



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Fernanda Gomes Bezerra da Silva

**EXTRATO DE PRÓPOLIS E MONENSINA SÓDICA SOBRE
OS PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL E
HEMATOLÓGICOS DE OVINOS**

**PETROLINA – PE
2013**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Fernanda Gomes Bezerra da Silva

**EXTRATO DE PRÓPOLIS E MONENSINA SÓDICA SOBRE
OS PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL E
HEMATOLÓGICOS DE OVINOS**

Trabalho apresentado à Universidade Federal do Vale do São Francisco-UNIVASF, como requisito da obtenção de título de Mestre em Ciência Animal
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Mari Yamamoto
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a Eva Mônica Sarmento da Silva

PETROLINA – PE
2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernanda Gomes Bezerra da Silva

**EXTRATO DE PRÓPOLIS E MONENSINA SÓDICA SOBRE
OS PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL E
HEMATOLÓGICOS DE OVINOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, pela Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Dr^a. Sandra Mari Yamamoto
Univasf

Dr^a. Rossana Herculano Clementino
UAST/ UFRPE

Dr. Mario Adriano Ávila Queiroz
Univasf

Petrolina, 26 de agosto de 2013.

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais Fernando Bezerra e Ivanda Gomes, com amor, admiração e gratidão
pelo incansável apoio ao longo de toda a minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades e mostrar os caminhos nas horas incertas.

Aos meus pais Fernando Bezerra e Ivanda Gomes, pelo apoio e amor incondicional durante toda a minha vida e por serem para mim exemplos de retidão, hombridade e de incessante busca pelo conhecimento. Amo vocês!

As minhas irmãs, Joana, Ivana e Ana Beatriz, que mesmo distantes sempre me apoiaram e se fizeram presentes com palavras de incentivo e amor.

A Juliana Andrade por ter me encorajado a enfrentar esse desafio, pela amizade e apoio, sempre com palavras de incentivo e carinho. Obrigada!

À Universidade Federal do Vale do São Francisco e ao Colegiado de Pós Graduação em Ciência Animal.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Sandra Mari Yamamoto, pelos ensinamentos, apoio, confiança e amizade. Obrigada pela oportunidade de trabalharmos juntas, pela dedicação e participação na minha formação.

À minha co-orientadora Prof^a Dr^a Eva Mônica Sarmiento, por ter me incentivado a cursar o mestrado e pelos ensinamentos, apoio e amizade.

Ao professor Dr. Mario Adriano Ávila Queiroz, pela participação em diversas fases da construção dessa dissertação, pelo apoio e também confiança e credibilidade.

À querida amiga Patricia Rosa, pela amizade, companheirismo, conselhos e todo o apoio. Obrigada amiga!

Aos colegas de mestrado por toda amizade e bons momentos nesses dois anos de mestrado. Em especial Allan Leandro pela paciência e apoio técnico na realização das análises laboratoriais.

À Daniela Pionorio pela amizade, atenção e pelo apoio intelectual e operacional.

A todos os membros do grupo de estudos e pesquisa em caprinos e ovinos (GEPCO), em especial a Marcela Formiga, Layse Gordiano, Rodrigo Reis, Cintia Araujo, Manoel Falcão e Elanio. Pela amizade, companheirismo e por todo o apoio.

Obrigada a todos, sem essa equipe maravilhosa não teria conseguido concluir este trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a finalização desta etapa tão importante da minha vida. Obrigada!

*Eu sou de uma terra que o povo padece
Mas não esmorece e procura vencer.
Da terra querida, que a linda cabocla
De riso na boca zomba no sofrer
Não nego meu sangue, não nego meu nome
Olho para a fome, pergunto o que há?
Eu sou brasileiro, filho do Nordeste,
Sou cabra da Peste, sou do Ceará.*

Cabra da peste - Patativa do Assaré

RESUMO

Diante da busca por alimentos seguros, oriundos de animais isentos de antibióticos aditivos e promotores de crescimento, a própolis surge como uma alternativa por possuir ação bacteriostática sobre bactérias gram-positivas. Avaliou-se os efeitos do extrato etanólico de própolis e da monensina sódica sobre o consumo de matéria seca, a digestibilidade de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal e hematológicos de seis ovinos adultos machos castrados, com peso corporal médio de 62 Kg e canulados no rúmen. Os animais foram distribuídos em um delineamento quadrado latino 6 x 6, com seis animais, seis períodos experimentais e seis tratamentos: T1- Testemunha – sem adição de própolis na ração; T2 – 6 mL de extrato etanólico de própolis (EEP) por dia; T3 – 12 mL de EEP/ dia; T4 –24 mL EEP/ dia; T5–36 mL de EEP/ dia e T6 – ração contendo monensina sódica (30mg MS/Kg de concentrado). Os animais receberam dieta com proporção volumoso:concentrado 50:50, sendo utilizado como volumoso, o capim elefante triturado. Cada período experimental durou 19 dias, sendo 14 dias para adaptação dos animais aos tratamentos e cinco dias para coleta de amostras. As ingestões dos nutrientes contidos na matéria seca e a digestibilidade, foram determinadas a partir das análises químico-bromatológicas das rações, sobras e fezes. Para caracterizar os parâmetros de fermentação ruminal foram avaliados o pH ruminal e o teor de N amoniacal, nos tempos (0,2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22, e 24 horas pós-prandial). Para a determinação dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e séricos plasmáticos foram realizadas coletas de sangue no início e ao final de cada período. A adição do extrato etanólico de própolis nas doses de 6, 12, 24 e 36 mL/dia e monensina sódica não alterou os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (79,40%), proteína bruta (77,00%), fibra em detergente neutro (86,89%), fibra em detergente ácido (69,67%), hemicelulose (96,19%) e matéria orgânica (79,42%). Com relação a ingestão de matéria seca os ovinos alimentados com adição de monensina sódica apresentaram redução de 11,6% (1763,44 g/dia) em relação aos ovinos que receberam extrato etanólico de própolis (1987,90 g/dia). A inclusão dos aditivos influenciou o pH ruminal, observando-se valores mais elevados nos ovinos alimentados com monensina sódica (6,13). Com relação aos teores de N amoniacal não houve efeito da inclusão dos aditivos e os valores médios (7,33mg/dL) mantiveram-se acima do mínimo(5mg/dL) ideal para atividade microbiana. Os parâmetros bioquímicos séricos de glicose (59,43mg/dL), uréia (8,91mg/dL), proteínas totais (6,78 g/dL) e albumina (2,45g/dL) mantiveram-se dentro dos níveis de referência para a espécie ovina. A monensina sódica foi mais eficiente ao manter o pH ruminal em níveis mais elevados e diminuir a ingestão de matéria seca. Porém a adição dos extratos etanólicos de própolis não influenciou negativamente a digestibilidade dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas com relação volumoso concentrado 50:50.

Palavras-chave: Nutrição, ionóforos, bactérias, rúmen, sangue ovino

ABSTRACT

Before the search for safe food from animals free of antibiotics and growth promoters additives, propolis is an alternative to possess bacteriostatic effect on gram-positive bacteria. We evaluated the effects of ethanol extract of propolis and monensin on dry matter intake, nutrient digestibility and ruminal fermentation parameters and hematological sheep. We used six adult, castrated, male sheep, mean body weight of 62 kg and cannulated in the rumen, kept in individual pens containing feeder and drinker. The animals were allotted in a 6 x 6 Latin square with six animals, six experimental periods and six treatments: T1-Control - without the addition of propolis in the feed; T2 - 6 mL of ethanol extract of propolis (EEP) per day; T3 - 12 mL of EEP / day; EEP T4 -24 mL / day; T5-EEP 36 mL / day and T6 - feed containing monensin (30 mg DM / kg of concentrate). The animals were fed with forage: concentrate ratio 50:50 , and is used as forage grass elephant crushed. Each experimental period lasted 19 days, fourteen of which were for adaptation to treatments and five days for collection of samples. Intakes of nutrients and dry matter digestibility were determined from chemical, qualitative analyzes of feed, feces and remaining. To characterize the ruminal fermentation, parameters were evaluated ruminal pH and ammonia N content, in time (0,2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22 and 24 hours post-prandial). For the determination of hematological, serum biochemical and plasma blood samples were taken at the beginning and end of each period. The addition of ethanol extract of propolis at doses of 6, 12, 24 and 36 mL / day and monensin did not alter the apparent digestibility of dry matter (79.40), crude protein (77.00), detergent fiber neutral (86.89), acid detergent fiber (69.67), hemicellulose (96.19) and organic matter (79.42). With respect to dry matter intake sheep fed monensin sodium decreased by 11.6% (1763.44 g / day) compared to sheep that received ethanol extract of propolis (1987.90 g / day). The inclusion of additives influenced the ruminal pH, observing higher values in sheep fed monensin (6.13) with respect to N ammonia there was no effect of the inclusion of additives and the average values (7.33 mg / dL) remained above the minimum (5mg/dL) ideal for microbial activity. There were no significant changes in hematological parameters. There were no significant changes in hematological parameters. The biochemical serum glucose (59.43 mg / dL), urea (8.91 mg / dL), total protein (6.78 g / dL) and albumin (2.45 g / dl) remained within the reference levels for sheep. The monensin was more efficient to keep the rumen pH at higher levels and decrease the intake of dry matter. But the addition of propolis ethanol extract did not influence the digestibility of nutrients in sheep fed diets with roughage concentrate ratio of 50:50.

Keywords: Nutrition, ionophores, bacteria, rumen, sheep blood

LISTAS DE FIGURAS

- Figura 1.** Valores de pH ruminal em função do tempo após a alimentação de ovinos alimentados com diferentes doses de extrato etanólico de própolis e monensina sódica..... 50
- Figura 2.** . Valores da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃ mg/mL) ruminal em função do tempo após a alimentação, de ovinos alimentados com diferentes doses de extrato etanólico de própolis e monensina sódica. 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição químico-bromatológica dos ingredientes da dieta (capim elefante e concentrado) e a dieta experimental	43
Tabela 2. Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes da ração contendo diferentes níveis de adição de extrato etanólico de própolis (EEP) ou monensina sódica em ovinos	47
Tabela 3 Valores médios para o pH ruminal e para as concentrações de nitrogênio amoniacal(N-NH ₃ ; mg de N/100mL) em ovinos recebendo dietas contendo diferentes níveis de adição de extrato etanólico de própolis (EEP) ou monensina sódica.....	49
Tabela 4. Eritrograma sanguíneo de ovinos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis e monensina sódica	52
Tabela 5. Leucograma de ovinos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis e monensina sódica	53
Tabela 6. Parâmetros bioquímicos de ovinos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis e monensina sódica.....	54

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. Ovinocultura de corte no Brasil.....	14
2.2. Manipulação da fermentação Ruminal.....	15
2.3. Aditivos ionóforos na nutrição de ruminantes: Monensina Sódica.....	17
2.4. Uso da própolis como aditivo na alimentação de ruminantes.....	19
2.5. Parâmetros Ruminais	23
2.5.1 pH ruminal	24
2.5.2 Nitrogênio amoniacal.....	26
2.6 Parâmetros Hematológicos e Bioquímicos séricos.....	27
3. REFERÊNCIAS.....	31
ARTIGO – Extrato de própolis e monensina sódica sobre os parâmetros de fermentação ruminal e hematológicos de ovinos.....	39
RESUMO.....	39
INTRODUÇÃO.....	40
MATERIAL E MÉTODOS	42
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
CONCLUSÕES.....	55
REFERÊNCIAS	55

1. INTRODUÇÃO

O rebanho ovino no Brasil apresenta um total de 17.662.201 de cabeças, destes, 10.110.352 (57,24%) encontram-se na região Nordeste (IBGE, 2011). No entanto, apesar de deter o maior rebanho efetivo do país, fatores como manejo deficiente ou inexistente, baixa tecnificação das propriedades e alta incidência de doenças parasitárias, sobretudo endoparasitas, prejudicam o ganho de peso, depreciando as qualidades físicas e sensoriais da carne de animais abatidos tardiamente.

Com o intuito de intensificar a produção de carne, minimizar ou prevenir a incidência de doenças, reduzir a idade ao abate e conseqüentemente melhorar a qualidade dos produtos de origem animal, tem se tornado comum o uso de aditivos alimentares, principalmente antibióticos ionóforos. Segundo Stradiotti Jr. (2004b) os ionóforos atuam sobre a microbiota do rúmen, eliminando ou inibindo as bactérias gram-positivas, principais responsáveis pela desaminação de aminoácidos e produtoras de gases indesejáveis como metano e amônia e aumentando a produção de propionato e os níveis de glicose sanguínea, melhorando a eficiência alimentar. No entanto, se administrados em quantidades excessivas podem levar os animais à morte por intoxicação, além de deixar resíduos na carne (BRASIL, 2006).

Atualmente, a classe consumidora busca alimentos seguros, e exige que esses sejam oriundos de animais alimentados com rações isentas de antibióticos aditivos e promotores de crescimento. Dessa forma, a própolis surge como uma alternativa segura, pois de acordo com Ghisalberti, (1979), possui propriedades farmacológicas de extrema importância como atividades antimicrobiana, antifúngica e antiprotozoária.

A atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição das bactérias classificadas como gram-positivas (GHISALBERTI, 1979; VARGAS et al., 1994; GOULART, 1995; PARK et al., 2000). Sendo assim espera-se que sua adição à ração iniba o crescimento de bactérias proteolíticas (HINO e RUSSELL, 1987) e conseqüentemente a desaminação e a proteólise, sobretudo influenciando na produção de gases, aumentando, desta forma, a eficiência alimentar por promover melhor aproveitamento dos alimentos. Além destes fatores, a própolis apresenta

vantagens em relação aos medicamentos por ser um produto natural, de fácil obtenção, economicamente viável e que não apresenta riscos de intoxicação tanto a animais quanto a humanos. Assim, com a determinação da real ação da própolis no rúmen de ovinos, e sua ação sobre a eficiência alimentar dos mesmos será possível utilizá-la como substituto de certos compostos medicamentosos, melhorando a produção de ovinos por produzir animais em menor tempo, com produtos mais seguros para o consumidor.

Diante do exposto, objetivou-se neste estudo, avaliar os efeitos do extrato etanólico de própolis sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros de fermentação ruminal e hematológicos de ovinos, comparativamente ao aditivo químico monensina sódica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ovinocultura de corte no Brasil

Apesar de possuir rebanho expressivo, a produção brasileira da ovinocultura de corte atual não atende a demanda do mercado consumidor interno, sendo necessária a importação de carne ovina, o que demonstra o alto potencial de crescimento da atividade no país. Diversos fatores afetam negativamente a estruturação da ovinocultura no Brasil, como, o sistema de baixo nível tecnológico, falta de frequência no fornecimento de animais para abate, baixo potencial genético dos animais, grande número de abatedouros e abates clandestinos e preços elevados (REIS, 2009).

O consumo per capita atual de carne ovina no Brasil é de aproximadamente 0,7 kg ficando bem abaixo do consumo de carne suína (14,8kg), bovina (36,5 kg) e de frango (44,7kg) (FNP 2011). O baixo consumo de carne ovina se deve a uma série de fatores como a falta de hábito de consumo pela população, irregularidade da oferta, má qualidade do produto colocado à venda, obtidos de animais de idade avançada, com quantidades elevadas de gordura na carcaça e carnes com menor maciez, além da falta de padronização dos cortes e embalagem da carne destinada ao consumidor (SEBRAE, 2005).

O sucesso da ovinocultura de corte depende de vários fatores, como potencial genético dos animais, manejo sanitário do rebanho, nutrição e práticas de alimentação adequadas além de visão de mercado de insumos (CARVALHO et al., 2005). Raças precoces especializadas têm sido introduzidas no rebanho nacional, visando melhores resultados zootécnicos e econômicos, para a produção de carne. Assim como o uso de estratégias de confinamento e suplementação alimentar vêm sendo adotadas em oposição aos sistemas tradicionais de terminação a pasto, com o objetivo de diminuir a idade ao abate e melhorar a qualidade da carcaça (MACEDO et al., 2000; SIQUEIRA e FERNANDES, 2000).

A alimentação representa a maior parte dos custos totais em sistemas de confinamento, sendo importante a busca por alternativas que ampliem a utilização de nutrientes, maximizando o aproveitamento da dieta fornecida. Nesse contexto a manipulação da fermentação ruminal, baseada no conhecimento dos processos fermentativos têm sido utilizada com o intuito de aumentar a digestibilidade das dietas e obter a máxima eficiência na produção animal (RIVERA, 2006).

2.2. Manipulação da fermentação Ruminal

De acordo com Czerkawski (1986), o rúmen é um ecossistema aberto que fornece habitat para o desenvolvimento dos microrganismos, estando presente neste compartimento uma das mais variadas e densas populações microbianas conhecidas na natureza.

Os microrganismos presentes no rúmen fermentam carboidratos e proteínas para obter os nutrientes necessários para seu crescimento, gerando ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), proteína microbiana e gases como metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) e hidrogênio (H_2) (BAKER, 1999). Os principais produtos resultantes da fermentação ruminal são os AGCC, que proporcionam 60 a 80 % da energia metabolizável pelos ruminantes e sua proporção molar é dependente da composição da dieta (BERCHIELLI et al., 2011). Os ácidos acético, propiônico e butírico são os de maior relevância, produzidos principalmente na fermentação de carboidratos, tais como celulose, hemicelulose, pectina, amido e açúcares (BERGMAN et al., 1990).

O excesso de H_2 no rúmen é eliminado pelas bactérias metanogênicas, que reduzem CO_2 para formar CH_4 (KOZLOSKI, 2009). A produção de acetato e butirato promove maior produção de CH_4 , através da maior concentração de H_2 . O metano e amônia produzidos durante o processo de fermentação representam perdas de energia e proteína do animal para o ambiente (RIBEIRO Jr., 2011).

Com o intuito de melhorar os processos benéficos e minimizar, alterar ou eliminar os processos ineficientes durante o processo fermentativo, os nutricionistas

tem feito uso da manipulação da fermentação ruminal. Um dos métodos de manipulação da fermentação ruminal mais utilizados consiste na inibição das bactérias gram-positivas, visando minimizar principalmente, a degradação da proteína do alimento, a absorção cíclica de amônia e a produção de metano (OLIVEIRA et al. 2005).

A desaminação de aminoácidos da proteína acarreta acúmulo de amônia no rúmen, levando à absorção cíclica desta e aumento da excreção de uréia através da urina, acarretando uma perda de energia e diminuição da eficiência de uso do nitrogênio alimentar. Ao inibir a degradação da proteína no rúmen, essa passará a ser digerida enzimaticamente no abomaso, ocasionando um aumento da eficiência do uso desse nutriente e conseqüentemente uma redução da contaminação do solo e cursos d'água pela diminuição da excreção de uréia (STRADIOTTI Jr., 2004b).

O metano, produzido durante a fermentação dos carboidratos no rúmen, pode representar uma perda de 2 a 12% da energia consumida pelos ruminantes para o meio (BAKER, 1999). A emissão de metano proveniente da fermentação ruminal varia de acordo com a espécie animal, o consumo de alimento e sua digestibilidade, o tipo e a quantidade de carboidratos na dieta e o processamento da forragem, assim como os níveis de ingestão da dieta (JOHNSON e JOHNSON, 1995)

A inibição das bactérias gram-positivas causa uma redução da produção de metano, acarretando benefícios ao desempenho do animal e redução da poluição ambiental, já que o metano é um dos gases responsáveis pelo efeito estufa, que segundo Cotton (1995) contribui com 15 % do aquecimento global.

A manipulação da fermentação ruminal visa também a redução da incidência de distúrbios metabólicos como a acidose láctica e o timpanismo. O primeiro pode acontecer com a presença de alta concentração de ácido láctico no rúmen de animais em confinamento que recebem dietas com alta concentração de amido e outros carboidratos rapidamente fermentescíveis no rúmen e o segundo em decorrência do acúmulo excessivo de gases provenientes da fermentação ruminal (SANTOS et al., 2012)

É neste contexto que a indústria de alimentação animal tem investido em pesquisas no desenvolvimento de aditivos alimentares. Substâncias que, não sendo

nutrientes ao serem administrados tem como efeito primário a melhoria da conversão alimentar e o ganho de peso, podendo ocorrer benefícios secundários, como, redução da incidência de distúrbios metabólicos como acidose e timpanismo, coccídeos, abscessos de fígado e outros (SANTOS et al., 2012).

2.3 Aditivos ionóforos na nutrição de ruminantes: Monensina Sódica

Aditivo é definido pela legislação brasileira como substância intencionalmente adicionada ao alimento, com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades desde que não prejudique seu valor nutritivo, como antibióticos, conservadores, pigmentantes, antioxidantes e outros (BRASIL, 1976).

Ainda de acordo com BRASIL (1976), são considerados aditivos, toda substância, microrganismo ou produto formulado, adicionado intencionalmente, não utilizado normalmente como ingrediente, que possua ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados a alimentação animal ou mesmo dos produtos de origem animal. E ainda, melhore o desempenho dos animais sadios, atenda às necessidades nutricionais ou tenha efeito anticoccidiano.

Os principais efeitos esperados dos aditivos alimentares são aumentar a eficiência alimentar e os ganhos diários (OLIVEIRA et al., 2005). Os aditivos podem ser classificados em: a) Tecnológicos; b) Sensoriais; c) Nutricionais; d) Zootécnicos e e) Anticoccidianos (Normativa SARC N°013 de novembro de 2004). Podem ser classificados em subgrupos funcionais em antibióticos ionóforos e não ionóforos, tampões, prébióticos, próbióticos, leveduras, própolis, entre outros, sendo que sua eficiência varia de acordo com a espécie.

Dentre os aditivos citados, os ionóforos, são provavelmente os mais pesquisados e amplamente utilizados em ruminantes, sendo conhecidos atualmente mais de 120 tipos, onde apenas a monensina e a lasalocida são liberadas pela legislação para uso em ruminantes. A mais utilizada é a monensina sódica, um antibiótico produzido por cepas de *Streptomyces Cinnamomensis*, que aumenta a performance animal, através da modificação da fermentação ruminal, podendo

também ocorrer respostas metabólicas indiretas, que não envolvam alterações na fermentação ruminal (OLIVEIRA et al., 2005).

É usada com a finalidade de melhorar a eficiência de utilização dos alimentos consumidos pelos animais, proporcionando aumento na produção de propionato, diminuição da produção de metano, da desaminação da proteína verdadeira e dos níveis de ácido láctico (NRC, 2001).

A monensina age no rúmen provocando mudanças na população microbiana, através da seleção das bactérias gram-negativas, produtoras de ácido succínico ou que fermentam ácido láctico, inibindo as gram-positivas, produtoras de ácido acético, butírico, láctico e H₂ (BERCHIELLI et al., 2011).

O mecanismo de ação da monensina está ligado a sua habilidade em alterar o fluxo de cátions através da membrana celular, sendo altamente lipofílica e com aptidão para se ligar a prótons, adere-se à membrana celular externa de bactérias gram-positivas que sendo rica em lipídios, catalisa a entrada ou saída dos íons. Inicialmente ocorre elevada saída de K⁺ e entrada de H⁺ para dentro da bactéria, o que ocasiona uma redução do pH e o desgaste energético ou morte da célula ao tentar estabilizar o pH, causando uma redução na população dessas bactérias no rúmen (RUSSEL e STROBEL, 1989).

Por agir selecionando as bactérias gram-negativas (RUSSEL e WALLACE, 1997) a monensina sódica modifica a produção de ácidos graxos de cadeia curta, ocasionando diminuição da produção molar dos ácidos acéticos e butírico (MCGUFFEY et al., 2001), e conseqüentemente a redução das produções de gases metano (CH₄) e carbônico (CO₂) (BAGG, 1997), concomitantemente ao aumento da proporção de ácido propiônico, seguido pela elevação das concentrações de propionato hepático, que estimula a gliconeogênese e eleva os níveis de glicose sanguínea (MASS et al., 2001).

A monensina age ainda em nível ruminal, inibindo o *Streptococcus bovis* (principal bactéria causadora da acidose láctica), controlando a produção de lactato. (DENNIS et al., 1981), a elevação do pH ruminal, principalmente em dietas com níveis elevados de grãos (RUSSELL, 1998) e diminui a concentração de amônia

ruminal, devido a menor degradação de peptídeos e aminoácidos no rúmen e aumentando o fluxo destes para o intestino delgado (HEGAZY e ELIAS, 1997).

Com relação aos efeitos da monensina sobre a performance de animais, (2006) e Oliveira et al., (2007) observaram a redução no consumo de matéria seca ao utilizar monensina na dieta de ovinos. Já Araujo e Fernandez, (1991) obtiveram aumento da digestibilidade da fibra e da proteína ao usar monensina em novilhos. A monensina é excretada rapidamente, no entanto existe a possibilidade de que a taxa de excreção metabólica seja excedida, podendo ocasionar efeitos tóxicos nos animais alimentados com dietas contendo monensina ou em humanos que consomem carne ou leite oriundos desses animais (BERCHIELLI et al., 2011).

Não obstante aos resultados positivos com o uso de ionóforos na produção animal, a resistência bacteriana a antibióticos em humanos tem sido relacionada ao consumo de produtos oriundo de animais que receberam antibióticos na alimentação (PENZ JR., 2003). De acordo com Berchielli et al., (2011), o uso de antibióticos na produção animal é considerado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) um risco para a saúde humana. Além disso, países importadores de produtos de origem animal têm apresentado exigências e restrições ao uso destes aditivos com o objetivo principal de garantir a saúde do consumidor.

Desta forma, os pesquisadores têm buscado alternativas visando a substituição de aditivos antibióticos na produção animal. Produtos naturais vêm sendo estudados com a finalidade de manipular a fermentação ruminal e aumentar a eficiência da produção. Dentre as alternativas mais pesquisadas estão os ácidos orgânicos, ácidos graxos, leveduras e extratos vegetais, destacando-se nessa última categoria a própolis por possuir inúmeras características de interesse.

2.4. Uso da própolis como aditivo na alimentação de ruminantes

A própolis é um produto natural, oriundo de substâncias resinosas coletadas pelas abelhas (*Apis mellifera*) de brotos folhas, exsudados de plantas e misturadas

às secreções salivares, cera e pólen. É utilizada na vedação e proteção da colméia contra o ataque de insetos e microrganismos (BRASIL, 2001).

A composição da própolis é complexa e varia de acordo com a ecologia da flora da região que as abelhas visitam (GHISABERTI, 1979). De modo geral, a própolis é composta por 47% de resina, 30% de ceras, 5% de pólen, 4 a 15% de substâncias voláteis, ácidos graxos, alcoóis aromáticos, ésteres, flavonóides, 13% de substâncias desconhecidas, vitaminas B₁, B₂, B₆ C e E₁, minerais como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e açúcares como frutose, sacarose e maltose (BURDOCK, 1998).

Mais de 300 compostos químicos já foram identificados na própolis, entre eles flavonóides, ácidos graxos, ácidos aromáticos, terpenóides, aldeídos, alcoóis, ácidos alifáticos, ésteres e açúcares (PEREIRA et al., 2002). O maior grupo é constituído pelos flavonóides (flavonas, flavonóis, flavononas, dihidroflavonóis), seguidos por minerais e vitaminas (BANKOVA et al., 1992, COELHO, 2010), sendo os flavonóides são considerados os maiores responsáveis pela atividade antimicrobiana.

Os flavonóides são considerados os principais responsáveis pelas propriedades farmacológicas da própolis, como agente antiparasitário, antiviróticos, antioxidante e antibacteriano (BANKOVA et al., 1992; PARK et al., 2000 ;STRADIOTTI et al., 2004b). Flavonóides são compostos fenólicos de baixo peso molecular que possuem um núcleo flavona como base, formado por 15 carbonos dispostos em configuração C6-C3-C6, sendo que a atividade química destes e de seus metabólitos depende da estrutura química e da orientação relativa das partes da molécula (COOK e SAMM, 1996). Os flavonóides mais comumente encontrados na própolis são: campeferol, quercetina, galangina, apigenina, luteonina, crisina e naringenina (SILVA, 2009). A composição química da própolis influencia diretamente em suas propriedades biológicas, e como existe uma variação muito grande nessa composição, há uma dificuldade em seu uso como fitoterápico.

Uzel et al. (2005), identificaram atividade antimicrobiana da própolis contra *Streptococcus sobrinus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *C. tropicalis*, *Salmonella typhimurium* e *P. aeruginosa*, onde os principais compostos encontrados nas própolis eram os

flavonóides (pinocembrina, pinostropina, isalpinina, pinobanksina, quercetina, naringenina, galangina e crisina).

A própolis desempenha ação bacteriostática sobre bactérias gram-positivas e algumas gram-negativas, aparentemente através da modificação do status bioenergético da membrana bacteriana e inibição de sua motilidade, agindo de maneira semelhante à atividade dos ionóforos (MIRZOEVA et al.,1997)

Pinto et al.(2001) detectaram a atividade antimicrobiana da própolis, avaliando a sensibilidade *in vitro* de bactérias gram-positivas e gram-negativas isoladas do leite de vacas com mastite, a diferentes extratos de própolis e observaram que a própolis detém maior poder antibacteriano sobre as espécies gram-positivas, com pouca ou nenhuma eficácia sobre as espécies gram-negativas.

O processo de extração da própolis exerce influência direta sobre sua qualidade. Cunha et al. (2004) avaliando a influência do processo de extração de própolis oriundas da região sudeste do Brasil sobre o rendimento e teor de fenóis totais, verificaram maiores rendimentos com uso de 70% ou mais de etanol no solvente.

Park et al., (1998) avaliando o uso de água e concentrações de etanol, verificaram que a maioria dos flavonóides foi extraída nas concentrações alcoólicas entre 60 e 80%, apresentando inibição satisfatória do crescimento microbiano, com grande atividade antioxidante nos extratos etanólicos a 70 e 80%.

Diversos estudos vêm sendo realizados para testar a eficácia da própolis na manipulação da fermentação ruminal. Oliveira et al. (2006) avaliaram os efeitos *in vitro* da monensina e da própolis sobre a fermentação de aminoácidos e observaram que a própolis foi mais eficiente em diminuir a produção de amônia que a monensina.

Lana et al. (2005) não observaram interferência do extrato de própolis a 30% sobre consumo, digestibilidade, produção e composição do leite e parâmetros de fermentação ruminal ao avaliar a inclusão de óleo de soja ou 10mL de extrato etanólico de própolis na alimentação de cabras leiteiras recebendo dietas com relação volumoso concentrado 65:35.

Stradiotti Jr. et al., (2004b), avaliando a ação da própolis sobre a fermentação ruminal, realizaram estudos *in vivo* e *in vitro* e observou que o extrato de própolis não afetou, as concentrações de amônia e proteína microbiana, o pH ruminal e as proporções molares de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), no entanto observou aumento da concentração total de AGCC e diminuição da atividade de produção de amônia pelos microrganismos ruminais.

Ao avaliar a ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos Stradiotti Jr. Etal., (2004a) observaram que o extrato de própolis diminuiu a produção total de gases para carboidratos fibrosos, e elevou a taxa de digestão específica para carboidratos fibrosos e não fibrosos. Os autores afirmou que a redução na produção de gases deveu-se ao efeito da própolis em aumentar a concentração molar de propionato, causando uma diminuição da relação acetato: propionato.

Os mesmos autores trabalhando com diferentes diluições de extrato de própolis (0; 13,7; 33,3 e 66,7%) comparados à monensina sódica, observaram que a diluição do extrato de própolis a 66,7% foi mais eficiente em comparação à monensina, com menor produção final de gases. Esse resultado pode ser atribuído à ação da própolis sobre a produção de formato e H₂ e a inibição das bactérias fermentadoras de celulose e produtoras de acetato.

Ítavo et al., (2011) avaliando cordeiros confinados recebendo dieta com própolis verde proveniente de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*), própolis marrom proveniente de alecrim-do-campo e assa-peixe (*Vernonia polysphaera*) ou monensina sódica observou maior consumo de matéria seca e fibra em detergente neutro nos animais que receberam dieta controle e com própolis verde. Os autores concluíram que o extrato alcoólico a 30% de própolis verde, na dosagem de 15 mL, não deve ser utilizado em dietas para ovinos em confinamento, por ter proporcionado menor ganho de peso (219,53 g/dia) e pior conversão alimentar (5,12), tendo a própolis marrom (ganho de 224,69 g/dia e conversão de 4,58) apresentado potencial de uso como aditivo em substituição a monensina sódica (ganho de 224,69 g/dia e conversão de 4,51).

Prado et al. (2010) testaram efeitos da utilização de produtos contendo própolis em duas concentrações na alimentação de bovinos e constataram que os consumos médios de matéria seca não foram afetados pela dieta, porém observaram redução na digestibilidade total da matéria seca, proteína bruta e nutrientes digestíveis totais nos animais que receberam dieta contendo própolis e monensina. O valores de pH ruminal foram menores nos bovinos alimentados com dietas contendo própolis (controle:6,37; monensina: 6,43; própolis: 6,24) com maior produção de acetato (controle: 59,03; monensina: 57,08; própolis: 64,85), AGCC totais tendo a monensina proporcionado a menor razão acetato:propionato (controle: 4,23; monensina: 3,65; própolis: 4,33).

Zawadzki et al., (2011) avaliaram a capacidade de produto a base de própolis em substituir a monensina sódica no desempenho de novilhos Nelores terminados em confinamento, e verificaram que o ganho médio diário em kg/dia e o peso vivo final, foram superiores para a própolis (1,17 kg/dia; 501kg), em relação ao tratamento controle (0,87 kg/dia; 472kg) e ao tratamento contendo monensina (0,94 kg/dia; 480kg), revelando melhor desempenho com o uso da própolis se comparado a monensina.

2.5 Parâmetros Ruminais

A fermentação no rúmen resulta das atividades física e microbiológica, que convertem os componentes dietéticos a ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), proteína microbiana, vitaminas do complexo B, vitamina K, metano, dióxido de carbono, amônia, nitrato, água, entre outros (OWEN e GOETSCH,1988; BERCHIELLI et al., 2011).

A manutenção da população microbiana ruminal ativa é dependente de algumas características do rúmen mantidas pelo animal hospedeiro, tais como suprimento de alimento, remoção de produtos da fermentação, adição de tamponantes através da saliva, remoção de resíduos não digestíveis e manutenção do pH, temperatura, umidade e anaerobiose ideais ao crescimento microbiano.

Nesse contexto, o estudo da dinâmica da fermentação ruminal indica como a dieta e outros fatores alteram os parâmetros de fermentação, e assim avalia as necessidades do rebanho e as possíveis alterações do manejo nutricional. O padrão de fermentação é um indicativo do valor nutricional do alimento em promover melhores desempenhos. Os parâmetros de pH, nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta produzidos e absorvidos são indicadores do ambiente ruminal. A estimativa de valores de consumo e digestibilidade indicam a eficiência de utilização do alimento (BALDWIN e ALLISON, 1983).

2.5.1. pH ruminal

O pH ruminal é um dos principais modificadores químicos e fisiológicos da fermentação ruminal, sendo influenciado pela composição química dos ingredientes ingeridos, tamanho das partículas e o nível de ingestão dos alimentos (HOOVER e STOKES, 1991). O pH ruminal está diretamente relacionado com os produtos finais da fermentação, assim como a taxa de crescimento dos microrganismos ruminais, podendo variar de 5,5 a 7,2 com valores mais baixos observados logo após a alimentação dos animais com dietas ricas em concentrados devido sua rápida fermentação (OWENS e GOETSCH, 1988).

O ambiente ruminal é tamponado pela secreção salivar, no entanto se a quantidade de fibra na dieta for restrita e a taxa de fermentação de carboidratos for rápida o valor de pH pode decrescer. Quando as dietas possuem menos de 20% de fibra em detergente neutro (FDN) é observado um baixo crescimento microbiano (STROBEL e RUSSEL, 1986).

Valores de pH abaixo de 6,0 podem inibir bactérias fermentadoras de celulose, dificultando a degradação de fibra no rúmen e podendo diminuir a eficiência de síntese de proteína microbiana (STROBEL e RUSSEL, 1986). Segundo Kozloski (2009) ao decrescer para a faixa de 5,5 a 5,0, há uma redução no número e na taxa de crescimento dos microrganismos fibrolíticos, ocasionando inibição na digestão da fibra.

Durante a adaptação a dietas com teores elevados de concentrado, o pH exerce uma pressão seletiva sobre os microrganismos sensíveis a alterações no pH. Quando há uma diminuição no valor de pH, ocorre o aumento de bactérias amilolíticas resistentes a acidez, com redução na quantidade de microrganismos celulolíticos (VALADARES FILHO e PINA, 2006).

Lavezzo et al., (1998), avaliaram o pH ruminal de ovinos recebendo diferentes tipos de silagem e encontraram valores de 6,98 para o tempo zero antes da alimentação. O que explica-se pelo fato de que o animal em jejum apresenta um pH ruminal próximo a neutralidade.

Avaliando parâmetros de fermentação ruminal em cabras leiteiras recebendo inclusão de óleo de soja e extrato etanólico de própolis na alimentação, Lana et al. (2007) encontraram valores de pH variando de 6,6 a 5,6 até 9 horas após a alimentação.

Bispo et al. (2007), avaliando a substituição parcial do feno de capim elefante por cinco níveis de palma forrageira, observaram diminuição linear do pH, resultado explicado pelo fato de que dietas com teores mais elevados de carboidratos solúveis tendem a diminuir o pH.

Stradiotti Jr. et al., (2004b), analisando a ação da própolis sobre a fermentação ruminal em bovinos, observaram que houve correlação positiva entre o pH e a concentração de acetato no rúmen, assim como para a relação acetato: propionato, e correlação negativa para a concentração de propionato. Isso se deve ao fato de que as bactérias formadoras de acetato desenvolvem-se melhor em pH ruminal mais elevado, já as formadoras de propionato dependem de menores valores de pH para seu crescimento ótimo.

No processo adaptativo a uma dieta com níveis elevados de concentrados, o pH decresce exercendo uma pressão seletiva nos microrganismos, favorecendo as bactérias ácido tolerantes como as amilolíticas e causando uma diminuição em microrganismos intolerantes a um pH mais baixo, como é o caso das bactérias celulolíticas. Isso acarreta a diminuição da produção de acetato e o aumento de ácido propiônico (TEIXEIRA, 2001).

O pH do fluido ruminal é considerado o fator de maior influência na velocidade de absorção dos AGCC. Valores de pH baixos (5,6 a 5,8), a absorção é maior que em valores mais elevados (7,0 a 7,5) (TEIXEIRA, 2001). As papilas ruminais aumentam em valores de pH baixos, aumentando assim a sua superfície de absorção, que chega ao máximo com o pH 5,5 (RUSSELL, 1998).

2.5.2 Nitrogênio amoniacal

A maior parte dos microrganismos ruminais utiliza a amônia como fonte de nitrogênio para seu crescimento. A amônia ruminal pode ser proveniente da degradação da proteína verdadeira dietética, do nitrogênio não protéico da dieta e da reciclagem através da saliva ou difusão pela parede ruminal, sendo removida através da incorporação em proteína microbiana, absorção ruminal ou passagem para o trato posterior (VAN SOEST, 1994).

As fontes protéicas são degradadas pelos microrganismos ruminais produzindo amônia e essa penetra na célula por difusão passiva principalmente na forma de nitrogênio amoniacal ($N-NH_3$) (ARGÔLO et al., 2010). A uréia é rapidamente hidrolisada no rúmen, produzindo amônia que por sua vez é incorporada ao nitrogênio bacteriano, sendo essa assimilação dependente da disponibilidade de energia (MAGALHÃES et al. 2005).

As fontes de proteína e de carboidrato tem influência direta sobre a fermentação do nitrogênio e da energia no rúmen. Sendo a fermentação dependente da taxa de hidrólise de proteína já que essa determina a disponibilidade de $N-NH_3$, aminoácidos peptídeos e ácidos graxos de cadeia ramificada para o crescimento microbiano (NOCEK e RUSSEL, 2010). Segundo Van Soest (1994), a disponibilidade de carboidratos estimula o uso de amônia na síntese de aminoácidos e no crescimento microbiano.

A determinação da concentração de amônia é uma ferramenta para avaliar o balanceamento energético e proteico da dieta. Altas concentrações de amônia

indicam o excesso de proteína degradada no rúmen e/ou baixas concentrações de carboidratos degradados no rúmen (RIBEIRO et al., 2001).

Segundo Satter e Slyter (1974) citados por Ítavo et al. (2011) os níveis mínimos ideais de nitrogênio no líquido ruminal para a máxima fermentação microbiana seriam, 5 mg de N/100 mL de fluido ruminal. Os autores citaram que concentrações menores limitariam a atividade de bactérias celulolíticas no rúmen acarretando uma diminuição da síntese microbiana. Já Van Soest (1994) citou 10 mg N/100 mL de fluido ruminal como nível ótimo. A concentração de amônia ruminal depende da solubilidade e nível de proteína na ração, do balanço entre proteína e energia na dieta e do tempo decorrido após a alimentação dentre outras coisas (EARDMAN et al., 1986; ARGÔLO et al., 2010).

Bispo et al. (2007), avaliando a substituição parcial do feno de capim elefante por níveis crescentes de palma forrageira na alimentação de ovinos, observaram diminuição linear da concentração de amônia após a alimentação, observando os maiores valores nos animais alimentados com níveis maiores de feno. Os autores afirmaram que isso deveu-se ao fato da palma possuir alta digestibilidade e elevada taxa de digestão, levando a um melhor equilíbrio energia:proteína, o que resultou em menores concentrações ruminais de NH_3 nos animais que receberam dietas contendo maiores níveis de palma.

2.6 Parâmetros Hematológicos e bioquímicos séricos.

O sangue, principal veículo de circulação de substâncias essenciais para a vida das células no corpo do animal é constituído de duas frações, sendo uma líquida denominada plasma que corresponde a 55% e a fração celular, com 45%. O plasma é composto por substâncias orgânicas não protéicas (uréia, aminoácidos, bilirrubina, creatina, carboidratos, lipídeos), proteínas (albuminas, globulinas, fibrinogênio), substâncias inorgânicas (bicarbonato, cloreto, fosfato, sódio, ferro,

iodo, potássio) e soro. A parte celular é formada por eritrócitos, leucócitos e plaquetas (VIVAS, 2007).

O exame de sangue mais solicitado na rotina laboratorial é o hemograma. Este divide-se em três análises: 1. eritrograma (exames da série vermelha), composto por hematócrito, dosagem de hemoglobina e avaliação morfológica e contagem de eritrócitos; 2. leucograma (exames da série branca), que compreende a contagem total e diferencial de leucócitos assim como sua avaliação morfológica; 3. plaquetas, compostos por avaliação morfológica e contagem de plaquetas. Com a realização do hematócrito é possível mensurar através de refratometria as proteínas totais plasmáticas, sendo essas importantes no auxílio da interpretação de diversas situações fisiológicas e patológicas (GARCIA - NAVARRO, 2005).

O eritrograma compreende o número total de hemácias/ μL , concentração de hemoglobina, volume globular, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteínas plasmáticas e reticulócitos. As contagens de hemácias, hemoglobina e o hematócrito são avaliados em conjunto e quando estão reduzidos são indicadores de anemia, já o VCM, o HCM e o CHCM são usados na diferenciação dos tipos de anemia (LOPES et al., 2007).

No leucograma é realizada a contagem global e diferencial de leucócitos. Os leucócitos são as células de defesa, responsáveis pelo combate de agentes invasores. Na contagem diferencial são identificados, calculando-se as proporções de neutrófilos, segmentados e bastões, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos (LOPES et al., 2007).

Os parâmetros hematológicos normais para ovinos variam bastante, sendo encontrado valores de hematócrito de 27 a 45%, eritrócitos de 9 até $15 \times 10^6/\mu\text{L}$, hemoglobina de 9 a 15g/dL e a contagem de leucócitos por μL varia de 4.000 a 12.000 células. Destas, as principais que são os neutrófilos e os linfócitos, encontram-se com valores de 700 a 6.000 células por μL e 2.000 a 9.000 células por μL , respectivamente (PUGH, 2004; GARCIA-NAVARRO, 2005). Em animais com alta carga parasitária, estes valores encontram-se significativamente alterados, podendo aparecer também aumento de eosinófilos.

Já a análise da composição bioquímica do plasma sanguíneo, pode fornecer informações importantes com relação ao estado clínico metabólico e produtivo de um animal (GONZALEZ e SILVA, 2008).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa, devido aos mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e a grande variabilidade desses níveis em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção, manejo, clima e estado fisiológico. O perfil bioquímico serve como indicador dos processos adaptativos do organismo do animal, no metabolismo energético, proteico e mineral, além de fornecer informações para a interpretação do funcionamento hepático, renal, pancreático, ósseo e muscular (GONZÁLEZ e SCHIFFER, 2003).

Dentre os principais metabólitos utilizados em avaliações de perfis bioquímicos podemos citar: uréia, albumina, níveis de proteínas totais e glicose. Segundo González e Schiffer (2003), a glicose é o metabólito utilizado com combustível mais importante para os animais, no caso dos ruminantes pouca glicose vinda da alimentação é absorvida na corrente sanguínea, sendo o ácido propiônico, aminoácidos gliconeogênicos e ácido láctico, produtos da atividade microbiana, os responsáveis pelos requerimentos de glicose.

Dentre as proteínas plasmáticas, as mais importantes são a albumina, as globulinas e o fibrinogênio que são responsáveis pela manutenção da pressão osmótica, viscosidade do sangue, transporte de nutrientes, regulação do pH e coagulação sanguínea. A produção dessas proteínas depende em grande parte da alimentação (fornecimento de proteína bruta), seguida da funcionalidade do fígado, onde são sintetizadas. A albumina é a proteína em maior quantidade no plasma e seu nível pode ser indicador da quantidade de proteína fornecida na dieta. Baixos níveis de albumina associados a baixas concentrações de uréia podem indicar deficiência protéica na alimentação (GONZALÉZ e SCHIFFER, 2003).

A uréia é sintetizada no fígado a partir dos aminoácidos catabolizados e da reciclagem da amônia no rúmen. Nos ruminantes as concentrações plasmáticas de uréia tem relação direta com a dieta, sendo um indicador imediato da ingestão de proteína (GONZALÉZ e SCHIFFER, 2003).

De acordo com Pugh (2004) e Garcia-Navarro (2005), para espécie ovina, os valores de referência para glicose encontram-se na faixa de 50 a 80 mg/dL de sangue, para uréia de 8,0 a 20,0 mg/dL, para proteínas totais de 6,0 a 7,9 g/dL e albumina de 2,4 a 3,0 g/dL.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO-FEBRES, O.; FERNÁNDEZ, M.C. Efecto en novillos del monensin y el nivel de fibra de la dieta sobre el consumo y la digestibilidad de la materia seca. **Revista de la Facultad de Agronomía**, v.8 n.2, p.143-153, 1991.

ARGÔLO, L. S. ; PEREIRA, M. L. A. ; DIAS, J. C. T. et al., Farelo da vagem de algaroba em dietas para cabras lactantes: parâmetros ruminais e síntese de proteína microbiana. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39 n.3, p. 541-548, 2010.

BAGG, R. Mode of action of ionophores in lactation dairy cattle. In: USEFULNESS OF IONOPHORES IN LACTATING DAIRY CATTLE. SYMPOSIUM, 1997, Guelph. **Proceedings...** Guelph: Ontario Veterinary College, 1997. p.13-21.

BAKER, SK. Rumen methanogens, and inhibition of methanogenesis. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.50 n.8, p 1293, 1999.

BALDWIN,R. L; ALLISON, M.J. Rumen metabolism. **Journal of Animal Science**, v.57, supp.2 p.461-477 1983.

BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; STOEV, G.; POPOV, J. Determination of fenolic from propolis by capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography**, v.607 n.1 p.150-153, 1992.

BERCHIELLI, T.T; PIRES, A. V; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de ruminantes**, 2.ed. Jaboticabal, Funep 2011. 616p.

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

BISPO, S. V.; FERREIRA, M. DE A.; VÉRAS, A. S. C.; BATISTA, Â. M. V.; 3,4, PESSOA, R. A. S.; BLEUEL, M. P. Palma forrageira em substituição ao feno de capim- elefante. Efeito sobre consumo, digestibilidade e características de fermentação ruminal em ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1902-1909. 2007.

BRASIL. **Instrução normativa SDA nº 3, de 19 de janeiro de 2001**, aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geléia Real, Geléia Real Liofilizada, Pólen Apícola, Própolis e Extrato de Própolis.

BRASIL. **Decreto nº 76.986, de 6 de janeiro de 1976**, que regulamenta a Lei nº 6.198, de 26 de dezembro de 1974, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização obrigatória dos produtos destinados à alimentação animal.

BRASIL. **Relatório técnico, portaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no 40, de 08 de janeiro de 2006**. Disponível em rede: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/alimentacao/aditivos>> Acesso em: 02 mai 2013.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicologic**, [s.l.] v.36 n.4 p.347-363; 1998.

CARVALHO, S.; SILVA, M.F.; CERUTTI, R. et al. Desempenho e componentes do peso vivo de cordeiros submetidos a diferentes sistemas de alimentação. **Ciência Rural**, v.35, p.650-655, 2005.

CZERKAWSKI, J. W. An introduction to rumen studies. Oxford: New York: **Pergamon Press**, 1986, 236p.

COELHO, M. de S.; SILVA, J.H.V. da, OLIVEIRA, E.R.A. de, et al. A própolis e sua utilização em animais de produção. **Arquivos de Zootecnia**, v.59 n.1, p.95-112, 2010.

COOK, N. C., SAMM, S. Flavonoids - chemistry, metabolism, cardio--protective effects and dietary sources. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.7, n.2, p 66-76 1996.

COTTON, W.R.; PIELKE, R.A. Human impacts on weather and climate. Cambridge: **Cambridge University Press**, 1995. 288p.

CUNHA, I.B.S.; SAWAYA, A.C.H.F.; CAETANO, F.M. et al. Factors that influence the yield and composition of brazilian propolis extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, n.6, p.964-970, 2004.

DENNIS, S.M.; NAGARAJA, T.G.; BARTLEY, E.E. Effect of lasalocid or monensin on lactate-producing or using rumen bacteria. **Journal of Animal Science**, v.52, n.2, p.418-426, 1981

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2.ed. Sao Paulo: Varela, 206 p. 2005.

GHISALBERTI, E.L.. **Propolis; a review**. **Bee World**, Cardiff, v 60, n.2, p.59-84, 1979.

GONZÁLEZ, F.D.H., SCHIFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: González, F. D. H., Campos, R. (eds): **Anais I Simpósio de Patologia Clínica da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 73-89. 2003

GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C **Patologia Clínica veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre : Universidade Federal do Rio Grande do Sul , 2008. 342p.

GOULART, C.S. **Estudos preliminares sobre atividade "in vitro" do extrato etanólico de própolis (EEP) no combate a bactérias isoladas de processos infecciosos de animais**. Salvador, BA: UFBA, 1995. 18p. Monografia - Escola de Medicina Veterinária - Universidade Federal da Bahia, 1995.

HEGAZY, M.A.; ELIAS, A.N. Influence of dietary monensin and lasalocid on age and weight of Barki ram and ewe lambs at puberty. **Veterinary Medical Journal**, v.37, n.74, p.1-15, 1997.

HINO, T., RUSSELL, J.B. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. **Journal of Animal Science**, v.64, n.1 p. 261-270, 1987.

HOOVER, W. H.; STOKES, S. R. Balancing carbohydrates and proteins for optimum rumen microbial yield. **Journal Dairy Science**, v. 74, n.10, p. 3630-3644, 1991.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção da pecuária nas grandes regiões**. Disponível em rede: < <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/default.shtm> > Acesso em: 02 mai 2013.

INFORMA ECONOMICS FNP. Consumo per capita de carnes dá salto de 17,5% em dez anos; frango lidera, 2011. **FNP**. Disponível em:< <http://www.informaecon-fnp.com/noticia/1350>>. Acesso em: 02 mai 2013.

ÍTAVO, C.C.B.F. ; MORAIS, M.G. ; COSTA, C. ; ÍTAVO, L.C.V. ; FRANCO, G.L. ; SILVA, J.A. ; REIS, F.A. . Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs in feedlot. **Animal Feed Science and Technology**. v.165, n.3, p. 161-166, 2011.

JOHNSON, K.A.; JOHNSON, D.E. Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**, v.73, n.8, p.2483-2492. 1995

KOZLOSKI, G. V Efeito do Ph sobre a fermentação Ruminal. IN: **Bioquímica dos Ruminantes**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2009. 216p.

LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.L.; QUEIROZ, A.C. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.2, p.650-658, 2005.

LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.L.; RODRIGUES, M.T. et al. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras: consumo de matéria seca e de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.191-197. 2007.

LAVEZZO, O. E. N. M.; LAVEZZO, W.; WECHSLER, F. S. Estádio de Desenvolvimento do Milho. 3. Avaliação de Silagens por Intermédio de Parâmetros de Fermentação Ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, n.1, p.171-178. 1998.

LOPES, S. T. A ; BIONDO, A. W; SANTOS, A. P. et al., **Manual de patologia Clínica Veterinária**. Santa Maria: Ed. Da UFSM. 2007. 107 p.

MASS, J.A.; WILSON, G.F.; McCUTCHEON, S.N. et al. The effect of season and monensin sodium on the digestive characteristics of autumn and spring pasture fed to sheep. **Journal of Animal Science**, v.79, n.4, p.1052-1058, 2001.

MACEDO, F.A.F.; SIQUEIRA, E.R.; MARTINS, E.N. et al. Qualidade de carcaças de cordeiros Corriedale, Bergamácia x Corriedale e Hampshire Down x Corriedale,

terminados em pastagem e confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.5, p.1520-1527, 2000.

MAGALHÃES, K.A.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D. et al. Produção de proteína microbiana, concentração plasmática de uréia e excreções de uréia em novilhos alimentados com diferentes níveis de uréia ou casca de algodão. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.34, n.4, p.1400-1407. 2005.

McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, v.84, Supplement, p.194-203, 2001.

MIRZOEVA, O.K., GRISHANIN, R.N., CALDER, P.C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiological Research**, v.152, p.239-246, 1997.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. rev. Washington, DC: National Academic Press, 2001. 381p

NOCEK, I.E e RUSSELL, J.B. Protein and carbohydrate as an integrated system. Relationship of ruminal availability to microbial contribution and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.8, p.2070-2107. 1988.

OLIVEIRA, J.S; ZANINE, A.M; SANTOS, E.M Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. **RedVet**, v.6, n.11, Nov. 2005. Disponível em <<http://www.veterinaria.org./revistas/revet/n111105.html>> Acesso em: 25 abril. 2013

OLIVEIRA, J.S., QUEIROZ, A.C., LANA, R.P. et.al. Efeito da monensina e da própolis sobre a atividade de fermentação de aminoácidos in vitro pelos microrganismos ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.275-281, 2006.

OLIVEIRA, M. V. M.; LANA, R. P.; EIFERT, E. C.; LUZ, D. F.; PEREIRA, J. C.; et al., Influência da monensina sódica no consumo e na digestibilidade de dietas com diferentes teores de proteína para ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, 2007.

OWENS, F. N.; GOETSCH, A. L. Ruminant fermentation. In: CHURCH, D.C. **The ruminant animal digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: O. e Books Inc. 1988. p.146-171.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. et.al. Estudos da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.3, p.313-318, 1998.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físicoquímicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**, v.58, n.9, p.2-7, 2000.

PENZ Jr., A.M. A produção animal brasileira frente às exigências dos mercados importadores atuais e futuros. In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 40, 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria, SBZ, 2003, CD-ROM.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S; AQUINO NETO, F. R. 2002. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova** 25: 321-326.

PINTO, M.S. et al. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.38, n.6, p.278-283, 2001.

PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; PONTARA, L. P. M.; et al. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dieta à base de forragem com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1336-1345, 2010.

PUGH, D. G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca. 2004, 513p.

REIS, F. A. Atualidades na criação de ovinos no Brasil Central. In: CONGRESSO INTERNACIONAL FEINCO, 5., 2009, São Paulo. **Anais...**São Paulo: FEINCO, 2009. p.1-14.

RIBEIRO, K. G.; GARCIA, R.; VALADARES FILHO, S. C.; et al. Eficiência microbiana, fluxo de compostos nitrogenados no abomaso, amônia e pH ruminais, em bovinos recebendo dietas contendo feno de capim-tifton 85 de diferentes idades de rebrota. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.2, p.581-588, 2001.

RIBEIRO JUNIOR, C. S.; SALCEDO, Y. T. G; AZEVEDO, R. A; et al., Uso de aditivos naturais e fitocompostos na manipulação do ambiente ruminal. **Enciclopédia Biosfera**, V.7, n.3, p 977, 2011.

RIVERA, A. R. **Estudo da fermentação ruminal por bovinos consumindo feno de Tifton 85 e concentrado com aditivos**. 2006. 51f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.

RUSSELL, J.B.; STROBEL, H.J. Mini review. Effect of ionofores on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, v.55, n.1 p.1-6, 1989.

RUSSELL, J.B.; WALLACE, R.J. Energy-yielding and energy-consuming reactions. In: HOBSON, P. N. (Ed). **The rumen microbial ecosystem**,. 2.ed. 1997, p.267-268.

RUSSELL, J.B. The importance of in the regulation of ruminal acetate to propionate ratio and methane production in vitro. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.12, p.3222-3230. 1998.

SANTOS, S.M.A; SOUZA, L.C; ALVES, N. H. et al., Uso de ionoforos em ovinos. III Simpósio de Gestão do Agronegócio e III Mostra de Trabalhos Científicos. Universidade Estadual de Maringá 2012. **Anais...** Disponível em: < <http://www.dzo.uem.br/pet/docs/docs/anais38.pdf> > Acesso em 01 mai. 2013.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-208, 1974.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio as Micro e Pequenas Empresas. Análise mercadológica – ovinocaprinocultura. Belo Horizonte: UAM, 2005. 73 p.

SILVA, A. S.; Própolis: Caracterização físico-química, atividade antimicrobiana e antioxidante. 2009. 126 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SIQUEIRA, E.R.; FERNANDES, S. Efeito do genótipo sobre as medidas objetivas e subjetivas da carcaça de cordeiros terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.1, p.306-311, 2000.

STRADIOTTI JR, D. ; QUEIROZ, A. C. ; LANA, R. P. . Ação do extrato de própolis sobre a fermentação in vitro de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n.4, p. 1093-1099, 2004a.

STRADIOTTI JR., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004b.

STROBEL, H. J.; RUSSELL, J.B. Effect of pH and energy spilling on bacterial protein syntheses by carbohydrate limited cultures of mixed rumen bacteria. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 10, p. 2947-2959, 1986.

TEIXEIRA, J.C. **Nutrição de ruminantes**. 2001. 182 p. Curso de Pós Graduação Latu Sensu (Especialização) à distância: Produção de Ruminantes. Lavras: UFLA/FAEPE.

UZEL, A. et al. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiology Research**, v. 160, n.2, p.189-195, 2005.

VALADARES FILHO, S. DE C.; PINA, D. DOS S. Fermentação Ruminal. IN: BERCHIELLE, T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G. de. **Nutrição de Ruminantes. Jaboticabal**: Funep, 2006. 583p.

VAN SOEST PJ **Nutritional ecology of the ruminant**, 2 ed. Cornell University Press, Ithaca, NY,1994.

VARGAS, A.C., POCAI, E.A., FONTANA, F.Z. et al. Dados parciais do teste "in vitro" da atividade antibacteriana da própolis. In: CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL, I e CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, XII. **Anais...** Porto Alegre: SOVERGS. 160p.1994.

VIVAS, W. L. P. Manual prático de hematologia. PROEAD-UNIT. São Paulo, 2007.

ZAWADZKI, F.; PRADO, I.N.; MARQUES, J.A. et al. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. **Journal of Animal and Feed Science**, v.20, n.1, p.16-25. 2011.

EXTRATO DE PRÓPOLIS E MONENSINA SÓDICA SOBRE OS PARÂMETROS DE FERMENTAÇÃO RUMINAL E HEMATOLÓGICOS DE OVINOS¹

¹ Artigo padronizado para submissão na Revista Ciência e Agrotecnologia

RESUMO - Diante da busca por alimentos seguros, oriundos de animais isentos de antibióticos aditivos e promotores de crescimento, a própolis surge como uma alternativa por possuir ação bacteriostática sobre bactérias gram-positivas. Avaliou-se os efeitos do extrato etanólico de própolis e da monensina sódica sobre o consumo de matéria seca, a digestibilidade de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal e hematológicos de seis ovinos adultos machos castrados, com peso corporal médio de 62 Kg e canulados no rúmen. Os animais foram distribuídos em um delineamento quadrado latino 6 x 6, com seis animais, seis períodos experimentais e seis tratamentos: T1- Testemunha – sem adição de própolis na ração; T2 – 6 mL de extrato etanólico de própolis (EEP) por dia; T3 – 12 mL de EEP/ dia; T4 – 24 mL EEP/ dia; T5–36 mL de EEP/ dia e T6 – ração contendo monensina sódica (30mg MS/Kg de concentrado). Os animais receberam dieta com proporção volumoso:concentrado 50:50, sendo utilizado como volumoso, o capim elefante triturado. Cada período experimental durou 19 dias, sendo 14 dias para adaptação dos animais aos tratamentos e cinco dias para coleta de amostras. As ingestões dos nutrientes contidos na matéria seca e a digestibilidade, foram determinadas a partir das análises químico-bromatológicas das rações, sobras e fezes. Para caracterizar os parâmetros de fermentação ruminal foram avaliados o pH ruminal e o teor de N amoniacal, nos tempos (0,2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22, e 24 horas pós-prandial). Para a determinação dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e séricos plasmáticos foram realizadas coletas de sangue no início e ao final de cada período. A adição do extrato etanólico de própolis nas doses de 6, 12, 24 e 36 mL/dia e monensina sódica não alterou os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (79,40%), proteína bruta (77,00%), fibra em detergente neutro (86,89%), fibra em detergente ácido (69,67%), hemicelulose (96,19%) e matéria orgânica (79,42%). Com relação a ingestão de matéria seca os ovinos alimentados com adição de monensina sódica apresentaram redução de 11,6% (1763,44 g/dia) em relação aos ovinos que receberam extrato etanólico de própolis (1987,90 g/dia). A inclusão dos aditivos influenciou o pH ruminal, observando-se valores mais elevados nos ovinos alimentados com monensina sódica (6,13). Com relação aos teores de N amoniacal não houve efeito da inclusão dos aditivos e os valores médios (7,33mg/dL) mantiveram-se acima do mínimo(5mg/dL) ideal para atividade microbiana. Os parâmetros bioquímicos séricos de glicose (59,43mg/dL), uréia (8,91mg/dL), proteínas totais (6,78 g/dL) e albumina (2,45g/dL) mantiveram-se dentro dos níveis de referência para a espécie ovina. A monensina sódica foi mais eficiente ao manter o pH ruminal em níveis mais elevados e diminuir a ingestão de matéria seca. Porém a adição dos extratos etanólicos de própolis não influenciou negativamente a digestibilidade dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas com relação volumoso concentrado 50:50.

Palavras-chave: Nutrição, ionóforos, bactérias, rúmen, sangue ovino

PROPOLIS EXTRACT AND MONENSIN SODIUM ON RUMINAL FERMENTATION AND HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF SHEEP

ABSTRACT - Before the search for safe food from animals free of antibiotics and growth promoters additives, propolis is an alternative to possess bacteriostatic effect on gram-positive bacteria. We evaluated the effects of ethanol extract of propolis and monensin on dry matter intake, nutrient digestibility and ruminal fermentation parameters and hematological sheep. We used six adult, castrated, male sheep, mean body weight of 62 kg and cannulated in the rumen, kept in individual pens containing feeder and drinker. The animals were allotted in a 6 x 6 Latin square with six animals, six experimental periods and six treatments: T1-Control - without the addition of propolis in the feed; T2 - 6 mL of ethanol extract of propolis (EEP) per day; T3 - 12 mL of EEP / day; EEP T4 -24 mL / day; T5-EEP 36 mL / day and T6 - feed containing monensin (30 mg DM / kg of concentrate). The animals were fed with forage: concentrate ratio 50:50 , and is used as forage grass elephant crushed. Each experimental period lasted 19 days, fourteen of which were for adaptation to treatments and five days for collection of samples. Intakes of nutrients and dry matter digestibility were determined from chemical, qualitative analyzes of feed, feces and remaining. To characterize the ruminal fermentation, parameters were evaluated ruminal pH and ammonia N content, in time (0,2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22 and 24 hours post-prandial). For the determination of hematological, serum biochemical and plasma blood samples were taken at the beginning and end of each period. The addition of ethanol extract of propolis at doses of 6, 12, 24 and 36 mL / day and monensin did not alter the apparent digestibility of dry matter (79.40), crude protein (77,00), detergent fiber neutral (86,89), acid detergent fiber (69.67), hemicellulose (96.19) and organic matter (79,42). With respect to dry matter intake sheep fed monensin sodium decreased by 11.6% (1763.44 g / day) compared to sheep that received ethanol extract of propolis (1987.90 g / day). The inclusion of additives influenced the ruminal pH, observing higher values in sheep fed monensin (6.13) with respect to N ammonia there was no effect of the inclusion of additives and the average values (7.33 mg / dL) remained above the minimum (5mg/dL) ideal for microbial activity. There were no significant changes in hematological parameters. The biochemical serum glucose (59.43 mg / dL), urea (8.91 mg / dL), total protein (6.78 g / dL) and albumin (2.45 g / dl) remained within the reference levels for sheep. The monensin was more efficient to keep the rumen pH at higher levels and decrease the intake of dry matter. But the addition of propolis ethanol extract did not influence the digestibility of nutrients in sheep fed diets with roughage concentrate ratio of 50:50.

Keywords: Nutrition, ionophores, bacteria, rumen, sheep blood

INTRODUÇÃO

Com o intuito de intensificar a produção de carne, diminuir ou prevenir a incidência de doenças, reduzir a idade ao abate e conseqüentemente melhorar a qualidade dos produtos de origem animal, tem se tornado comum o uso de aditivos alimentares, principalmente antibióticos ionóforos. Segundo Stradiotti Jr. (2004) os ionóforos atuam sobre a microbiota do

rúmen, eliminando ou inibindo as bactérias gram-positivas, principais responsáveis pela desaminação de aminoácidos e produtoras de gases indesejáveis como metano e amônia e aumentando a produção de propionato e os níveis de glicose sanguínea, melhorando a eficiência alimentar. No entanto, se administrados em quantidades excessivas podem levar os animais à morte por intoxicação, além de deixar resíduos na carne (BRASIL, 2006).

Atualmente, a classe consumidora busca alimentos seguros, e exige que esses sejam oriundos de animais alimentados com rações isentas de antibióticos aditivos e promotores de crescimento. Dessa forma, a própolis surge como uma alternativa segura, pois de acordo com Ghisalberti, (1979), possui propriedades farmacológicas de extrema importância como atividades antimicrobiana, antifúngica e antiprotozoária.

A atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição das bactérias classificadas como gram-positivas (GHISALBERTI, 1979; PARK et al., 2000). Sendo assim, espera-se que sua adição à ração iniba o crescimento de bactérias proteolíticas (HINO e RUSSELL, 1987) e conseqüentemente a desaminação e a proteólise, sobretudo influenciando na produção de gases, aumentando, desta forma, a eficiência alimentar por promover melhor aproveitamento dos alimentos. Além destes fatores, a própolis apresenta vantagens em relação aos medicamentos por ser um produto natural, de fácil obtenção, economicamente viável e que não apresenta riscos de intoxicação tanto a animais quanto a humanos. Assim, com a determinação da real ação da própolis no rúmen de ovinos, e sua ação sobre a eficiência alimentar dos mesmos será possível utilizá-la como substituto de certos compostos medicamentosos, melhorando a produção de ovinos por produzir animais em menor tempo, com produtos mais seguros para o consumidor.

Diante do exposto objetivou-se avaliar os efeitos do extrato etanólico de própolis sobre o consumo e digestibilidade de nutrientes, parâmetros de fermentação ruminal e parâmetros hematológicos de ovinos, comparativamente ao aditivo químico monensina sódica.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Ovinocultura, no Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), no município de Petrolina-PE, localizado a 9°09' Sul de latitude e 40°22' de longitude Oeste, com altitude média de 365 m e índice pluviométrico anual de 300mm.

A própolis bruta foi adquirida em Associações de Apicultores da região do Vale do São Francisco, passou por um processo de limpeza, em que foram removidas todas as impurezas encontradas. A extração foi realizada utilizando a metodologia descrita por Stradiotti Jr. (2004), na qual a própolis bruta foi triturada e em uma alíquota de 30g foi adicionado 100 mL de etanol a 70%. Após o período de 10 dias, o extrato foi filtrado em papel-filtro, obtendo-se a solução de extrato etanólico de própolis a 30%. Nesta foram realizadas análises qualitativas de acordo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Própolis (MAPA, 2001), onde identificou-se a presença dos flavonóides naringenina e apigenina através de análise cromatográfica. Foram utilizados seis ovinos adultos machos castrados, com peso corporal médio de 62 kg e canulados no rúmen, mantidos em baias individuais, contendo comedouro e bebedouro. Os animais foram distribuídos em um delineamento quadrado latino 6 x 6, com seis animais, seis períodos experimentais e seis tratamentos: T1- Testemunha – sem adição de própolis na ração; T2 – 6 mL de extrato etanólico de própolis (EEP) por dia; T3 – 12 mL de EEP/ dia; T4 –24 mL EEP/ dia; T5–36 mL de EEP/ dia e T6 – ração contendo monensina

sódica (30mg MS/Kg de concentrado). Cada período experimental durou 19 dias, sendo quatorze dias para adaptação dos animais aos tratamentos e cinco dias para coleta de amostras.

Utilizou-se produto comercial com concentração de monensina sódica de 20%, esse foi incorporado previamente ao concentrado na proporção de 15g para 100 kg de concentrado, de maneira a obter-se 30mg de monensina/kg de concentrado. O extrato etanólico de própolis foi adicionado ao concentrado no momento do fornecimento, sendo a dieta experimental constituída de 50% de capim elefante triturado (*Pennisetum purpureum*) como volumoso e 50% de concentrado (milho, farelo de soja e núcleo mineral e vitamínico) (Tabela 1), formulada de acordo com as recomendações do NRC (2007) para ovinos adultos em manutenção, fornecida na forma de mistura completa, permitindo-se 15% de sobras.

Tabela 1- Composição químico-bromatológica dos ingredientes (capim elefante e concentrado) e da ração experimental.

Constituinte	Capim Elefante (50%)	Concentrado (50%)	Ração
MS (%)	28,11	92,42	60,27
MO (g/100g de MS)	90,09	92,11	91,10
MM (g/100g de MS)	9,91	7,89	8,90
PB (g/100g de MS)	5,49	21,56	13,52
FDNcp (g/100g de MS)	68,84	40,82	54,83
FDAcP (g/100g de MS)	41,73	6,54	24,13
HEM (g/100g de MS)	27,11	34,28	30,70

MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido para cinzas e proteína; FDAcp: fibra em detergente ácido corrigido para cinzas e proteína; HEM: hemicelulose.

Os animais foram pesados no início e final de cada período para ajuste da quantidade de ração fornecida. A ração foi pesada diariamente em balança digital e fornecida duas vezes

ao dia às 8h e às 16h e a água, fornecida à vontade. As ingestões dos nutrientes contidos na matéria seca foram estimadas a partir das análises químico-bromatológicas, sendo no início de cada período, amostradas as rações e obtidas amostras compostas por tratamento para realização das análises laboratoriais.

Foram realizadas coletas totais de fezes com auxílio de sacolas de lona adaptadas aos animais do 15º ao 19º dia de cada período experimental. As fezes foram coletadas no período da manhã (8h) pesadas e homogeneizadas, de onde foi retirado 10% do total, para obtenção de amostras compostas por animal e por período de coleta.

As amostras das rações, sobras e fezes foram armazenadas em freezer, posteriormente, pré-secas em estufa com ventilação forçada de ar, a 55°C, por 72 horas e moídas em moinhos com peneiras com crivos de 1 mm. Nestas amostras foram determinados os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e matéria mineral (MM), segundo metodologias descritas por Silva e Queiroz (2002). A matéria orgânica foi obtida pela equação: $MO = 100 - MM$. Os teores de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA), foram determinados segundo metodologia de Van Soest et al. (1994). Para determinação dos coeficiente de digestibilidade, utilizou-se a equação descrita por Schneider & Flatt (1975): $CD = (\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}) / \text{nutriente ingerido} \times 100$.

Para caracterizar os parâmetros de fermentação ruminal foram avaliados o pH ruminal e o teor de N amoniacal. Para tanto foram realizadas coletas de líquido ruminal no último dia de cada período experimental nos tempos (0,2,4,6,8,10,12,14,16,18,20,22, e 24 horas pós-prandial). As determinações de pH foram realizadas imediatamente após as coletas, utilizando-se potenciômetro digital. Para a determinação do N-amoniacal (N-NH₃) o líquido ruminal foi filtrado em uma camada dupla de gaze, as amostras foram centrifugadas a

500rpm, destiladas com hidróxido de potássio (KOH) 2N e tituladas com ácido clorídrico (HCL) 0,005N conforme técnica descrita por Preston (1995).

Para a determinação dos parâmetros hematológicos foram realizadas coletas de sangue no início e ao final de cada período antes do fornecimento da alimentação. Amostras de 9 mL de sangue foram obtidas por venipuntura jugular, utilizando-se agulhas e seringas descartáveis e aliqüotadas em frações de 3 mL com anticoagulante (ácido etilenodiaminotetracético dissódico-EDTA a 10%) para confecção dos esfregaços e realização do hemograma. Outros 3 mL de sangue, com anticoagulante fluoretado, foram utilizados para dosagem de glicose, e os 3 mL restantes, sem anticoagulante, para obtenção do soro e posteriores análises bioquímico-séricas.

As amostras destinadas a dosagem de glicose e análises bioquímicas foram centrifugadas imediatamente após as coletas, sendo submetidas a 10.000 rpm durante cinco minutos, o soro sobrenadante recolhido com auxílio de pipetador foi acondicionado em microtubos de polietileno e congelado a temperatura de -20°C. As amostras destinadas para a realização de hemograma foram imediatamente refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório de Farmacologia da Univasf.

A taxa de hemoglobina e as contagens globais de hemácias e leucócitos foram obtidas com uso do Contador Automático de Células Sangüíneas – CC-530 - CELM®, com emprego de solução diluidora CELMVET ®. Os esfregaços destinados às contagens diferenciais dos leucócitos foram fixados ao ar e corados em solução de May-Grunwald/Giemsa - MGG (MATOS e MATOS, 1988).

O volume globular (VG) ou hematócrito (Ht) médio foi obtido pela técnica do microhematócrito, cujos capilares foram preenchidos com amostras de sangue e centrifugados a 11000 rpm, por cinco minutos, procedendo-se posteriormente a leitura do volume globular

medindo com um paquímetro o tubo capilar de eritrócitos em relação ao volume sanguíneo total, realizando-se os devidos cálculos para obtenção do resultado.

As análises bioquímicas foram realizadas utilizando-se o soro, onde foram determinadas as concentrações séricas de albumina, proteínas totais, uréia e plasmática de glicose mediante utilização de kits laboratoriais de uso comercial LABTEST R. As leituras das amostras foram realizadas através de analisador bioquímico. Para discussão dos dados, foram considerados os resultados bioquímico-séricos de referência reportados por Pugh (2004) e Garcia- Navarro (2005).

Para realização da análise estatística os dados foram analisados pelo programa computacional Statistical Analysis System (Versão 9.1, 2003), sendo anteriormente verificada a normalidade dos resíduos pelo Teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e as variâncias comparadas por contrastes ortogonais com nível de significância de 5% pelo PROC GLM. Quando significativo os parâmetros das equações de regressão foram determinados pela ferramenta estimate do PROC MIXED. Como os níveis não são equidistantes entre as doses de extrato etanólico de própolis foi utilizado o PROC IML para gerar os vetores de cada contraste.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificado efeito ($p > 0,05$) dos diferentes níveis de inclusão do extrato etanólico de própolis (EEP) ou da monensina sódica, para os coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (DAPMS), proteína bruta (DAPPB), fibra em detergente neutro (DAPFDN), fibra em detergente ácido (DAPFDA), hemicelulose (DAPHem) e matéria orgânica (DAPMO) (Tabela 2).

Tabela 2- Coeficientes de digestibilidade dos nutrientes da ração contendo diferentes níveis de adição de extrato etanólico de própolis (EEP) ou monensina sódica em ovinos.

Parâmetro	Níveis de inclusão de EEP em mL/dia					Mon	EPM ¹	ER ²	EF ³
	0	6	12	24	36				
DAPMS	79,81	78,05	79,52	76,86	80,05	82,12	2,40	Y=79,40	NS
DAPPB	78,23	74,43	77,3	73,91	78,54	79,57	3,00	Y=77,00	NS
DFDN	86,8	85,5	86,45	85,21	87,39	88,79	1,61	Y=86,69	NS
DFDA	69,93	66,52	70,82	67,13	71,97	71,62	3,19	Y=69,67	NS
DHem	96,24	95,95	95,93	95,76	96,27	96,97	0,52	Y=96,19	NS
DAPMO	79,83	78,06	79,55	76,87	80,06	82,13	2,39	Y=79,42	NS
IMS(%PV)	2,98	3,04	3,05	3,02	2,86	2,59	0,21	Y=2,92	*
IMS(g/dia)	1995,05	2014,08	2029,97	1996,92	1903,46	1763,44	138,08	Y=1950,49	*

DAPMS= Digestibilidade aparente da matéria seca; DAPPB= Digestibilidade aparente da proteína bruta; DAPFDN= Digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro; DAPFDA= Digestibilidade aparente da fibra em detergente ácido; DAPhem= Digestibilidade aparente da hemicelulose; DAPMO= Digestibilidade aparente da matéria orgânica; IMS= ingestão de matéria seca; EEP= Extrato etanólico de própolis ;Mon= Monensina sódica EMP¹= Erro padrão da média;ER²= Equação de regressão entre os níveis de extrato etanólico de própolis. EF³= Efeito da monensina sódica pelo teste de polinômios ortogonais. * = Efeito significativo quando p<0,05

Os resultados diferiram dos obtidos por Prado et al., (2010a), ao avaliar a adição de própolis ou monensina sódica sobre digestibilidade *in vitro* da matéria seca em dietas com proporção volumoso:concentrado 50:50, que observou aumentos (p<0,05) de 8,3% na DAPMS *in vitro*, em relação ao controle (DAPMS 52,96%), ao adicionar o produto à base de própolis (DAPMS 57,3%) e 6,2% ao adicionar monensina (DAPMS 54%).

Com relação a digestibilidade da proteína e da fração fibrosa, os resultados tem se mostrado bastante contraditórios. Prado et al. (2010b) observaram melhores valores de DAPPB, DAPFDN e DAPFDA para a dieta controle (65,4%, 55,5% e 54,8%) em comparação aos tratamentos com adição de produto à base de própolis LLOSC® (59,7%, 47,9% e 44,8%) e monensina (63,1%, 49,53% e 46,1%) trabalhando com bovinos confinados recebendo dietas a base de forragem. Já ao trabalhar com búfalos com dietas a base de forragem e adição de produto LLOSC® ou monensina, Prado et al. (2010c)

verificaram aumentos ($p>0,05$) para DAPFDN e DAPFDA para os tratamentos com LLOSC® em relação ao controle e a monensina.

Stradiotti Jr. et al., (2004) observaram que a própolis tende a ser mais eficaz em inibir microrganismos *in vitro* enquanto a monensina é mais eficiente *in vivo*, isso ocorre devido a algum fator ainda desconhecido, podendo estar relacionado desde a adesão do produto ao alimento, a neutralização do efeito pela saliva ou por algum microrganismo ruminal ou ainda devido a taxa de diluição, os autores citaram ainda que a dose fornecida dos produtos, a razão volumoso:concentrado e a espécie animal podem influenciar a variação de resultados ao se utilizar produtos a base de própolis na alimentação de ruminantes.

A alta digestibilidade aparente da fibra em detergente neutro (DAPFDN) observada neste trabalho (86,69 %) deve-se provavelmente a qualidade da forragem utilizada, onde o capim elefante foi colhido em intervalos de corte inferiores a 60 dias, valor superior aos encontrados por Silva et al. (2007) que foram de 53,75% a 72,48%, avaliando a digestibilidade (DAPFDN) *in vivo* do capim elefante em diferentes idades de rebrota em bovinos.

Os diferentes níveis de inclusão do EEP não influenciaram ($p>0,05$) o consumo, no entanto a adição de monensina sódica exerceu influencia ($p<0,05$) sobre esse parâmetro (Tabela 2). Os valores médios de ingestão de matéria seca (IMS) em porcentagem de peso corporal (%PC) do presente trabalho foram superiores aos recomendados pelo NRC (2007) para animais em manutenção que estão entre 1,8 a 2,5% PC.

Os animais que receberam dieta contendo monensina apresentaram menor consumo, com valores médios de ingestão de matéria seca observados de 2,59% em relação ao peso corporal, correspondente a 1763,44 g MS/ dia, valor 11,6% inferior em relação aos animais que receberam o tratamento controle. Os mecanismos pelos quais a monensina promove a

redução de consumo ainda não estão totalmente esclarecidos. Segundo Stradiotti Jr. (2004) essa redução do consumo evidencia o melhor aproveitamento da energia bruta disponível no alimento, e se deve a ação do aditivo sobre as bactérias gram positivas, ocasionando supressão de perdas calóricas, principalmente a partir da menor produção de gases, menor desaminação de aminoácidos e maior produção de propionato.

Trabalhos como os realizados por Vargas et al. (2001) e Oliveira et al. (2007), têm demonstrado a redução no consumo de matéria seca em dietas contendo monensina. Neste experimento, a redução apresentada (11,6%), foi inferior a citada por Stock e Mader (1997), que preconizaram reduções iniciais de 15% no consumo quando o ionóforo foi incluído na dieta de ruminantes. Os mesmos autores citam que com o passar do tempo há um retorno de até 90% do consumo original.

Os resultados para o consumo de matéria seca ao utilizar própolis são conflitantes. Lana et al. (2007) trabalhando com cabras leiteiras e Ítavo et al. (2011) trabalhando com cordeiros obtiveram efeitos semelhantes ao do presente trabalho, onde a inclusão de própolis na dieta não influenciou o consumo de matéria seca.

Para os valores de pH ruminal foi observado efeito de monensina sódica e efeito cúbico ($Y=5,99-0,02x+0,001x^2-0,00002x^3$) para a inclusão de extrato etanólico de própolis (Tabela 3).

Tabela 3- Valores médios para o pH ruminal e para as concentrações de nitrogênio amoniacal(N-NH₃; mg de N/100mL) em ovinos recebendo dietas contendo diferentes níveis de adição de extrato etanólico de própolis (EEP) ou monensina sódica.

Parâmetro	Níveis de inclusão de EEP em mL/dia					P							ER	R ²
	0	6	12	24	36	MON	L	Q	C	DC	EFM	EPM		
pH	6,07	5,93	5,91	5,98	5,94	6,13	NS	NS	0,04	NS	0,001	0,05	Y=5,99- 0,02x+0,001x ² - 0,00002x ³	0,64
N-NH ₃ (mg/100mL)	8,04	7,58	6,68	7,09	7,28	7,33	NS	NS	NS	NS	NS	0,31	Y = 7,33	-

EEP= Extrato etanólico de própolis ;MON= Monensina sódica; Valor de P para o teste de polinômios ortogonais L = linear; Q= quadrática; C= cúbica; DC = desvio da cúbica; EFM= Efeito da monensina sódica pelo teste de polinômios ortogonais; EPM= Erro padrão da média ER= ER Equação de regressão entre os níveis de extrato etanólico de própolis; Efeito significativo quando p<0,05.

Os resultados diferiram dos obtidos por Stradiotti Jr. et al. (2004), ao avaliarem a ação da própolis sobre a fermentação ruminal em bovinos e Prado et al. (2010b) ao compararem a adição de monensina ou produto à base de própolis (LLOSC1®), nas dietas de bovinos e bubalinos alimentados com dietas à base de forragem, que não observaram efeitos dos diferentes aditivos sobre o pH ruminal.

Foi possível observar que, os valores médios de pH ruminal na primeira coleta do dia (Figura 1), antes do fornecimento da ração, apresentaram uma pequena variação (6,4 – 6,7) nos ovinos que receberam os distintos tratamentos.

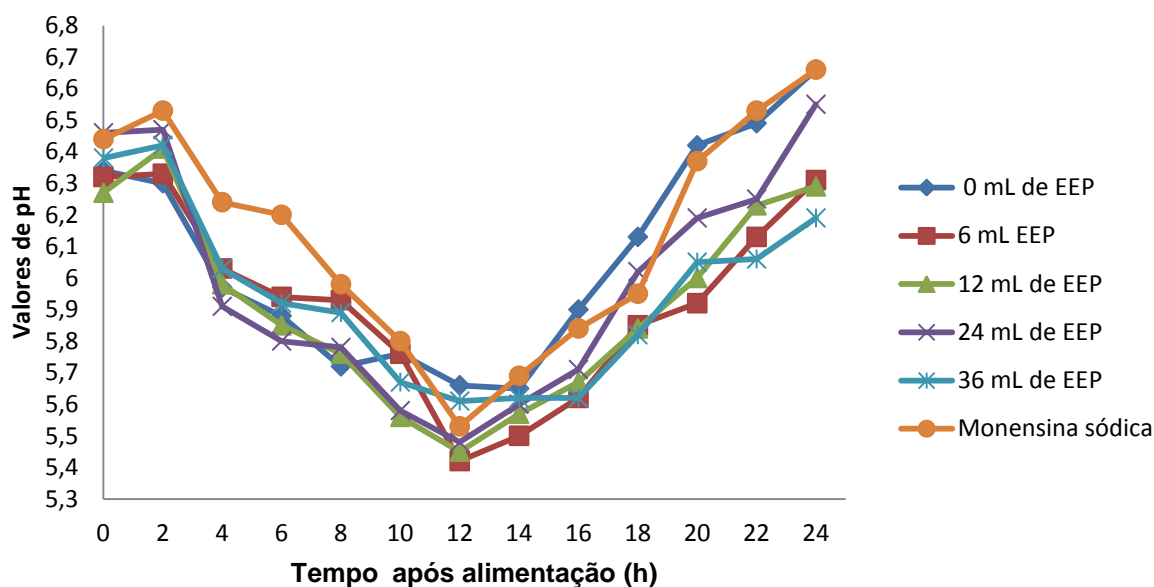


Figura 1. Valores de pH ruminal, em função do tempo após a alimentação de ovinos alimentados com diferentes doses de extrato etanólico de própolis e monensina sódica.

A redução do pH, ou seja, valores inferiores a 6,2 pode proporcionar redução da atividade de bactérias celulolíticas, prejudicando a degradação da fibra no rúmen (Russel e Wilson, 1996). Silva e Leão (1979) mencionaram que um pH compreendido entre 5,5 e 7,0 promove uma adequada fermentação ruminal.

É possível perceber que ocorreu maior queda de pH, 12 horas após o fornecimento da ração, entretanto, os animais que receberam tratamento com monensina sódica apresentaram

uma redução no pH de maneira menos brusca. Fato este esperado, pois, a monensina sódica ocasiona menor ingestão de alimento, porém, maior frequência de alimentação (Araújo et al., 2006). Segundo Afonso e Mendonça (2007), a diminuição do pH no rúmen está relacionada à elevação na concentração de ácido láctico, que aumenta a osmolaridade do meio, tornando-o hipertônico em relação ao plasma e provocando maior fluxo de água dos compartimentos intra e extracelulares para o interior do trato digestivo.

Os tratamentos que receberam adição de extrato etanólico de própolis (6, 12, 24 e 36 ml) na ração proporcionaram valores médios entre 5,4 e 5,6, no momento de maior queda do pH, não havendo efeito prejudicial na digestibilidade da fibra (Tabela 2). Lana et al. (2007), utilizando a própolis como aditivo, obtiveram valores de pH entre 6,6 a 5,6 no decorrer de 9 horas após a alimentação, quando forneceram à cabras multíparas e secas, uma dieta contendo 67% de silagem de milho e 33% de concentrado à base de fubá de milho.

Para as concentrações de nitrogênio amoniacal o menor valor de N-NH₃ observado foi de 5,19 mg/100mL, para os ovinos que receberam tratamento contendo 36 mL EEP/dia, observado às 22 horas após a alimentação (Figura 2), valor superior à concentração (5 mg de N-NH₃/100mL) citada por Satter e Slyter (1974) como mínima para a atividade microbiana.

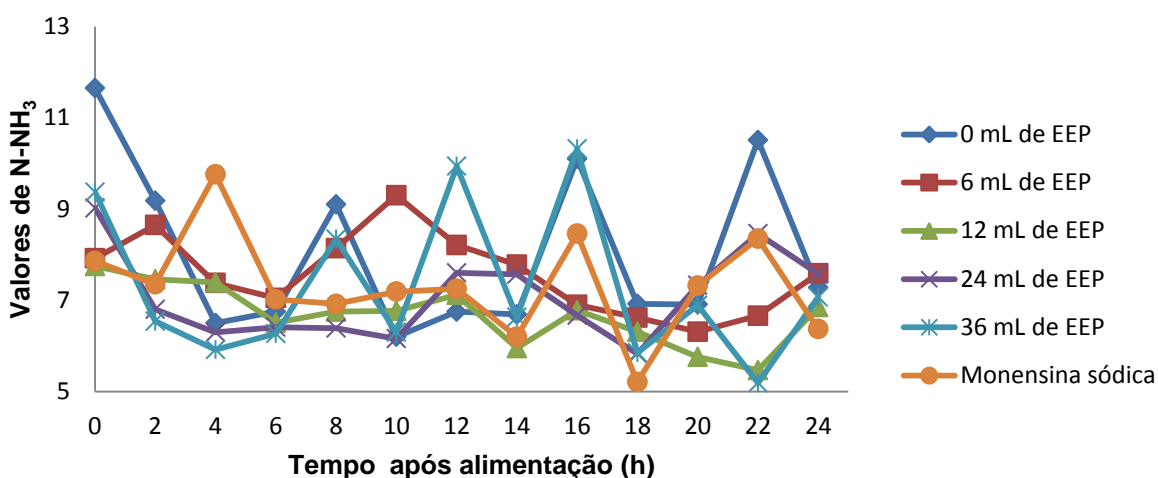


Figura 2. Valores da concentração de nitrogênio amoniacal (N-NH₃ mg/mL) ruminal em função do tempo após a alimentação, de ovinos alimentados com diferentes doses de extrato etanólico de própolis e monensina sódica.

A máxima concentração observada foi de 11,66 mg de N-NH₃/100mL, no tempo zero para os ovinos que receberam o tratamento controle. Esse valor é superior a concentração de 10 mg/100 mL citada por Van Soest (1994) como nível ótimo para a fermentação microbiana.

Valores elevados N-NH₃, podem indicar maiores níveis de degradação da proteína no rúmen podendo ocasionar perdas de nitrogênio na forma de amônia, e conseqüentemente um maior custo energético pela produção de ureia no fígado (Russel et al. 2002).

Os valores dos parâmetros sanguíneos de eritrograma não diferiam estatisticamente para os ovinos que receberam os diferentes tratamentos, conforme demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Eritrograma sanguíneo de ovinos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis e monensina sódica.

Parâmetro	Níveis de inclusão de EEP em mL/dia ¹					Mon	EPM	ER ²	EF ³
	0	6	12	24	36				
He* (10 ⁶ /μL)	7,90	8,20	8,7	8,50	8,50	8,00	0,64	Y=8,30	NS
Ht*(%)	27,20	27,80	30,10	29,80	30,50	25,10	2,59	Y=28,42	NS
Hb*(g/dL)	10,00	10,00	10,70	10,70	10,60	10,10	0,69	Y=10,35	NS
VGM*(fL)	34,30	34,10	34,70	34,70	35,80	35,20	2,13	Y=34,80	NS
HCM*(pg)	12,90	12,20	12,50	12,60	12,50	12,70	1,52	Y=12,57	NS
CHCM*(g/dL)	37,10	35,70	36,10	36,50	34,80	36,10	2,52	Y=36,05	NS

¹EEP= extrato etanólico de própolis, MON= monensina sódica; EPM=Erro padrão da média; ER²= Equação de regressão entre os níveis de extrato etanólico de propolis.EF³= Efeito da monensina sódica pelo teste de polinômios ortogonais.NS = Não significativo (P<0,05).* He = Hemácias; Ht = Hematócrito; Hb = Hemoglobina; VGM = Volume Globular Médio; HCM = Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM = Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

Os valores de hematócrito (Ht) mostraram-se dentro da normalidade, de 27 a 45% para a espécie ovina, exceto nos animais que consumiram monensina sódica que foi de 25,1%, abaixo do normal para a espécie ovina. A hemoglobina (Hb) apresentou pouca variação no sangue dos ovinos que receberam os diferentes tratamentos e dentro do padrão de normalidade (9 a 15g/dL) citado por Pugh (2004).

A contagem de hemácias (He) foi baixa nos ovinos que receberam os diferentes tratamentos, com média de 8,3 x10⁶ células por μL de sangue, quando comparados ao valor normal descrito por Pugh (2004) e Garcia-Navarro (2005) que é 12 x10⁶ células por μL de sangue.

Loureiro et al. (2007) verificaram que as médias das contagens das hemácias dos cordeiros que receberam dieta com 30mg/dia de extrato de própolis na ração, mantiveram-se dentro da faixa de normalidade e que os animais submetidos aos demais tratamentos (sem adição e com 15mg/dia de extrato de própolis) tiveram redução dos valores, ficando abaixo dos valores de referência.

Os valores de hematócrito, hemoglobina e hemácias juntos são utilizados no diagnóstico da anemia (GARCIA-NAVARRO, 2005). Em casos de anemia, o hematócrito encontra-se baixo, podendo os valores de hemácias estarem também baixos ou não (GARCIA-NAVARRO, 2005). Os valores de volume globular médio (VGM) encontram-se dentro dos parâmetros fisiológicos para a espécie ovina que variam de 28 a 40 fL.

Para o leucograma não houve diferença ($p>0,05$) entre os ovinos que receberam os diferentes tratamentos em relação a leucócitos totais, eosinófilos, linfócitos e monócitos (Tabela 5). Todos os valores obtidos estão de acordo com os valores de referência citados por Pugh (2004) e Garcia Navarro (2005) os quais são de 4.000 a 12.000 células por μL , para leucócitos totais, até 10% do total de células brancas para eosinófilos, 40 a 70% de linfócitos e 6% monócitos.

Tabela 5 – Leucograma de ovinos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis e monensina sódica.

Parâmetro	Níveis de inclusão de EEP em mL/dia ¹					Mon	EPM	ER ²	EF ³
	0	6	12	24	36				
LEUC* (10 ⁶ / μL)	6812	6882	6488	6616	6965	6548	511	Y=6719	NS
SEG*(%)	54,2	54,5	52,5	53,2	55,0	50,8	1,25	Y=53,37	*
EOS*(%)	0,8	1,5	1,7	1,6	2,0	3,2	0,56	Y=1,8	NS
LINF*(%)	40,6	40,5	42,2	41,2	40,2	41,8	1,98	Y=41,08	NS
MON*(%)	4	3,4	3,4	4	2,7	3,8	0,9	Y=3,55	NS

¹EEP= extrato etanólico de própolis, Mon= monensina sódica; EPM=Erro padrão da média; ER²= Equação de regressão entre os níveis de extrato etanólico de própolis.EF³= Efeito da monensina sódica pelo teste de polinômios ortogonais.NS = Não significativo ($P<0,05$). * = Efeito significativo quando $P<0,05$ LEUC = Leucócitos; SEG = Neutrófilos Segmentados; EOS = Eosinófilos; LINF – Linfócitos; MON = Monócitos.

Os neutrófilos segmentados (SEG) encontraram-se acima dos valores normais, 10 a 50% (PUGH, 2005), nos animais que receberam dieta controle e com os diferentes níveis de extrato etanólico de própolis, com exceção dos animais que receberam tratamento com adição de monensina sódica (50,8%). A função primária dos neutrófilos é a fagocitose e a morte de microrganismos (LOPES e CUNHA, 2002). De acordo com Latimer (1992), estas células representam uma das principais linhas de defesa do hospedeiro contra os patógenos invasores, especialmente bactérias. Os neutrófilos também podem causar dano tecidual e exercer efeito citotóxico, como atividade parasiticida mediada por anticorpo e atividade tumoricida.

Neste caso, estima-se que os animais podem ter apresentado durante o experimento algum tipo de infecção não manifestada clinicamente e a monensina, por pertencer a uma classe de antibiótico, pode ter ajudado (mesmo que minimamente) no combate à infecção.

Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros bioquímicos do sangue de ovinos que receberam os diferentes tratamentos (Tabela 6). Os valores encontrados estão em conformidade com os parâmetros de referência para a espécie ovina descritos por Pugh (2004), sendo a concentração de glicose entre 50 a 80 mg/dL de sangue, uréia de 8,0 a 20,0 mg/dL, proteínas totais de 6,0 a 7,9 g/dL e albumina de 2,4 a 3,0 g/dL.

Tabela 6 – Parâmetros bioquímicos de ovinos alimentados com diferentes níveis de extrato etanólico de própolis e monensina sódica.

Parâmetro	Níveis de inclusão de EEP em mL/dia ¹					Mon	EPM	ER ²	EF ³
	0	6	12	24	36				
Glicose (mg/dL)	58,40	57,90	58,90	63,10	59,40	58,90	2,91	Y=59,43	NS
Ureia (mg/dL)	8,80	9,50	9,20	8,50	8,80	8,70	1,22	Y=8,91	NS
Proteína total (g/dL)	6,90	6,60	6,80	6,80	6,90	6,70	0,22	Y=6,78	NS
Albumina (g/dL)	2,50	2,30	2,50	2,40	2,40	2,60	0,12	Y=2,45	NS

¹EEP: extrato etanólico de própolis, Mon= monensina sódica; EPM=Erro padrão da média; ER²= Equação de regressão entre os níveis de extrato etanólico de própolis.EF³= Efeito da monensina sódica pelo teste de polinômios ortogonais.NS = Não significativo (P<0,05)

Loureiro et al. (2007), avaliando os parâmetros hematológicos e bioquímicos de cordeiros recebendo 15 ou 30 mg de extrato etanólico de própolis, obtiveram resultados semelhantes ao deste estudo para os parâmetros séricos de glicose (82 mg/dL), uréia (33 mg/dL) e albumina (2,52 g/dL), e não constataram influencia da adição de extrato de própolis na ração. Para as concentrações séricas de proteínas totais, os animais que receberam 15 mg de extrato de própolis apresentaram teores mais elevados de proteínas totais (5,49 g/dL) em relação ao controle (5,31 g/dL) e ao tratamento contendo 30 mg (5,10 g/dL), porém todos os valores se revelaram abaixo dos considerados normais (6,0 a 7,9 g/dL).

As proteínas totais são sintetizadas pelo fígado e a albumina pelo parênquima hepático, e dentre suas funções estão a cessão de aminoácidos para os tecidos, tampão para a manutenção do equilíbrio ácido-base, transporte de moléculas e íon, controle da resposta inflamatória e participação na resistência a infecções. Reações nos teores de albumina e proteínas totais podem estar associadas a doenças renais ou hepáticas.

6. CONCLUSÕES

A monensina sódica foi mais eficiente ao manter o pH ruminal em níveis mais elevados e diminuir a ingestão de matéria seca. Porém, a adição dos extratos etanólicos de própolis não influenciou negativamente a digestibilidade dos nutrientes em ovinos alimentados com dietas com relação volumoso concentrado 50:50.

7. REFERÊNCIAS

AFONSO, J. A. B.; MENDONÇA, C. L. Acidose láctica ruminal. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. (Ed.). **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3.ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 295-399.

ARAÚJO, J. S. ; PÉREZ, J. R. O. ; PAIVA, P. C. A. ; PEIXOTO, E.C.T.M. ; BRAGA, G. C. ; OLIVEIRA, V. ; VALLE, L.C.D. . Efeito da monensina sódica no consumo de alimentos e pH ruminal em ovinos. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v. 11, n.1, p. 39-43, 2006.

BRASIL. **Relatório técnico, portaria do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no 40, de 08 de janeiro de 2006**. Disponível em rede: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/alimentacao/aditivos>> Acesso em: 02 mai 2013.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2.ed. Sao Paulo: Varela, 2005. 206 p.

GHISALBERTI. E.L. **Propolis; a review**. **Bee World**, v.60, p.59-84. 1979

HINO, T., RUSSELL, J.B.. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. **Journal Animal Science**, Champaign, v.64, n.1, p.261-270, 1987.

ÍTAVO, C.C.B.F. ; Morais, M.G. ; COSTA, C. ; Ítavo, L.C.V. ; Franco, G.L. ; da Silva, J.A. ; Reis, F.A. . Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs in feedlot. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.165, n.3, p. 161-166, 2011.

LANA, R.P.; CAMARDELLI, M.M.L.; RODRIGUES, M.T. et al. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras: consumo de matéria seca e de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.1, p.191-197, 2007.

LATIMER, K.S.; MEYER. D.J. Os leucócitos na Saúde e na Moléstia. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina Interna Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. v.4, p.2616-2664.

LOPES, S.T.A.; CUNHA, C.M.S. **Patologia Clínica Veterinária**, Santa Maria, UFSM, 2002. 125p.

LOUREIRO, C. M. B. ; SILVA SOBRINHO, A. G. ; SANTANA, A. E. ; LEÃO, A. G. ; MORENO, G. M. B. ; FERREIRA, D. S. Concentrações sanguíneas de uréia, creatinina, proteínas totais, albumina e glicose de cordeiros alimentados com extrato de própolis. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44, 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal.. SBZ, 2007. CD-ROOM.

MAPA , 2001. Ministério de Agricultura e do Abastecimento. **Instrução normativa Nº 3, de 19 de janeiro de 2001**. Diário Oficial da União, Brasília, D.F. 23 de jan 2001, Seção 1. pp. 18-23. <<http://www.extranet.agricultura.com.br>> Acesso em: 02 fev 2013.

MATOS, M.S.; MATOS, P.F. **Laboratório clínico médico-veterinário**. 2. ed. São Paulo: Editora Parma, 1988. 238p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids, and new world camelids**. Washington, D.C: National Academic Press, 2007. 384p.

OLIVEIRA, M. V. M.; LANA, R. P.; EIFERT, E. C.; LUZ, D. F.; PEREIRA, J. C.; et al., Influência da monensina sódica no consumo e na digestibilidade de dietas com diferentes teores de proteína para ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n.3, p 643-651, 2007.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físicoquímicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**, São Paulo, v.58, n.9, p.2-7, 2000.

PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; PONTARA, L. P. M.; et al. Ação da própolis ou monensina sódica sobre digestibilidade in vitro da matéria seca. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.11, n.4, p.1023-1032, 2010a.

PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; PONTARA, L. P. M.; et al. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dieta à base de forragem com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, n.6, p1336-1345, 2010b.

PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; PONTARA, L. P. M.; et al. Efeito da adição de própolis e monensina sódica na digestibilidade e características ruminais em bubalinos alimentados com dieta à base de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.39, n.9, p2055-2065, 2010c.

PUGH, D.G. **Clínica de Ovinos e Caprinos**. São Paulo: Roca. 2004, 513p.

RUSSEL, J.B., WILSON, D.B. Why are ruminal cellulolytic bacteria unable to digest cellulose at low pH? **Journal of Dairy Science**, Champaign v.79, p. 1503-1509, 1996.

RUSSELL, J.B. **Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition**. Ithaca, New York, 2002, 119p.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial production in vitro. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.32, n.2, p.199-208, 1974.

SCHNEIDER, B.H.; FLATT, W.P. **The evaluation of feeds through digestibility experiments**. Athens: University of Georgia Press, 1975. 423p.

SILVA, J. F.C.; LEÃO, M. I. **Fundamentos de Nutrição de Ruminantes**. Piracicaba, SP, Livroceres.1979. 380p.

SILVA, P.A; VALADARES FILHO, S.C; VALADARES, R.F.D et al., Valor energético do capim-elefante em diferentes idades de rebrota e estimativa da digestibilidade in vivo da fibra em detergente neutro. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.59, n.3, p.711-718, 2007.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos** (métodos químicos e biológicos). Viçosa, MG: Editora UFV, 2002. 235p.

STOCK, R.; MADER, T. **Feed additives for beef cattle**. Nebguide G85-761-A. Disponível: site NebGuide (April 1997). URL: <http://www.ianr.unl.edu/pubs/beef/g761.htm>. Consultado em 05 mai. 2013.

STRADIOTTI JR., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004.

VAN SOEST PJ **Nutritional ecology of the ruminant**, 2 ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, 1994. 476p.

VARGAS, L.H.; LANA, R.P.; MANCIO, A.B. et al. Influência de Rumensin, óleo de soja e níveis de concentrado sobre os consumos e os parâmetros fermentativos ruminais em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.5 p.1650-1658, 2001.