE	FDN	MM	AMIDO
FGMS	88,59	23,20	3,50	36,82	7,90	15,94

Ao longo dos períodos experimentais foram coletadas amostras das dietas ofertadas e das sobras, submetidas à análise no laboratório de bromatologia do departamento de Melhoramento Genético e Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Júlio de Mesquita Filho (FMVZ – UNESP), *campus* de Botucatu para determinação dos teores de matéria seca (MS,) proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e cinzas (AOAC, 1990). A análise da fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) foi realizada pelo método proposto por Van Soest et al. (1991). O conteúdo de carboidratos não fibrosos (CNF) foi estimado pela equação: $CNF = 100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDN)$.

2.3. Ingestão de matéria seca e desempenho

O consumo de matéria seca por animal foi obtido por meio da diferença do alimento fornecido e a sobra diária, permitindo calcular a média do consumo por animal/baia. A matéria seca da dieta total foi determinada diariamente, para se obter o consumo em quilos de matéria seca.

Os animais foram pesados em jejum de sólidos a cada vinte e oito dias, para assim se obter o peso vivo vazio. Ao final do experimento, calculou-se o ganho de peso diário dos animais utilizando-se os dados obtidos nas pesagens parciais (BAKER e GUILBERT, 1942; STOCK et al., 1983), e estimados para porcentagem do peso vivo. Aliado a isso, calculou-se a conversão alimentar, obtida por meio da divisão do consumo de matéria seca total pelo ganho de peso vivo total durante o experimento.

2.4. Avaliação do comportamento alimentar

Para determinação do comportamento alimentar, os animais foram submetidos a observações visuais que corresponderam: ao final do período de adaptação, aos 60 e 90 dias de terminação. Para avaliar o comportamento ingestivo, considerou-se a metodologia

de Robles et al. (2007), em que indivíduos treinados observaram os animais a cada cinco minutos, no período de 24 horas consecutivas. Durante as observações foram coletados dados para determinação do tempo despendido em alimentação, ruminação e ócio expressos em minutos, número de refeições (quantidade de idas ao cocho), ingestão de matéria seca (IMS/kg) e consumo de fibra em detergente neutro (FDN/kg), eficiência de ruminação da MS e FDN.

Os resultados referentes às variáveis do comportamento ingestivo foram obtidas por meio das equações descritas por Pereira et al. (2016), sendo:

$$EAL_{MS} = \frac{TAL}{CMS}$$

$$EAL_{FDN} = TAL/CFDN$$

Em que: EAL (min/kg.MS⁻¹); EAL_{FDN} (min/kg.FDN⁻¹) = eficiência de alimentação; CMS = consumo diário de matéria seca (Kg); CFDN = consumo diário de FDN (Kg); TAL = tempo despendido em alimentação (min).

$$ERU_{MS} = \frac{TRU}{CMS}$$

$$ERU_{FDN} = TRU/CFDN$$

Em que: ERUMS (min/kg.MS⁻¹); ERU_{FDN} (g/FDN ruminada/h) = eficiência de ruminação e TRU (min/dia) = tempo de ruminação.

$$TMT = TAL + TRU$$

Em que: TMT (min/dia) = tempo de mastigação total

2.5. Avaliação do índice de seletividade da ração total

Em cada período de observação foram coletadas amostras das rações ofertadas e sobras correspondentes as 24 horas de avaliação de cada baia para determinação da composição química e extensão da seleção mediante a utilização Penn State Particle Separator - PSPS (Nasco, Fort Atkinson, WI, EUA) e determinação da distribuição do tamanho das partículas de acordo com Heinrichs e Kononoff (2004) como segue: telas de fração de partículas de 19 mm (Longa), 8 mm (médio), 1,18 mm (curta) e o fundo (fina).

Aproximadamente 200 g de amostra foram colocadas sobre a primeira caixa (19 mm de diâmetro), e então a PSPS foi agitada conforme descrito por Heinrichs (1996). As

frações da matéria natural das amostras retidas em cada peneira e na caixa sólida foram pesadas individualmente para se determinar a distribuição do tamanho de partículas.

Posteriormente, a classificação das partículas foi calculada como a relação n ingestão / n ingestão prevista, na qual n foi expresso em gramas. Valores iguais a 1, <1 e >1 não indicam nenhuma classificação, classificação contra (sobra seletiva) e classificação a favor (consumo preferencial), respectivamente de acordo com Leonardi e Armen-tano (2003).

O índice de seleção foi calculado para cada porção retida em cada peneira, individualmente, por meio da equação:

$$\text{Índice de seleção} = \frac{\text{Ingestão atual}}{\text{Ingestão esperada}}$$

$$\text{Ingestão Atual} = QRO * DTPDT - (QS * DTPS)$$

Em que: QRO = Quantidade de ração oferecida (kg); DTPDT = Distribuição do tamanho de partículas da dieta total (%); QS = Quantidade de sobras (kg); DTPS = Distribuição do tamanho de partículas das sobras (%).

$$\text{Ingestão esperada} = DTPDT * IAMN$$

Em que: DTPDT = Distribuição do tamanho de partícula da dieta total (base na matéria natural) (%); IAMN = Ingestão atual de matéria natural (kg).

2.6. Estimativa da energia para ganho de peso e custo de ganho

Para estimar a energia líquida de ganho observada das dietas, utilizou-se os dados de ganho médio diário e ingestão de matéria seca, utilizando a metodologia de Zinn e Shen (1998). Foi utilizada a metodologia proposta pelo NRC (1984) para estimativa da exigência de energia líquida de ganho (energia retida) e de manutenção dos animais calculadas seguindo metodologia do e Lofgreen e Garrett (1968) com base no GPD, IMS e peso metabólico. A partir destes valores, a energia líquida (Mcal/kg de matéria seca) das dietas foram calculadas para ganho e manutenção, conforme metodologia de Zinn e Shen (1998):

$$ELg = (0,0557 * PV^{0,75} * GPDj^{1,097})$$

$$Em = (0,077 * PV^{0,75})$$

$$ELm = (-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac})/2a$$

$$Eg = (0,877 * ELm) - 0,41$$

Em que: ELg = exigência em energia líquida para ganho (Mcal/kg de MS); PV = peso vivo (kg); GPDj = ganho de peso diário em jejum (kg); Em = exigência em energia para manutenção (Mcal/dia); ELM = energia líquida de manutenção da dieta (Mcal/kg de MS); a = (- 0,41 * Em); b = (0,877 * Em) + (0,41 * IMS) + Eg; c = (- 0,877 * IMS); Eg = energia de ganho (Mcal/dia).

2.7. Perfil metabólico sanguíneo

Para análise de parâmetros sanguíneo, amostras de sangue foram coletadas de dois animais/baia ao final do período de adaptação e final da terminação, totalizando duas coletas. As coletas foram realizadas em até três horas após o trato da manhã (Brossard et al., 2003), em seringas de 2 mililitros com o anticoagulante heparina sódica, aferindo-se também a temperatura retal. Para os parâmetros de pH, pressão parcial de CO₂ (pCO₂), pressão parcial de O₂ (pO₂), bicarbonato (HCO₃⁻), CO₂ total (TCO₂), excesso de bases no sangue (Beb), excesso de bases no fluido extracelular (Beecf), saturação de oxigênio (O₂Sat) e lactato, foi utilizado o analisador portátil i-STAT® 1 (Abbott I-Stat Point of Care) e o cartucho i-STAT CG4+® com o sangue logo após a coleta.

Para as análises das enzimas fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamil aminotransferase (GGT) e alanina aminotransferase (ALT), as amostras de sangue foram coletadas em tubos com vácuo (BD Vacutainer, FRANKLIN LAKES, NJ, EUA) contendo ativador de coagulo e, em seguida, centrifugadas em velocidade de 3000 rpm por 15 minutos. A alíquota de 0,5 mL de soro foi colocada em dois tubos eppendorf para determinação das concentrações das enzimas. Em seguida, as amostras foram congeladas e encaminhadas para o Laboratório de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da Unesp – Botucatu.

2.8. Índice de rumenites e abscessos hepáticos

Para a avaliação da saúde ruminal, realizou-se exame visual *in loco* com o objetivo de identificar a incidência ou não de rumenites e abscessos hepáticos.

Considerou-se como rumenite quando houve falhas no epitélio ruminal, papilas em hiperqueratose, inflamações e alteração na coloração do epitélio e das papilas. Uma vez identificadas a presença de lesões no rúmen, estas foram classificadas conforme a incidência com base em uma escala de 0 a 10 pontos de acordo com Bigham e McManus (1975), em uma escala de zero (nenhuma lesão observada) a dez (lesões ulcerativas graves cobrindo toda a parede ruminal). Todos os rúmenes foram avaliados e pontuados por dois

indivíduos treinados, que desconheciam os tratamentos. Os dados finais representaram a média das duas pontuações.

Em relação a saúde hepática, a presença ou não de abscessos hepáticos, foram, classificados de acordo com a severidade. Essa classificação é feita com base no estudo de Brink et al. (1990) e categorizada como segue: (0) – fígados sem abscessos; (A-) – fígados com um ou dois pequenos abscessos (menores que 2,5 cm de diâmetro) ou cicatrizes de abscessos; (A) – fígados com dois a quatro abscessos ativos (pouco menores que 2,5 cm de diâmetro); (A+) – fígados com um ou mais, grandes abscessos (maiores que 2,5 cm de diâmetro) e porções do diafragma aderidos a superfície do fígado.

2.9. Morfologia das papilas ruminais

Após o abate, os animais foram eviscerados e os compartimentos rúmen e retículo isolados. Após limpeza e remoção do excesso de tecido conjuntivo circundante, os compartimentos foram abertos, esvaziados, e lavados em água corrente. Um fragmento de aproximadamente 1 cm² foi coletado da região do saco cranial do rúmen (*Atrium ruminis*). As amostras foram imediatamente colocadas em frascos contendo solução de tampão fosfato (PBS) por 24 horas e seguidamente mantidas sobre refrigeração até a realização das mensurações morfométricas macroscópicas do rúmen foram realizadas com base no estudo de Resende Júnior et al. (2006).

As variáveis morfológicas macroscópicas avaliadas foram: número médio de papilas por cm² de parede (NMP), área média das papilas (AMP), área total de superfície absorviva por cm² de parede (ASA) e representatividade das papilas ruminais na área total de superfície absorviva (RPSA). O NMP em cada fragmento foi quantificado por quatro avaliadores, em que a quantidade total de papilas obtida pela média das avaliações segundo a metodologia de Barducci (2013). A AMP foi mensurada por meio das imagens digitalizadas das papilas com utilização do programa de análise de imagens UTHSCSA Image Tool (RESENDE JÚNIOR et al., 2006), em que cada fragmento foi considerado a área média de doze papilas retiradas aleatoriamente da base. A ASA foi calculada pela seguinte fórmula: $1 + (NMP \cdot AMP) - (NMP \cdot 0,002)$, em que o número 1 representa o fragmento de 1 cm² coletado, e o 0,002 é a área basal estimada de cada papila ruminal (DANIEL et al., 2006). RPSA calculada como segue: $(NMP \cdot AMP / ASA) \cdot 100$.

2.10. *Histologia das papilas ruminais*

Para avaliação histológica, foram coletados fragmentos de 1 cm² do saco ventral do rúmen dos animais abatidos de acordo com os respectivos tratamentos. Seguidamente, as amostras foram fixadas por 24 horas em paraformaldeído 10% e mantidas em álcool a 70% até o processamento histológico seguindo as descrições de Barducci (2013).

Os fragmentos foram desidratados em uma série de álcoois, clarificadas com xilol, inclusas em parafina Histosec® em estufa a 65° e seguidamente confecção dos blocos. Realizou-se cortes do material no micrótomo em secções de 5µm, desparafinizados com xilol hidratados em concentrações decrescentes de álcoois, corados em hematoxilina de Harrus e Eosina. As mensurações histológicas foram realizadas em quatro papilas ruminais por animal e determinadas aleatoriamente de acordo com Odongo et al. (2006). Utilizou-se o analisador de imagens Leica Qwin, contido no microscópio eletrônico de luz Leica, tendo sido as imagens de cada corte captadas por lentes objetivas em aumentos de 5x, 40x e 100x e digitalizadas por câmera para as análises morfométricas da área, altura, largura, além da espessura da camada de queratina no epitélio ruminal de acordo com Costa et al. (2008) e índice proliferação dos núcleos da camada basal do epitélio e morte celular adaptado de Pereira et al. (2010) e Correia da Silva et al. (2004).

2.11. *Expressão gênica das papilas ruminais*

Para esta análise, amostras de papilas ruminais foram coletas do saco ventral do rúmen de todos os animais abatidos. Foram excisadas aproximadamente 200 mg de tecido e lavado em PBS gelado, congelado imediatamente em nitrogênio líquido e seguidamente armazenado a – 80°C até isolamento do RNA.

Para a extração total do RNA, aderiu-se ao método orgânico com o auxílio do reagente Quiazol (Qiagen, Valencia, CA). Após pulverização do tecido epitelial com nitrogênio líquido, adicionou-se 1000µL de Quiazol e posterior homogeneização em vórtex. Seguidamente as amostras foram incubadas em gelo por cinco minutos para permitir a lise e liberação do conteúdo celular e posterior adição de 400 µL de clorofórmio, homogeneização e centrifugação por 15 minutos a 12.000 rpm à 4° C (formação de fases; Figura 3). O sobrenadante foi transferido para tubos com 500µL de isopropanol e transferido para freezer a –20° C por uma hora e, seguidamente, centrifugado por 15 minutos a 12.000 rpm à 4°C. Realizou-se o descarte do sobrenadante e o precipitado (*pellet*) foi lavado com 1000 µL de etanol a 75% e homogeneização em vórtex por dez segundos e novamente

centrifugado por cinco minutos a 12.000 rpm à 4°C. Após centrifugação, descartou-se o etanol e o pellet foi seco e temperatura ambiente e ressuspendido em 30 µL de água ultrapura e posterior armazenamento em ultrafreezer a - 80° C.

Para verificar a quantidade (ng/µL) e a qualidade (a proporção da absorvância em 260 e 280 nm e a proporção da absorvância em 260 e 230 nm) do RNA total, foi utilizado um espectrofotômetro NanoDrop ND-1000 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington do RNA total). A integridade do RNA foi verificada por meio da presença de bandas correspondentes ao RNA Ribossômico (rRNA) 18S e 28S após eletroforese em gel de agarose a 1,0% (m/v), corada com corante em gel de ácido nucleico GelRed (Bio-tium, Hayward, CA) e visualizada com um UVItec FireReader XS D77Ls- 20M (UVItec, Cambridge, Reino Unido).

Após etapa de extração do RNA, as amostras foram tratadas com DNase DNA Free (Ambion, Carlsbad, CA) de acordo com as instruções do fabricante com objetivo de remover qualquer possível DNA genômico contaminante. Adicionou-se 0,1 volume (2.5 µL) de 10x Turbo DNase Buffer e 0,5 µL de Turbo DNase, homogeneização e seguida incubação a 37° C por 30 minutos. Após incubação, adicionou-se 0,1 volume (2.5 µL) de DNase Inactivation Reagent, incubação em temperatura ambiente e seguida centrifugação a 10.000 rpm por dois minutos. O sobrenadante foi transferido para tubos novos e armazenados em ultrafreezer a -80° C.

Para a síntese do cDNA, utilizou-se o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), com a adição de 1 µg de concentração de RNA puro e integro em tubos com volume final de 10 µL. Para está etapa, preparou-se o RT master mix com a adição de 2,0 µL de 10x RT buffer, 0,8 µL de 25x dNTP mix (100mM), 2,0 µL de 10x RT random primers, 1,0 µL de MultiScribe™ Reverse Transcriptase e 4,2 µL de água nucelase-free. Os tubos foram transferidos para o termociclador Multigene™ Gradient (Labnet) previamente programado em quatro etapas, sendo: dez minutos a 25° C para anelamento dos primers, 60 minutos a 37° C para propiciar atividade enzimática, cinco minutos a 85° C para seguida inativação da enzima e etapa final para estabilização da temperatura inicial. Após a reação de síntese do cDNA as amostras foram armazenadas em freezer a -20 °C.

2.12. Genes candidatos, primers e análise relativa da expressão gênica (RT-qPCR)

A escolha dos genes candidatos, bem como os genes referência, foram determinados a partir de levantamento bibliográfico em artigos científicos que abordam o tema em estudo. Os primers foram projetados a partir de sequências registradas e publicadas no banco de dados público do GenBank, plataforma do National Center for Biotechnology Information (NCBI). A caracterização dos genes e as estruturas de leituras abertas (Open Reading Frames – ORFs) e os domínios das regiões conservadas, foram obtidas partir da ferramenta NCBI ORFinder e Conserved Domain Database, respectivamente. Os primers foram projetados em estudo *in silico* por meio da ferramenta Primer – BLAST - OligoAnalyzer Tool (Ye et al., 2012), com a especificidade dos primers validada usando o standard nucleotide BLAST do NCBI (Tabela 3).

As reações de RT-qPCR de cada gene estudado foi realizado a partir do cDNA de 12 réplicas biológicas de cada tratamento (dois animais por baia), totalizando 48 amostras biológicas. As amplificações por PCR foram realizadas em triplicata para cada amostra biológica. As reações RT-qPCR foram conduzidas usando SYBER Green MasterMIX (Applied Biosystems®). Um ensaio de validação foi realizado para demonstrar que as eficiências de amplificação dos genes alvo e de referência eram aproximadamente equivalentes. Diluições seriadas foram geradas para determinação da eficiência da reação de amplificação de cada gene: 1:5, 1:25, 1:125, 1:625 e 1:3125.

Para cada reação de expressão relativa foi conduzida com o sistema de detecção SYBR Green (QuantiFast SYBR Green PCR Kit - Qiagen), sendo: 1,5 µL de cDNA (10 ng/µL), 1,5 µL de cada primer iniciador (1,5 µL de forward e 1,5 µL de reverse) e 7,5 µL de SYBR Green Master Mix e 3,0 µL de H₂O ultrapura e livre de RNase foram combinados em volume final de 15,0 µL por amostra em placa óptica MicroAmp de 96 poços (Applied Biosystems). Um termociclador Rotor-Gene Q Real-Time PCR (Qiagen) foi usado com o seguinte programa: 95°C por 2 min, 40 ciclos por 5s a 95°C e 15s por 60°C. A análise da expressão relativa foi inferida usando uma abordagem de modelagem adaptada sob valores delta Cycle Threshold (ΔC_t) corrigidos para eficiência de amplificação de cada par de primers dos genes alvos em relação aos genes referências segundo Pfaffl, (2001). Esse experimento obedeceu às diretrizes MIQE (Minimum Information about Quantitative Real-Time PCR Experiments) segundo Bustin et al. (2009). Quatro

genes referência foram selecionados, no entanto, a partir da ferramenta RefFinder foi possível adotar dois genes mais estáveis para as condições do estudo no cálculo da expressão relativa (XIE et al., 2012).

2.13. Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizado com medidas repetidas no tempo, sendo a baía considerado como unidade experimental para todas as análises. Inicialmente, os dados foram testados para confirmação da normalidade com o teste Shapiro-Wilk por meio do procedimento UNIVARIATE do SAS (versão 9.4, SAS Inst.Inc., Cary, NC). A análise de resíduos foi aplicada para validação do modelo em cada variável para conhecimento dos requisitos de normalidade e homocedasticidade. Considerou-se normais os dados distribuídos normalmente ($P \geq 0,05$). Todos os dados das variáveis estudadas foram analisados utilizando o procedimento PROC MIXED do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC) e comando *Satterthwaite* para determinar os graus de liberdade do denominador para testes de efeito fixo.

No modelo, considerou-se “tratamento” e “baía” como efeito fixo e o bloco como aleatório para todas as variáveis. O procedimento CONTRAST do SAS foi aplicado para detectar efeitos linear, quadrático e cúbico nos níveis de inclusão de FGMS na variável resposta. A estrutura de covariância utilizada para todas as repetições foi a autorregressiva [AR(1)], a qual forneceu o melhor ajuste para as análises de acordo com o critério de informação Akaike (AIC). Os resultados foram reportados como média dos quadrados mínimos (LSMEANS) e separados utilizando a opção de probabilidade de diferenças (PDIF). Os efeitos foram considerados como significativos se $P \leq 0,05$ e as tendências foram consideradas em $P > 0,05$ a $P \leq 0,10$, segundo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + B_j + e_{ijk}$$

em que: Y_{ijk} = observação relativa à k ésima unidade experimental (animal/baía) do i ésimo tratamento no j ésimo bloco; μ = média geral; T_i = efeito do i ésimo tratamento, sendo $i = 1$: 0% de FGMS, 2: 18% de FGMS, 3: 36% de FGMS, 4: 54% de FGMS; B_j = efeito de bloco; e_{ijk} = erro experimental referente à k ésima unidade experimental do i ésimo tratamento no j ésimo bloco.

Tabela 3 – Genes alvos e sequências de nucleotídeos iniciadores da RT-qPCR.

Gene	Abreviação	Primer Sequence 5' – 3'	Nº access NCBI ¹	Amplicon, pb	Efficiency , %
Desmoglein 1	DSG1	F: GGCAGTCTTCCAATGTAGTAG R: TACCCTCTCCGTCACAATC	NM_174045.1	120	100
Monocarboxylic acid transporter 1	MCT1/ SLC16A3	F: GCAGCAGAATCTCCAGAAC R: CACCATTTACCCTTCAGTCC	NM_001037319.1	93	98
Monocarboxylic acid transporter 4	MCT4/ SLC16A1	F: TCAGGACGCAGAATCAGC R: GTGATGACGAAACAGCCC	NM_001109980.3	123	116
Receptores tipo Toll, dímer 4	TLR-4	F: CTGAGCAAGACGATCATCA R: CAGGTGGAAATAGAACTTGTAG	NM_174198.6	90	101
Claudein isoform 1	CLDN1	F: AACATCTTACCCAACACCCAGG R: GGATTGTCAGCTTTCGCT	NM_001001854.2	91	100
Na ⁺ / H ⁺ exchanger 1	NHE1/ SLC9A1	F: TGGTGAACGAGGAGCTG R: CTTGGTCCGCATCGTAAG	NM_174833.2	113	93
Na ⁺ / H ⁺ exchanger 3	NHE3/ SLC9A3	F: AAGTGAACAGCGAGACCC R: GTGTCCAATTTGCCCTGA	NM_001192154.2	100	96
Putative anion transporter	PAT1/ SLC26A6	F: ATCATCGTCAAACCTGGGAG R: CATCACCATGCCCTTCAAG	NM_001076852.2	90	115
Carreadores de soluto 14, member 1	UT-B/ SLC14A1	F: CAGGGTGGAAATCAGGC R: CTGGGGTTTGTCTTTAAGC	NM_001008666.1	114	102
Differentiation cluster	CD14	F: TGCGGACACAACAGAAC R: TGATCTCCACCTCGACG	NM_174008.1	83	99
Tumor necrosis factor α	TNF	F: CCCCAGGGCTCCAGAAGTTGC R: AGAGGGCTGTTGATGGAG	NM_173966.3	152	96
Beta actin	β -ACTIN	F: GTAACGCAGCTAACAGTCC R: GTGGATCAGCAAGCAGGA	NM_173979.3	85	92
Large protein ribossomal 21	RPL21	F: AACCAACCACACTCACTG R: AGTTTTATCTGGGGTGGC	NM_001191412.1	104	100

NCBI, National Center for Biotechnology Information database (www.ncbi.nlm.nih.gov)

3. Resultados

Os resultados referentes ao consumo de MS e desempenho produtivo estão listados na tabela 4. Os animais alimentados com inclusão de FGMS apresentaram CMS maior quando comparado ao grupo controle ($P = 0,03$) e respondeu quadraticamente ($P = 0,04$), sendo que o grupo que recebeu a proporção de 18% de inclusão de FGMS consumiram em média 10,66 kg, ou seja, 10,31% a mais que o grupo controle. A inclusão de FGMS na dieta proporcionou acréscimo significativo no GMD ($P = 0,01$) comparado aos animais do grupo controle. Os animais que receberam o FGMS na dieta apresentaram maior PVF ($p = 0,01$) em comparação ao grupo controle, independentemente do nível de inclusão. O GMD tendeu a aumentar linearmente ($P = 0,06$) e o grupo que recebeu 18% de FGMS apresentou em média ganhos de 13,33% ou 0,220 kg/animal/dia (1,65 kg) a mais em comparação ao grupo controle (1,43 kg) durante o período experimental.

Os animais alimentados com FGMS apresentaram em média consumo linearmente maior de FDN ($P < 0,0001$) em relação ao grupo controle, porém a quantidade média de amido ingerido decresceu linearmente ($P < 0,0001$) à medida que se incluiu FGMS. Em média, a redução na ingestão de amido foi de 14,85 e 35,64%, quando o subproduto foi incluído nas proporções de 36 e 54%, respectivamente.

Tabela 4 - Consumo de matéria seca, desempenho produtivo e consumo de FDN e Amido de bovinos nelores confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS.

Item ¹	Níveis de FGMS, % MS				EPM ²	<i>p</i> -Value ³			
	0	18	36	54		0*FGMS	Linear	Quadrático	Cúbico
CMS, kg	9,56	10,66	10,30	10,10	0,33	0,02	0,34	0,03	0,22
PVI, kg	361,67	360,65	361,98	362	11,88	0,90	0,54	0,54	0,34
PVF, kg	523,35	547,98	545,68	545,52	11,22	0,01	0,05	0,09	0,37
GMD, kg/d	1,43	1,65	1,58	1,61	0,05	0,008	0,06	0,10	0,13
CMS, % PC	2,16	2,34	2,26	2,22	0,07	0,07	0,60	0,05	0,21
ELm, Mcal/kg	2,14	2,10	2,18	2,18	0,04	0,77	0,27	0,62	0,40
ELg, Mcal/kg	1,47	1,42	1,50	1,50	0,03	0,76	0,24	0,60	0,53
CA	6,73	6,45	6,52	6,24	0,30	0,16	0,12	0,99	0,44
EF, kg/kg	0,150	0,155	0,154	0,160	0,01	0,19	0,12	0,89	0,46
CFDN, kg	2,19	2,92	3,20	3,55	0,09	<0,0001	<0,0001	0,08	0,25
CAmido, kg	4,04	4,06	3,44	2,60	0,11	<0,0001	<0,0001	0,08	0,35

¹CMS: Consumo de matéria seca; PVI: Peso vivo inicial; PVF: Peso vivo final; GMD: Ganho médio diário; ELm: Energia líquida para manutenção; ELg: Energia líquida para ganho; CA: Conversão alimentar; EF: Eficiência alimentar; CFDN: Consumo de fibra em detergente neutro; CAMIDO: Consumo de amido; ²EPM: erro padrão médio. ³0*FGMS = controle vs farelo de glúten de milho seco; Efeito linear, quadrático e cúbico dos níveis de inclusão de FGMS na dieta; Valor de *P* significativo ($P \leq 0,05$) e tendência ($P \leq 0,10$).

Os resultados referentes às variáveis de comportamento alimentar estão listados na tabela 5. Não foi observado diferença significativa no consumo de matéria seca/kg/cab/dia entre os tratamentos ($P = 0,56$). No entanto, os animais alimentados com FGMS apresentaram consumo médio diário em matéria seca de 0,80 g ou 7,77 % a mais que o tratamento controle. A inclusão de FGMS resultou em diferença significativa no tempo em ócio ($P < 0,01$), ou seja, aumentos na inclusão de FGMS à dieta diminuí linearmente ($P < 0,01$) o tempo em que os animais permaneceram em ócio. O tempo de alimentação, bem como de mastigação, aumentaram linearmente ($P = 0,01$) com adição do FGMS à dieta e foram maiores para os animais alimentados com inclusão de 54 %.

Quanto ao consumo de FDN, animais alimentados com FGMS apresentaram maior ingestão em comparação à dieta controle ($P < 0,01$), ou seja, o consumo de FDN respondeu de forma linear ($P = 0,01$) com a inclusão do subproduto à dieta. Embora observado aumento no tempo de alimentação, mastigação e na quantidade de FDN ingerido/dia proporcional a inclusão de FGMS, o tempo de ruminação não apresentou diferença significativa ($P = 0,38$).

Não foi observado diferença significativa na eficiência de alimentação da matéria seca ($P = 0,11$) e ruminação ($P = 0,95$) em animais alimentados com FGMS em comparação à dieta controle. No entanto, a eficiência de alimentação e ruminação da FDN diminuiu linearmente ($P < 0,01$) e proporcional a inclusão de FGMS na dieta. Animais alimentados com a dieta controle apresentaram menor número de refeições (eventos) no período avaliado ($P < 0,01$) em comparação ao tratamento com FGMS. Porém, apesar do maior número de refeições, foi observado diminuição linear no tempo despendido com alimentação ($P < 0,01$) e menor quantidade de MS consumida/evento ($P = 0,01$) nos animais alimentados com FGMS.

Quanto aos dados de distribuição partículas listadas na tabela 6, não foi observado diferença na retenção de partículas a cima de 8,0 mm ($P = 0,59$) entre os tratamentos. No entanto, a quantidade de partículas com diâmetro entre 8,0 e 1,18 mm diminuiu linearmente ($P < 0,0004$) e proporcionalmente inversa a inclusão de FGMS à dieta. Partículas menor que 1,18 mm foi linearmente maior ($P < 0,0002$) nas dietas contendo FGMS em comparação ao tratamento controle. Não foi observado diferença no índice de seletividade, independentemente do tamanho de partícula e inclusão de FGMS.

Tabela 5. Comportamento ingestivo de bovinos nelores confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS.

Item ¹	Níveis de FGMS, %				EPM ²	<i>p – valor</i> ³			
	0	18	36	54		0*FGMS	Linear	Quadrático	Cúbico
Tempo em ócio, min/dia	1012,97	974,90	962,22	954,37	11,77	<0,01	<0,01	0,21	0,70
Tempo de alimentação, min/dia	175,03	188,18	206,82	216,78	8,65	<0,01	<0,01	0,85	0,72
Tempo de ruminação, min/dia	252	276,92	270,96	268,85	10,40	0,38	0,34	0,20	0,36
Tempo de mastigação, min/dia	427,03	465,10	477,78	485,62	11,77	<0,01	<0,01	0,21	0,70
Consumo de matéria seca, kg/cab/dia	10,59	11,43	11,39	11,42	0,33	0,56	0,21	0,29	0,54
Consumo de FDN, kg/cab/dia	1,08	1,67	1,61	1,96	0,08	<0,01	<0,01	0,20	0,02
Quantidade de refeição, evento/dia	10,73	13,08	12,39	15,61	0,55	<0,01	<0,01	0,43	<0,01
Tx. Alimentação da MS, min/kg	16,82	16,65	18,29	19,10	0,94	0,11	0,08	0,59	0,53
Tx. Alimentação da FDN, min/kg	175,29	118,76	133,71	114,16	10,43	<0,01	<0,01	0,10	0,05
Tx. Ruminação da MS, min/kg	24,22	24,37	23,91	23,77	0,83	0,95	0,62	0,86	0,80
Tx. Ruminação da FDN, min/kg	256,05	175,94	173,49	141,65	11,90	<0,01	<0,01	0,06	0,05
Tempo médio por refeição, min/dia	16,39	14,60	16,88	13,96	0,60	<0,01	0,03	0,41	0,02
Consumo de MS por refeição, kg	1,02	0,90	0,93	0,73	0,05	<0,01	<0,01	0,35	0,06

¹FDN: Fibra em detergente neutro; Tx: Taxa; MS: Matéria seca. ²EPM: erro padrão médio. ³Valor de P – controle vs farelo de glúten de milho seco; Efeito linear, quadrático e cúbico dos níveis de inclusão de FGMS na dieta; Valor de P significativo ($P \leq 0,05$) e tendência ($P \leq 0,10$);

Tabela 6. Distribuição e índice de seletividade de partícula da ração de bovinos nelore confinados alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta.

Itens ¹	Inclusão de FGMS, %				EPM ²	<i>p</i> -valor ³			
	0	18	36	54		0*FGMS	Linear	Quadrático	Cúbico
<i>Distribuição de partícula</i>									
Longa	0,60	0,52	0,80	0,79	0,95	0,59	0,31	0,83	0,39
Média	8,18	8,41	8,82	10,49	1,14	0,41	0,13	0,49	0,82
Curta	137,33	127,76	120,81	122,06	1,68	<.0004	<.0001	0,03	0,59
Fina	53,50	62,94	64,72	65,68	0,78	<.0002	<.0001	0,02	0,36
<i>Índice de seletividade</i>									
Longa	0,98	1,02	0,98	1,03	0,01	0,47	0,49	0,60	0,21
Média	1,00	1,01	0,97	0,99	0,06	0,40	0,20	0,96	0,27
Curta	1,00	1,00	1,00	1,00	0,02	0,88	0,52	0,62	0,81
Fina	0,99	0,99	1,00	1,00	0,01	0,30	0,16	0,44	0,28

¹Partículas longas >19,00 mm, Média: 8,0 – 19,0 mm, Curta: 1,18 – 8,0 mm e fina: < 1,18 mm. ²EPM: erro padrão médio. ³Valor de P – controle vs farelo de glúten de milho seco; Efeito linear, quadrático e cúbico dos níveis de inclusão de FGMS na dieta; Valor de P significativo ($P \leq 0,05$) e tendência ($P \leq 0,10$);

Na tabela 7 estão listadas as variáveis referente a morfometria das papilas ruminais. A adição do FGMS à dieta não apresentou resultado significativo ($P > 0,05$) na área, número médio, superfície absorviva, na representatividade absorviva das papilas no rúmen, bem como no índice de proliferação celular.

Tabela 7. Morfometria das papilas ruminais de bovinos nelore confinados alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta.

Variáveis ¹	Inclusão de FGMS, %				EPM ²	<i>p</i> -valor ³			
	0	18	36	54		0*FGMS	Li-near	Quadrático	Cúbico
AMP, cm ²	0,34	0,35	0,34	0,35	0,01	0,85	0,67	0,77	0,49
NMP	80,74	79,66	82,03	80,66	4,82	0,98	0,92	0,98	0,74
ASA, cm ²	26,17	27,62	27,41	28,53	1,17	0,56	0,20	0,88	0,57
RPSA, %	96,47	96,75	96,65	96,59	0,15	0,67	0,71	0,31	0,56
Índ. rumenite	0,73	1,00	0,95	0,63	0,09	0,04	0,40	<0,01	0,97

¹AMP – Área média das papilas; NMP – Número médio de papilas; ASA – área de superfície absorviva; RPA – Representatividade papilas absorviva; ²EPM: erro padrão médio. ³0*FGMS = controle vs farelo de glúten de milho seco; Efeito linear, quadrático e cúbico dos níveis de inclusão de FGMS na dieta; Valor de P significativo ($P \leq 0,05$) e tendência ($P \leq 0,10$).

Em relação as variáveis histológicas listadas na tabela 8, não foi observado diferenças na área ($P = 0,85$), altura ($P = 0,38$), largura ($P = 0,49$) e espessura de queratina ($P = 0,81$). No entanto, a área e a largura apresentaram tendência ao comportamento quadrático ($P = 0,06$ e $0,09$, respectivamente) à adição do FGMS.

Tabela 8. Histologia das papilas ruminais de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta.

Variáveis	Inclusão de FGMS, %				EPM ¹	<i>p</i> -valor ²			
	0	18	36	54		0*FGMS	Linear	Quadrático	Cúbico
Área, mm ²	1,21	1,26	1,32	1,20	0,06	0,22	0,77	0,06	0,32
Altura, mm	2,82	2,86	3,02	2,98	0,14	0,48	0,18	0,72	0,46
Largura, mm	0,43	0,44	0,44	0,42	0,01	0,39	0,91	0,09	0,96
Queratina, μm	37,6	37,36	41,72	47,30	11,68	0,81	0,37	0,73	0,92
Ind. mitótico, %	6,72	6,96	7,75	7,41	0,69	0,42	0,36	0,68	0,59

¹AMP – Área média das papilas; NMP – Número médio de papilas; ASA – área de superfície absorviva; RPA – Representatividade papilas absorviva; ²EPM: erro padrão médio. ³0*FGMS = controle vs farelo de glúten de milho seco; Efeito linear, quadrático e cúbico dos níveis de inclusão de FGMS na dieta; Valor de P significativo ($P \leq 0,05$) e tendência ($P \leq 0,10$).

Os dados do perfil metabólico hepático estão descritos na tabela 9. A FA não foi afetada significativamente no grupo de bovinos alimentados com FGMS em comparação ao tratamento controle ($P = 0,09$). Por outro lado, aumentos nos níveis de FGMS resultou em tendência em decréscimo linear ($P = 0,06$) da quantidade de enzima metabolizada no sangue,

sendo o tratamento com 18% FGMS o que apresentou maior concentração. Animais do grupo controle apresentaram tendência a menor concentração de AST (83,87 μ /L; $P = 0,05$) em comparação aos animais alimentados com FGMS, ao passo que a inclusão do subproduto ao nível de 54%, aumentou linearmente a concentração de AST plasmática (176,63 μ /L; $P = 0,03$). A enzima GGT foi significativamente menor no plasma de bovinos recebendo a dieta controle (14,93 μ /L; $P = 0,04$) e as concentrações aumentaram linearmente com inclusão do FGMS a dieta, sendo maior no sangue de animais alimentados com 54% de FGMS (25,54 μ /L; $P = 0,05$). A concentração de ALT não apresentou diferença entre os tratamentos.

Tabela 9. Perfil metabólico hepático de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS na dieta.

Var ¹ , μ /L	Inclusão de FGMS, %				EPM ²	<i>p</i> -valor ³			
	0	18	36	54		0*FGMS	Linear	Quadrático	Cúbico
ALT	24,42	25,65	23,42	21,84	1,09	0,27	0,14	0,27	0,40
FAS	230,41	255,51	214,44	201,97	14,84	0,09	0,06	0,22	0,17
AST	83,87	119,30	111,63	176,63	17,93	0,05	0,03	0,49	0,12
GGT	14,93	19,41	22,7	25,54	2,67	0,04	0,05	0,80	0,94

¹ALT - Alanina aminotransferase; FAS - Fosfatase alcalina; AST - Aspartato aminotransferase; GGT - Gama-glutamil aminotransferase; ²EPM: erro padrão médio. ³0*FGMS = controle vs farelo de glúten de milho seco; Efeito linear, quadrático e cúbico dos níveis de inclusão de FGMS na dieta; Valor de P significativo ($P \leq 0,05$) e tendência ($P \leq 0,10$).

As variáveis referente ao perfil metabólico sanguíneo estão listadas na tabela 10. A pressão de CO₂ foi maior nos animais do tratamento controle ($P = 0,02$) e decresceu linearmente ($P < 0,01$), sendo o menor valor no tratamento com inclusão de 54% de FGMS à dieta. Além disso, o total de CO₂ também foi maior nos animais do grupo controle e tendeu a diminuir linearmente ($P = 0,07$) com a inclusão do FGMS. A pressão e a saturação de O₂ não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($P = 0,21$ e $0,13$), mas tendeu a responder quadraticamente ($P = 0,06$ e $0,05$) em animais alimentados com a inclusão de 18% de FGMS, sendo a menor concentração na pressão e saturação média de O₂ no sangue. O pH, Beecf, bicarbonato e lactato não apresentaram diferença entre os tratamentos.

1 **Tabela 10.** Perfil metabólico sanguíneo de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão
 2 de FGMS na dieta.

Variáveis ¹	Inclusão de FGMS, %				EPM ²	<i>p</i> -valor ³			
	0	18	36	54		0*FGMS	Linear	Quadrático	Cúbico
pH	7,33	7,36	7,34	7,36	0,01	0,52	0,53	0,62	0,23
Beecf, mmol/L	- 0,064	1,30	-0,06	- 1,09	1,02	0,10	0,35	0,30	0,58
Bicarbonato, mmol/L	25,15	26,07	24,57	23,54	0,94	0,31	0,15	0,31	0,50
Pressão de CO ₂ , mmHg	46,98	47,28	45,09	42,59	1,19	0,02	<0,01	0,26	0,71
Pressão de O ₂ , mmHg	41,04	37,19	39,47	41,55	1,39	0,21	0,42	0,06	0,46
Lactato, mmol/L	5,66	3,50	4,02	4,31	0,74	0,31	0,33	0,31	0,41
Total de CO ₂ , mmol/L	26,60	27,32	25,81	24,68	0,88	0,03	0,07	0,35	0,60
Saturação de O ₂ , mmol/L	63,65	58,88	61,45	66,09	2,11	0,13	0,11	0,05	0,69

3 ¹Beecf: excesso de bases no fluido extracelular; ²EPM: erro padrão médio; ³0*FGMS = controle vs farelo de glúten de milho seco; Efeito linear, quadrático
 4 e cúbico dos níveis de inclusão de FGMS na dieta; Valor de P significativo ($P \leq 0,05$) e tendência ($P \leq 0,10$).
 5
 6
 7
 8
 9
 10
 11

O resultado referente a expressão relativa de mRNA de genes responsáveis pela proteção da barreira epitelial, metabolismo e transporte de AGCC e receptores de respostas inflamatórias a LPS estão listados da figura 1, 2 e 3.

Não foi observado efeito da inclusão de FGMS na expressão relativa de mRNA do gene CLDN1 e DGS1 no grupo controle em relação ao grupo alimentado com FGMS ($P = 0,99$ e $0,27$, respectivamente). Porém, apesar da ausência de efeito, o grupo que recebeu a inclusão de 54% de FGMS apresentou expressão numericamente menor de mRNA do gene CLDN1 comparado ao grupo controle ($1,29x$ e $1,68x$, respectivamente; $P = 0,55$). A expressão do mRNA do gene DGS1 foi numericamente maior ($1,97x$) no tratamento controle em comparação aos grupos alimentados com FGMS ($P = 0,68$).

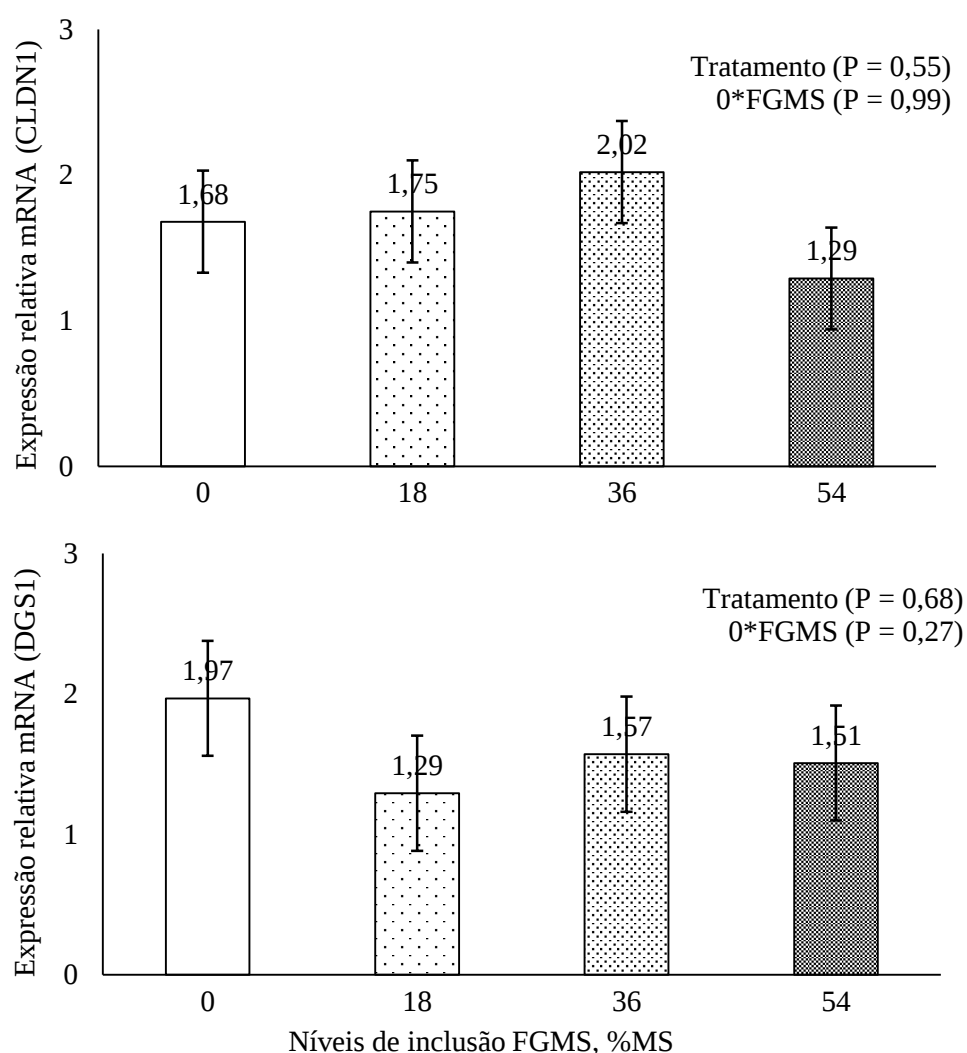
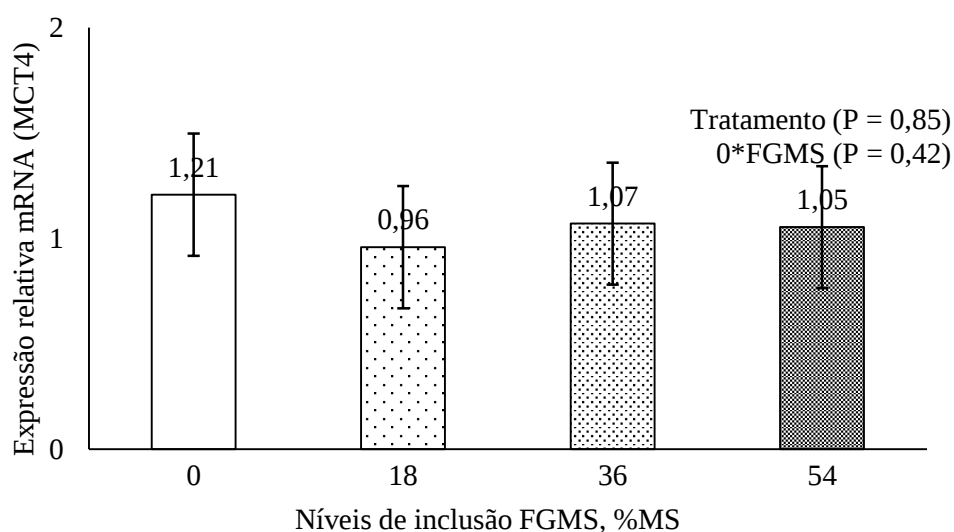
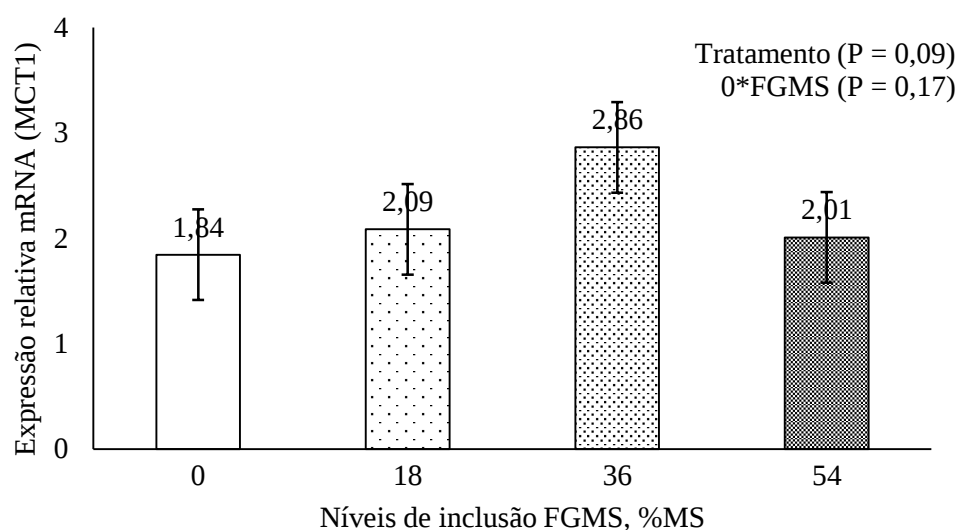
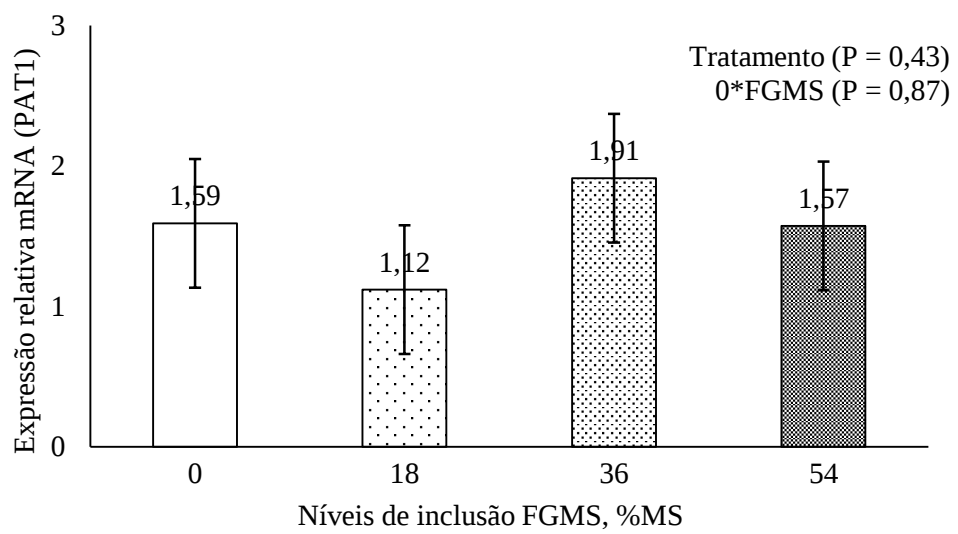
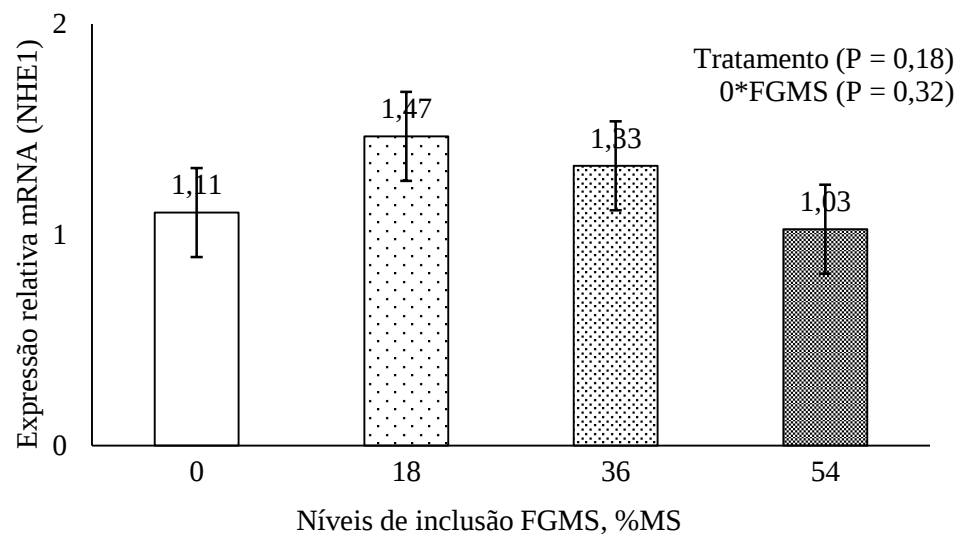
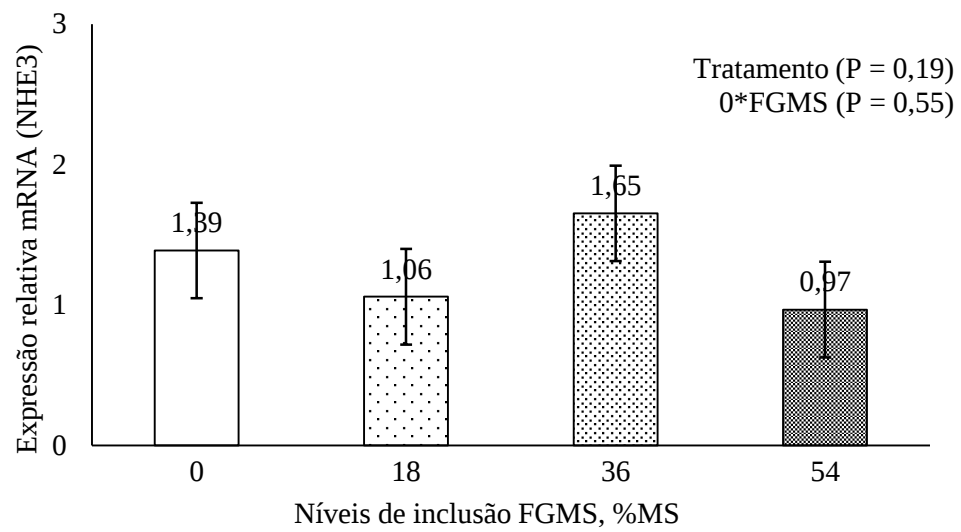


Figura 1 – Expressão relativa de mRNA de genes (CLDN1 e DGS1) responsáveis pela proteção da barreira epitelial nas papilas ruminais de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS.

Em relação aos genes responsáveis pelo metabolismo e transporte de AGCC, não foi observado diferença significativa na expressão de mRNA do grupo controle em relação aos animais alimentados com FGMS ($P > 0,05$). No entanto, entre os tratamentos, o gene MCT1 (2,86x) apresentou tendência em ser mais expresso no grupo de animais alimentado com inclusão de 36% de FGMS ($P = 0,09$). Além disso, a expressão relativa do mRNA do gene UT-B (0,77x) tendeu ($P = 0,10$) a ser menor no grupo controle em comparação ao grupo de animais alimentados com FGMS.





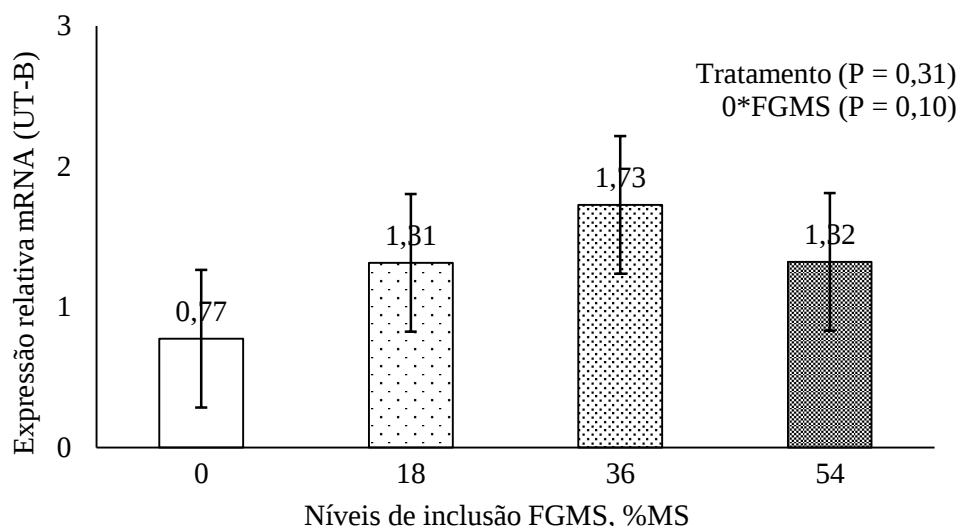
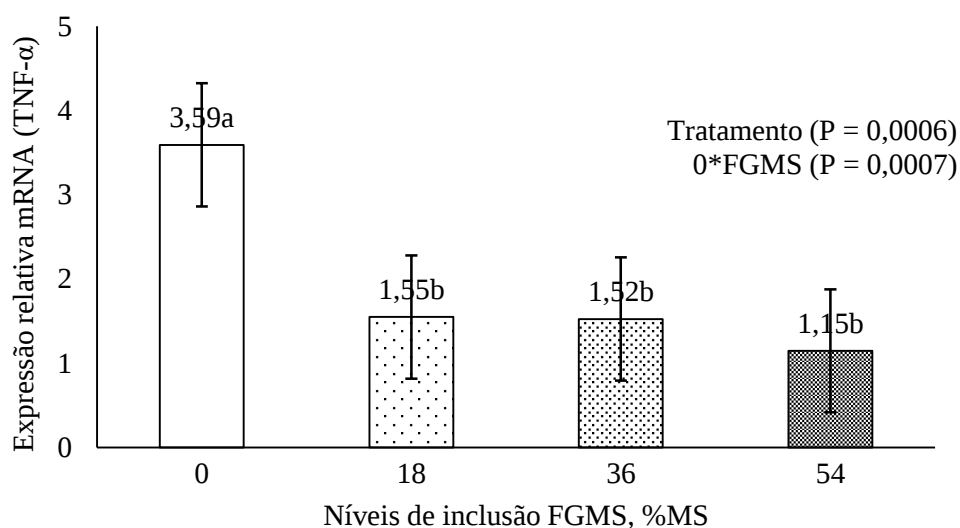


Figura 2 – Expressão relativa de mRNA de genes (MCT1, MCT4, NHE3, NHE1, PAT1 e UT-B) responsáveis pelo transporte de AGCC e controle de pH intracelular nas papilas ruminiais de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS.

O mRNA dos genes receptores de estímulos à LPS foi significativamente mais expresso no grupo controle. O gene $\text{TNF-}\alpha$ apresentou duas vezes mais expressão (3,59x; $P = 0,0007$) nas papilas ruminiais dos bovinos alimentados com a dieta controle e decresceu (1,55x, 1,52x e 1,15x, respectivamente a 18, 36 e 54%) à medida que o FGMS foi adicionado a dieta. O gene TLR4 apresentou maior expressão relativa (2,23x; 1,60x, 1,08x e 1,55x; $P = 0,04$) em grupo de animais recebendo a dieta controle quando comparado ao grupo recebendo FGMS, mas essa diferença de expressão não foi significativa entre os grupos ($P = 0,14$). O gene CD14 apresentou tendência ($P = 0,10$) em ser mais expresso (1,80x) nas papilas ruminiais de bovinos recebendo a dieta controle e com menor expressão (1,17x) no grupo de animais alimentados com 54% de FGMS, porém não foi observado diferença de expressão independente da dieta recebida ($P = 0,38$).



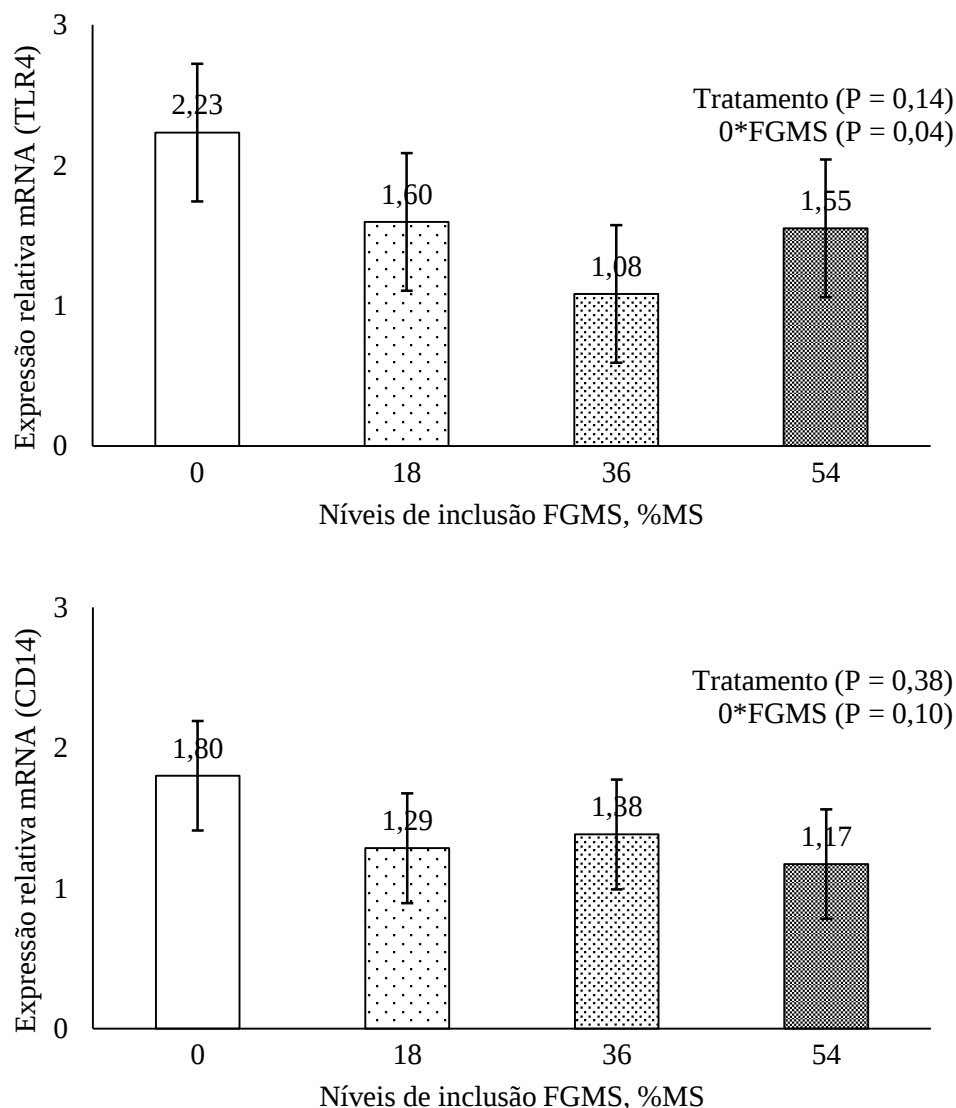


Figura 3 – Expressão relativa de mRNA de genes (TNF- α , TLR4 e CD14) receptores de respostas inflamatórias a LPS nas papilas ruminais de bovinos nelore confinados e alimentados com níveis crescentes de inclusão de FGMS.

4. Discussão

O milho é um dos cereais mais produzidos mundialmente e o processo de industrialização gera múltiplos subprodutos destinados aos mais diversos nichos de seguimento, inclusive para nutrição de bovinos de corte. Dependendo da matéria prima, os alimentos derivados de subprodutos podem ser maiores em conteúdo fibroso e protéico do que a própria matéria prima.

Os resultados encontrados nesta pesquisa, confirmam a hipótese de que a inclusão do FGMS em dietas de bovinos nelore confinados em substituição parcial do farelo

de milho e soja, contribui significativamente com o consumo alimentar, desempenho produtivo e estabilidade nos parâmetros morfohistológicos do rúmen e metabolitos sanguíneos.

O FGMS é um alimento com quantidade elevada de PB de alta solubilidade e fonte de FDN não forragem. Por se tratar de um subproduto resultante da extração amilácea, corresponde em média a 80% do NDT do farelo de milho e 1,91 Mcal EM/kg de MS (HAO et al., 2017) oriundo principalmente da digestão da celulose e hemicelulose. Segundo Wu (1998), o resíduo remanescente de carboidratos não fibrosos do FGMS compreende a presença de mono e oligossacarídeos como, glicose (53%), arabinose (15%), xilose (15%), glicerol (12%) e outros açúcares (5%), conferindo a fração de carboidratos de alta fermentabilidade por bactérias ruminais (VAN SOEST, 1991).

Embora a concentração de FDN esteja relacionada à ingestão de matéria seca, de modo que valores altos de fibra na ração possam limitar o consumo, isto não ocorreu no grupo de animais alimentados com FGMS, devido possivelmente a maior digestibilidade da fibra (BCNRM, 2016), favorecendo à rápida e extensa degradabilidade dos carboidratos estruturais em associação ao aporte ruminal de PDR de alta solubilidade (BEAUCHEMIN e KOENIG, 2005). Os animais atingiram o pico de consumo quando foram alimentados com 18% de FGMS e redução à medida que o subproduto foi incluído na dieta.

O CMS foi reduzido para o grupo de animais alimentados com inclusão de 54% de FGMS. Estimamos que um dos motivos para a está redução, pode estar associado a aceitabilidade do subproduto pelo animal, visto que uma das fases do processamento compreende a reação de hidrólise com ácido sulfúrico e dióxido de enxofre, resultando no licor de infusão, que é um dos componentes do FGMS. Segundo Myer e Herson (2008), a inclusão de grande quantidade de FGMS com alta concentração de enxofre (S) pode levar à toxicidade, resultando na redução do consumo de ração e possivelmente morte. Em nossas condições, apesar de observarmos redução média de 5,25% no consumo em comparado à inclusão de 18% de FGMS, o farelo de milho ainda compreendia cerca de 29,33% da dieta total que, associado ao maior consumo de PB, foi decisivo na manutenção do ganho de peso dos animais, ainda superior a dieta controle.

Segundo Firkins et al. (1984), a fração protéica do glúten de milho *in natura* possui relativamente baixa solubilidade, porém, quando exposto ao processamento úmido via imersão em solução ácida, resulta em um concentrado de maceração com proteína e hemicelulose de alta solubilidade, podendo influenciar na extensão da degradação dos

nutrientes no rúmen, permitindo maior utilização das frações protéicas quando comparado a outros subprodutos do milho. SINDT et al. (1993a), relataram que dietas para bovinos em confinamento, com alta proporção de milho, podem se tornar deficientes em PDR devido ao alto escape da fração protéica da dieta.

Apesar desta pesquisa não ter mensurado produtos da fermentação ruminal e hormônios circulantes, o menor CMS e desempenho produtivo dos animais alimentados com a dieta controle pode ser parcialmente explicado pela avaliação comportamental. Acreditamos que o menor desempenho está relacionado à regulação do consumo, principalmente por sinais químicos (metabólicos), uma vez que a dieta controle influenciou significativamente no aumento do tempo em que os animais permaneceram em ócio redução no número de e no tempo gasto se alimentando.

As dietas de terminação de bovinos em sua maioria são ricas em carboidratos não fibrosos, o que aumentam o aporte de energia por unidade de alimento ingerido e o desempenho produtivo, visto a maior fermentabilidade e produção de AGCC, principalmente o ácido propiônico que é um metabólito anaplerótico primário e tem características hipofágica, em que o aumento na síntese oriundo da fermentação ruminal pode reduzir o CMS e o tamanho das refeições (ALLEN et al., 2020).

Vale ressaltar que, apesar da dieta controle possuir maior densidade energética, os resultados do comportamento alimentar em associação à composição nutricional (Tabela 1), indicam possível ausência do efeito acentuado de acidose ruminal. Além disso, mesmo a relação inversa dos níveis de inclusão de FGMS com o valor energético da dieta (Tabela 1), a FDN e a FDNef estão de acordo com as recomendações do BCNRM (2016), e são elevados comparado com dietas de terminação tradicionalmente utilizadas no Brasil (PINTO E MILLEN, 2018).

O teor de FDN dietético, o potencial de efetividade ruminal e à diluição do amido na dieta podem ter contribuído com a manutenção dos parâmetros ruminais considerados normais em todos os tratamentos, pois, mesmo os animais do grupo controle, ingerindo significativamente maiores quantidades de amido e menor em fibra, consumiram FDN de forma mais lenta quando comparados aos animais de outros na tentativa de otimizar o CMS e prevenir possíveis efeitos negativos da fermentação ruminal, o que pode ter sido determinante para o tempo de ruminação não apresentar efeito significativo durante o período de avaliação comportamental. Dragomir et al. (2008), relataram em seus resultados efeitos do FGMS no controle da excessiva diminuição do pH e seus efeitos negativos pós-alimentação.

1 As propriedades físicas da dieta obtida pela PSPS (Tabela 6), mostram que a
2 inclusão de FGMS apresentou redução linear na quantidade de partículas retidas abaixo
3 da peneira de 8,0 mm, sobretudo menores que 1,18 mm. O aumento no CMS também
4 pode estar relacionado, em parte, às diferenças no tamanho de partícula dietéticas e na
5 densidade específica do FGMS em comparação a dieta controle.

6 O FGMS utilizado nesta pesquisa foi obtido comercialmente em forma de *pellets*
7 e, quando homogeneizado com os demais ingredientes no vagão misturador, desintegram-
8 se em partículas menores. Além disso, apesar do efeito da inclusão do FGMS na redução
9 de partículas entre 8,0 e 1,18 mm e aumento linear na proporção de partículas menores
10 que 1,18 mm, o que está além do recomendado por Heinrichs e Kononoff (2004).

11 Estima-se que o FDN de alta digestibilidade contribuiu com aproveitamento dos
12 componentes da dieta e na taxa de passagem, o que pode ter sido decisivo no aumento do
13 CMS e no desempenho, comprovado pela ausência de efeito na conversão e eficiência
14 alimentar. Segundo Allen e Grant, (2000), o aumento na quantidade de partículas abaixo
15 de 1,18 mm contribui com a maior taxa de passagem e menor preenchimento ruminal.

16 Os resultados encontrados nesta pesquisa estão de acordo com levantamentos
17 reportados na literatura em relação ao efeito da inclusão do FGMS no aumento do peso
18 final, GMD e acréscimo no CMS (SCOTT et al., 1997; HAM et al., 1995; AZEVÊDO et
19 al., 2011; ALLEN e GRANT, 2000; HAO et al., 2017; MULLINS et al., 2010 e
20 DARABIGHANE et al., 2020). No entanto, resultados oposto ou sem efeito significativo
21 foi relatado por Hankins et al. (2005), Santos et al. (2004), Beauchemin e Koenig (2005),
22 Kampman e Loerch (1988), Macken et al. (2004), Moscardini (2008) e Stelzleni et al.
23 (2016).

24 Estima-se que, a inconsistência nas pesquisas revisadas, tem relação com a vari-
25 abilidade nutricional do subproduto, níveis de inclusão, associado ou não a outras fontes
26 de fibra (forrageira ou não) (BRADFORD e MULLINS, 2012), regime de alimentação,
27 composição da dieta (DARABIGHANE, et al., 2020), método de processamento (seco ou
28 úmido) (STOCK et al., 2000) tamanho de partícula (farelado ou em *pellets*) (BATAJOO
29 e SHAVER, 1998) diferença na concentração de MS e sincronia entre os ingredientes da
30 dieta (STELZLENI et al., 2016).

31 O tipo da deita exerce efeito na morfologia e histologia das papilas ruminais,
32 pois podem influenciar no tamanho (REDDT et al., 2017), densidade (JING et al., 2018)
33 e na área de superfície para absorção de nutrientes (DIEHO et al., 2016). No presente

estudo, não foi observado efeito dos níveis de inclusão de FGMS nas variáveis morfológicas e histológicas dos animais. Entretanto, apesar do índice de rumenite apresentar efeito em animais alimentados com 18% de inclusão ($P=0,04$), isto não necessariamente pode indicar quadro de acidose ruminal abrangente, mas sim animais supostamente mais sensíveis a mudanças na acidificação ruminal decorrente do maior CMS evidenciado neste tratamento. Além disso, não foi identificado a presença de abscessos hepáticos nos animais de nenhum grupo, o que pode estar relacionado ao melhor desenvolvimento das papilas ruminais e a baixa incidência de rumenites.

O evento de acidose metabólica em bovinos tem como consequência o desequilíbrio do complexo ácido-base e é caracterizada pela redução dos valores de pH sanguíneo, HCO_3^- , e excesso de bases (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Nestas condições, é constatado o acúmulo de CO_2 na corrente circulatória devido a diminuição na ventilação pulmonar, resultando inicialmente na queda das concentrações de O_2 e aumentos expressivos na PCO_2 . Como respostas compensatórias do organismo, há diminuição na PCO_2 e elevação da PO_2 decorrente da hiperventilação pulmonar, em associação a redução do HCO_3^- absorvido pelo rim, queda nos níveis de BEECF e a maior atividade tamponante do complexo $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ (total de CO_2) ligados aos íons de H^+ e formando H_2CO_3 , sendo posteriormente convertido em CO_2 pela anidrase carbônica e eliminado via elevação na ventilação e pulmonar (KANECO et al., 2008).

Nas condições desta pesquisa, apesar da variação nos níveis PCO_2 e o total de CO_2 entre os tratamentos controle e inclusão do FGMS, sugerindo possíveis problemas metabólicos, os níveis de todas as variáveis elencadas (tabela 9) estão de acordo com os valores referência para bovinos considerados saudáveis de acordo com González e Silva (2006).

A barreira epitelial é um sincício complexo de células com junções intercelulares que regulam a permeabilidade, absorção de nutrientes, metabolismo e regulação do pH (McCANN et al., 2016). Os desmossomos e claudinas são complexos protéicos responsáveis pela adesão celular via junções endoteliais estreitas mediados por ligações iônicas, crescimento e diferenciação celular. Em curto prazo, a maior expressão destas proteínas, representam uma resposta preventiva com a redução da permeabilidade do epitélio ruminal durante produção excessiva de AGCC (PEDERZOLLI et al., 2018). Em nossas condições experimentais, não foi observado efeito da dieta na expressão de mRNA destes genes, o que pode ser comprovado pela ausência de alterações nas variáveis morfológicas e histológicas, indicando possível estabilidade nos parâmetros ruminais.

Os AGCC quando produzidos no rúmen servem como importantes precursores energéticos para os ruminantes (BERGMAN, 1990). Desse modo, Müller et al. (2002) e Graham et al. (2007), sugerem que a captação e absorção dos gases pelas células apicais localizados na membrana do tecido epitelial é parcialmente dependente da difusão facilitada e via transportadores mediados por carreadores. Em nossas condições de estudos, não foi observado efeito da dieta na expressão relativa dos genes responsáveis pelo transporte de AGCC e controle de pH intracelular das papilas ruminais, com exceção de tendência em maior expressão do gene MCT1 (2,86x; $P = 0,09$) no grupo com inclusão de 36% FGMS e menor expressão do gene UT-B (0,77x; $P = 0,10$) no grupo de animais controle.

O MCT1 é um co-transportador de prótons do epitélio ruminal para o sangue e, em associação ao NHE3, contribuem com a manutenção do pH intracelular. Nestas condições, apesar de não ser significativo, estima-se que, em curto prazo, a expressão numericamente maior destes genes no grupo com inclusão de 36% FGMS estariam relacionados ao aumento do tempo despendido com alimentação e menor com o ócio na tentativa de compensar o menor aporte energético da dieta.

Por outro lado, tendência da menor expressão do gene UT-B no grupo controle, pode estar associado a menor disponibilidade da PDR ruminal, menor CMS e ao maior tempo em ócio, possivelmente promovido pelo aporte de AGCC da dieta com maior densidade energética. Há relação positiva na produção de AGCC⁻ e a quantidade de NH₄⁺ absorvido pelo rúmen (STUMPF et al., 2009), no entanto, a permeabilidade da parede ruminal à uréia diminui rapidamente com maior concentração intraruminal de amônia ou quando o pH ruminal diminui para <6,2 devido ao excesso de AGCC, o que é comum em dietas de alta inclusão de energia, reduzindo o crescimento microbiano e a taxa de fermentação (ABDOUN et al., 2010). Simmons et al. (2009), relataram maior expressão de UT-B ruminal em novilhos com dieta rica em concentrado, sugerindo que a dieta pode induzir alterações na expressão relativa de transportadores de ureia.

Em nossa pesquisa, confirmamos a hipótese de que bovinos alimentados com FGMS apresentaram menores mudanças na expressão relativa de mRNA dos genes receptores de respostas inflamatórias. O gene TLR4 ($P = 0,04$) e TNF- α ($P = 0,0006$) foram mais expressos nas papilas ruminais de bovinos alimentados com a dieta controle. Dessa forma, estima-se que a expressão destes genes pode estar relacionada a maior densidade energética da dieta e ao princípio de resposta inflamatória induzido por LPS.

O TLR-4 e CD14 formam um complexo receptor agregado com proteínas associadas à membrana basal do epitélio (TRANTAFILOU e TRIANTAFILOU, 2005). Segundo Ferraz et al. (2011), o dímero TLR4 reconhece principalmente o LPS da parede celular de bactérias gram-negativas e são expressos por macrófagos que secretam citocinas pró-inflamatórias como a TNF- α , induzindo um processo inflamatório a partir da ação de proteínas de fase aguda.

Pan et al. (2017), relataram que vacas leiteiras recebendo dieta rica em concentrado tiveram maior expressão relativa de TLR4 em comparação àquelas alimentadas com dietas ricas em forragem. Zhang et al. (2016), avaliando a expressão de genes relacionados à inflamação no epitélio ruminal de bovinos leiteiros, identificaram efeito significativo na expressão do mRNA da citocina TNF- α ($P < 0,05$). Portanto, animais que apresentaram baixos valores de pH, a expressão relativa de mRNA de TNF- α foi mais elevada, sugerindo que o pH associado ao nível mais elevado de LPS no rúmen de animais recebendo alto grão, são os principais responsáveis pela inflamação ruminal.

No presente estudo, não podemos certificar de forma absoluta a ocorrência de inflamação sistêmica em bovinos alimentadas com dieta controle, visto que nossa pesquisa se centrou na expressão relativa de mRNA nas papilas ruminais e não aferiu as proteínas de fase aguda, LPS ruminal ou citocinas inflamatórias no sangue. No entanto, a mudança de dobra com duas vezes mais expressão do gene *TNF- α* nas papilas de animais da dieta controle, indicariam que mudanças estariam ocorrendo devido à alimentação com alta densidade energética.

Deve-se considerar um certo grau de resposta imune devido ao comportamento autoprotetor das células, o que não necessariamente pode resultar em mudanças físicas visíveis como, lesões epiteliais, redução no CMS e queda no desempenho produtivo. Além disso, é importante notar que a expressão relativa do mRNA é usada para indicar a resposta molecular do hospedeiro às mudanças na dieta, mas não reflete necessariamente a quantidade de proteína funcional presente na célula (STEELE et al., 2012).

5. Conclusão

O FGMS pode substituir parcialmente o milho grão moído ou totalmente o farelo de soja e ser utilizado como fonte de proteína e energia em dietas de terminação de bovinos confinados.

O maior nível de inclusão de FGMS contribuiu com o consumo e desempenho produtivo sem alteração na morfologia e histologia das papilas ruminais, parâmetros metabólicos sanguíneos e hepáticos, bem como na expressão de genes relacionados a absorção e transporte de AGGC, proteção da barreira epitelial e receptores de respostas inflamatórias.

6. Literatura Citada

Abdoun K, Stumpff F, Rabbani I, and Martens, H. 2010. Modulation of urea transport across sheep rumen epithelium in vitro by SCFA and CO₂. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 298, 190-202.

Allen DM and Grant R. 2000. Interactions between forage and wet corn gluten feed as sources of fiber in diets for lactating dairy cows, *Journal of dairy science* 83, 322-331.

Allen MS. 2020. Review: Control of feed intake by hepatic oxidation in ruminant animals: integration of homeostasis and homeorhesis. *Animal* 14, 55-64.

Antunes RC, Rodriguez MN, and Saliba EOS. 2011. Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: Berchielli TT, Pires AV, Oliveira AG. *Nutrição de Ruminantes* 2, 239-263.

AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. Assoc. Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Ávila SLC, Oliveira CO, Rodrigues TA, Tavares AT, Soares SL, Costa SLC, Ferraz A, Ledur MC, Anciuti MA and Bongalhard DC. 2020. Replacement of corn and soybean meal with corn gluten feed meal on rooster's diet. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 44, 798-804.

Baker GA and Guilbert HR. 1942. Non-randomness of variations in daily weights of cattle. *Journal of Animal Science* 1, 293-299.

Barducci RS. 2013. Protocolos e durações de adaptação às dietas com alta inclusão de concentrados para bovinos Nelore confinados. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.

Beauchemin KA and Koenig KM. 2005. Feedlot cattle diets based on barley or corn supplemented with dry corn gluten feed evaluated using the NRC and CNCPS beef models. *Canadian Journal of Animal Science* 85, 365-375.

- 1 Bergman EN. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal
2 tract in various species. *Physiological Reviews* 70, 567-590.
- 3 Bigham ML and McManus WR. 1975. Whole wheat grain feeding of lambs. Effects of
4 roughage and wheat grain mixtures. *Australian Journal of Agricultural Research* 26,
5 1053-1062.
- 6 Brink DR, Lowry SR and Stock RA. 1990. Severity of liver abscesses and efficiency of
7 feed. *Journal of Animal Science* 68, 1201-1207.
- 8 Brossard L, Martin C and Michalet-Doreau B. 2003. Ruminal fermentative parameters
9 and blood acido-basic balance changes during the onset and recovery of induced latent
10 acidosis in sheep. *Animal Research* 52, 513-530.
- 11 Bustin SA, Benes V, Garso JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, Mueller R, Nolan T,
12 Pfaffl MW, Shipley GL, Vandesompele J and Wittwer CT. 2009. The MIQE guidelines:
13 minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical*
14 *Chemistry* 55, 611-622.
- 15 Correia SG, Ell SC, Pringle JH and Teixeira NA. 2004. Patterns of uterine cellular pro-
16 liferation and apoptosis in the implantation site of the rat during pregnancy. *Placenta* 25,
17 538–547.
- 18 Costa SF, Pereira MN, Melo LQ, Resende Júnior JC and Chaves ML. 2008. Alterações
19 morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epi-
20 derme de bezerras. I Aspectos histológicos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária*
21 *e Zootecnia* 60, 1-9.
- 22 Daniel JLP, Resende Júnior JC and Cruz FJ. 2006. Ruminoreticulum and omasum partic-
23 ipation the bovine total absorptive surface. *Brazilian Journal of Veterinary Research and*
24 *Animal Science* 43, 688-694.
- 25 Dieho K, Bannink A, Geurts IA, Schonewille JT, Gort G and Dijkstra J. (2016). Morpho-
26 logical adaptation of rumen papillae during the dry period and early lactation as affected
27 by rate of increase of concentrate allowance. *Journal of Dairy Science* 99, 2339-2352.
- 28 Darabighane B, Aghjehgheshlagh MF, Mahdavi A, Navidshad B and Bernard, JK. 2020.
29 Effects of inclusion of corn gluten feed in dairy rations on dry matter intake, milk yield,

- 1 milk components, and ruminal fermentation parameters: a meta-analysis. *Tropical Ani-*
2 *mal Health Production* 52, 2359–2369.
- 3 Dragomi C, Smaranda P, Florescu N and Vlassa M. 2008. The effect of replacing dietary
4 barley with dry corn gluten feed on the dynamics of ruminal Ph. *Archiva Zootechnica* 11,
5 16-23.
- 6 Ferraz ED, Silveira BBB, Sarmiento VA and Santos JN. 2011. Toll-Like Receptors: reg-
7 ulation of the immune responses: Review. *Revista Gaúcha de Odontologia* 59, 483-490.
- 8 Firkins JL, Berger LL, Fahey GC and Merchen NR. 1984. Ruminal nitrogen degradability
9 and escape of wet and dry distillers grains and wet and dry corn gluten feeds. *Journal of*
10 *Dairy Science* 67, 1936-1944.
- 11 Fox DG, Tedeschi LO, Tylutki TP, Russell JB, Van Amburgh ME, Chase LE, Pella AN
12 and Overton TR. 2004. The cornell net carbohydrate and protein system model for eval-
13 uating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology* 112,
14 29–78.
- 15 Graham C, Gatherer I, Haslam I, Glanville M and Simmons NL. 2007. Expression and
16 localization of monocarboxylate transporters and sodium/proton exchangers in bovine
17 rumen epithelium. *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Compar-*
18 *ative Physiology* 292, 997-1007.
- 19 González FHD and Silva SC. 2006. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. 2.ed.
20 Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- 21 Hankins SL, Arseneau JD, Lemenager RP, and Sutton AL. 2005. Performance, carcass
22 traits, and nutrient excretion of beef feedlot cattle fed a corn gluten feed diet. *The Profes-*
23 *sional Animal Scientist* 21,1-6.
- 24 Hao X, Gao H, Wang X, Zhang G and Zhang Y. 2017. Replacing alfalfa hay with dry
25 corn gluten feed and Chinese wild rye grass: Effects on rumen fermentation, rumen mi-
26 crobial protein synthesis, and lactation performance in lactating dairy cows, *Journal of*
27 *dairy science* 100, 2672-2681.
- 28 Heinrichs J and Kononoff P. 2004. Evaluating particle size of forages and TMRs using
29 the new Penn State Particle Size Separator. Department of Dairy and Animal Science,
30 Penn State University. DAS 02-42.

- 1 Jing XP, Peng QH, Hu R, Zou HW, Wang HZ, Yu XQ and Wang ZS. 2018. Dietary sup-
2 plements during the cold season increase rumen microbial abundance and improve rumen
3 epithelium development in tibetan sheep. *Journal of Animal Science* 96, 293–305.
- 4 Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. 2008. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6.ed.
5 San Diego: Academic Press, 916.
- 6 Kampman KA and Loerch SC. 1988. Effects of dry com gluten feed on cattle feedlot
7 performance and fiber digestibility. *Journal of Animal Science* 67, 501-512.
- 8 Krehbiel CR, Stock RA, Herold DW, Shain DW, Ham GA and Carulla JE. 1988. Feeding
9 wet corn gluten feed to reduce subacute acidosis in cattle. *Journal of Animal Science* 73,
10 293-2939.
- 11 Leonardi C and Armentano LE. 2003. Effect of quantity, quality and length of alfalfa hay
12 on selective consumption by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 86, 557-564.
- 13 Lofgreen GP and Garret WNA. 1968. A system for expressing net energy requeriments
14 and feed values for growing and finishing beef cattle. *Journal of Animal Science* 27, 793-
15 806.
- 16 Macken CN, Erickson GE, Klopfenstein TJ, Milton CT and Stock RA. 2004. Effects of
17 dry, wet, and rehydrated corn bran and corn processing method in beef finishing diets.
18 *Journal of Animal Science* 82, 3543-3548.
- 19 McCann JC, Luan S, Cardoso FC, Derakhshani H, Khafipour E and Loor JJ. 2016. In-
20 duction of subacute ruminal acidosis affects the ruminal microbiome and epithelium.
21 *Frontiers Microbiome* 7, 701.
- 22 Mertens DR. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber
23 in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *Journal of AOAC*
24 *International* 85, 1217–1240.
- 25 Moscardini MC. 2008. Substituição do milho moído fino por polpa cítrica e/ou farelo de
26 glúten de milho em rações para bovinos terminados em confinamento. Dissertação (Mes-
27 trado em Ciência Animal e Pastagem) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,
28 Universidade de São Paulo.

- 1 Müller F, Huber K, Pfannkuche H, Aschenbach JR, Breves G and Gabel G. 2002.
2 Transport of ketone bodies and lactate in the sheep ruminal epithelium by monocarbox-
3 ylate transporter 1. American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physi-
4 ology 283, 1139-1146.
- 5 Mullins C, Grigsby K, Anderson D, Titgemeyer E and Bradford B. 2010. Effects of feed-
6 ing increasing levels of wet corn gluten feed on production and ruminal fermentation in
7 lactating dairy cows, Journal of dairy science 93, 5329–5337.
- 8 Odongo NE, Alzahal Ó, Lindinger ML, Duffield TF, Valdes EV, Terrell SP and McBride
9 BW. 2006. Effects of mild heat stress and grain challenge on acid-base balance and rumen
10 tissue histology in lambs. Journal of Animal Science 84, 447–455.
- 11 Pacheco PS, Restle J, Vaz FN, Freitas AKD, Pádua JT, Neumann M and Arboitte MZ.
12 2006. Avaliação econômica da terminação em confinamento de novilhos jovens e super-
13 jovens de diferentes grupos genéticos. Revista Brasileira de Zootecnia 35, 309-320.
- 14 Pan LF, Yu L, Wang LM, He JT, Sun JL, Wang XB, Bai ZH, Wang H, Yan TL and Pei
15 HH. 2017. The Toll-like receptor 4 antagonist TAK-242 protects against chronic pancre-
16 atitis in rats. Molecular Medicine Reports 16, 3863-3868.
- 17 Pederzoli RA, Van Kessel AG, Campbell J, Hendrick S, Wood KM and Penner
18 GB. 2018. Effect of ruminal acidosis and short-term low feed intake on indicators of gas-
19 trointestinal barrier function in Holstein steers. Journal of Animal Science 96, 108-125.
- 20 Pereira MC, Cruz GD, Arrigoni MD, Rigueiro AL, Silva J, Carrara TV, Santos PC, Cur-
21 sino LL and Millen DD. 2016. Relationships of feedlot performance, feeding behavior,
22 rumen morphometrics, and carcass characteristics of Nellore cattle differing in pheno-
23 typic residual feed intake. Journal of Animal Science 94, 4287-4296.
- 24 Pereira ED, Santos FAP, Bittar CMM, Ramalho RR, Costa DFA and Martinez JC. 2007.
25 Substituição do milho por farelo de trigo ou farelo de glúten de milho na ração de bovinos
26 de corte em terminação. Acta Scientiarum 29, 49-55.
- 27 Pereira FTV, Braga FC, Burioli KC, Kfoury, JR, Oliveira LJ, Papa PC, Carvalho AF,
28 Ambrósio CE, Bazer FW and Miglino M.A. 2010. Transplacental transfer of iron in the
29 Water buffalo (*Bubalus bubalis*): uteroferrin and erithrophagocytosis. Reproduction in
30 Domestic Animals 45, 907–914.

- 1 Pfaff MW. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time
2 RT-PCR. *Nucleic Acids Research* 29, e45.
- 3 Pinto ANJ and Millen DD. 2018. Nutritional recommendations and management prac-
4 tices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. *Canadian Journal*
5 *of Animal Science* 99, 392-407.
- 6 Reddy KE, Jeong JY, Baek YC, Oh YK, Kim M, So KM, Kim MJ, Kim DW, Park SK,
7 Lee HJ. 2017. Early weaning of calves after different dietary regimens affects later rumen
8 development, growth, and carcass traits in Hanwoo cattle. *Asian-Australasian Journal of*
9 *Animal Sciences* 30, 1425–1434.
- 10 Resende Júnior JC, Alonso LS, Pereira MN, Roca MGM, Duboc MV, Oliveira EC and
11 Melo LQ. 2006. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and
12 sheep. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* 43, 526-536.
- 13 Richards CJ, Stocks RA, Klopfensteink TJ and Shain DH. 1998. Effect of corn gluten
14 feed, supplemental protein, and tallow on steer finishing performance. *Journal of Animal*
15 *Science* 76, 421-428.
- 16 Robles V, González LA, Ferret A, Manteca X, Calsamiglia S. 2007. Effects of feeding
17 frequency on intake, ruminal fermentation, and feeding behavior in heifers fed high-con-
18 centrate diets *Journal of Animal Science*, 85, 2538-2547.
- 19 Santos FAP, Pereira EM and Pedroso AM. 2004. Suplementação energética de bovinos
20 de corte em confinamento. In: *Simpósio sobre Bovinocultura de Corte. Anais...* Piraci-
21 caba: Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, 261-297.
- 22 Sapna, Chaudhary DP, Kumar R, Mandhania S, Srivastava P, Kumar A and Kumar RS.
23 2012. Corn To Ethanol: Retrospect’s And Prospects, Maize: Leading To A New Para-
24 digm. Directorate of maize research. Technical Bulletin, 28.
- 25 Silva DJ and Queiroz AC. 2002. *Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)*.
26 3.ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 235.
- 27 Sindt MH, Stock RA, Klopfenstein TJ and Vieselmeyer BA. 1993. Protein sources for
28 finishing calves as affected by management system. *Journal of Animal Science* 71, 1047-
29 1056.

- 1 Simmons NL, Chaudhry AS, Graham C, Scriven ES, Thistlethwaite A, Smith CP and
2 Stewart GS. 2009. Dietary regulation of ruminal bovine UT-B urea transporter expression
3 and localization. *Journal of Animal Science* 87, 3288-3299.
- 4 Stelzleni AM, Segers JR, Stewart RL. 2016. Long-term use of corn coproducts as a source
5 of protein in beef finishing diets and the effects on carcass characteristics and round mus-
6 cle quality. *Journal of Animal Science* 94, 1227-1237.
- 7 Stock R, Klopfenstein T and Shain D. 1983. Feed intake variation. In: Symposium feed
8 intake by feedlot cattle. Stillwater: Oklahoma State University, 56-59.
- 9 Stumpff F, Martens H, Bilk S, Aschenbach JR and Gäbel G. 2009. Cultured ruminal epi-
10 thelial cells express a large-conductance channel permeable to chloride, bicarbonate, and
11 acetate. *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology* 457, 1003-1022.
- 12 Triantafilou M, Triantafilou K. 2005. The dynamics of LPS recognition: complex orches-
13 tration of multiple receptors *Journal of Endotoxin Research* 11, 5-11.
- 14 Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral de-
15 tergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of*
16 *Dairy Science* 74, 3583-3597.
- 17 Weigel JC, Loy D and Kilmer L. 1997. Feed Co-products of the Corn Wet Milling Pro-
18 cess. Washington DC. Renewable Fuels Association, 11-12.
- 19 Wu YV. 1998. Neutral sugar contents of corn gluten feed and corn gluten meal. *Journal*
20 *of Agricultural and Food Chemistry* 44, 136-138
- 21 Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S and Adden TL. 2012. Primer-
22 BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bi-*
23 *oinformatics* 13, 134.
- 24 Xie F, Xiao P, Chen D, Xu L and Zhang B. 2012. miRDeepFinder: a miRNA analysis
25 tool for deep sequencing of plant small RNAs. *Plant molecular biology* 80, 75-84.
- 26 Zhang R, Zhu W, Mao S. 2016. High-concentrate feeding upregulates the expression of
27 inflammation-related genes in the ruminal epithelium of dairy cattle. *Journal of Animal*
28 *Science and Biotechnology* 7, 1-13.

1 Zinn RA and Shen Y. 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and
2 metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. Journal of Animal Science 76,
3 1280-1289.