

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS ÁGRARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIA**

CHARLENE CANDIDA RANGEL

**AÇÃO DA PRÓPOLIS NO PERFIL METABÓLICO DE OVELHAS EM FASE
REPRODUTIVA**

ALEGRE-ES

2013

CHARLENE CANDIDA RANGEL

**AÇÃO DA PRÓPOLIS NO PERFIL METABÓLICO DE OVELHAS EM FASE
REPRODUTIVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Orientador: Prof. Dr. Deolindo Stradiotti Júnior.

Coorientador: Antônio Carlos Cóser.

ALEGRE-ES

2013

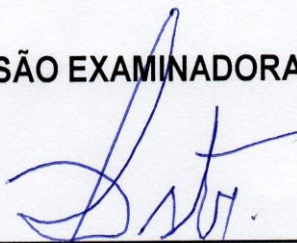
CHARLENE CANDIDA RANGEL

**AÇÃO DA PRÓPOLIS NO PERFIL METABÓLICO DE OVELHAS EM FASE
REPRODUTIVA**

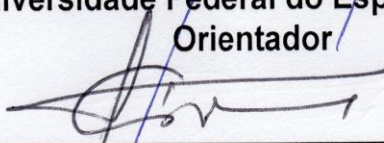
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Aprovada em 28 de novembro de 2013.

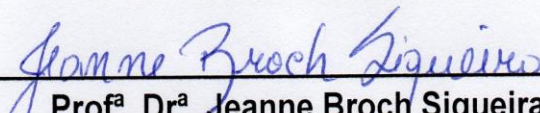
COMISSÃO EXAMINADORA



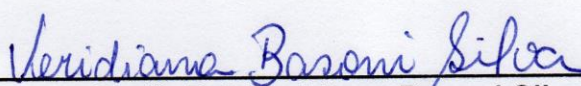
Prof. Dr. Deolindo Stradiotti Júnior
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Antônio Carlos Cóser
Universidade Federal do Espírito Santo
Coorientador



Prof.ª Dr.ª Jeanne Broch Siqueira
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof.ª Dr.ª Veridiana Basoni Silva
Instituto Federal do Espírito Santo

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

R196a Rangel, Charlene Candida, 1983-
Ação da própolis no perfil metabólico de ovelhas em fase reprodutiva /
Charlene Candida Rangel. – 2013.
75 f.

Orientador: Deolindo Stradiotti Júnior.

Coorientador: Antônio Carlos Cóser.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal
do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Ovino. 2. Reprodução. 3. Nutrição animal. 4. Própolis. 5. Metabólitos
sanguíneos. I. Stradiotti Júnior, Deolindo. II. Cóser, Antônio Carlos. III.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV.
Título.

CDU: 619

Dedico este trabalho aos meus pais, exemplo de dedicação, determinação e amor, que sempre apoiaram todas as minhas decisões. Obrigada pelo incentivo e confiança em todas as etapas do meu aprendizado profissional, e obrigada por me ensinar a ser uma pessoa melhor a cada dia. Nós Conseguimos! Ao Prof. Dr. Deolindo Stradiotti Júnior, meu “dindo”, pelo carinho, confiança, paciência, pelos ensinamentos durante todos esses anos de convivência.

AGRADECIMENTOS

Um sonho que se sonha só é apenas um sonho que se sonha só, mas um sonho que sonha junto vira realidade. Assim dizia Raul Seixas. Ninguém consegue nada sozinho, por isso agradeço de coração a todas as pessoas que colaboraram para esta conquista, em especial:

À Deus, primeiramente, por ter me presenteado com a família que tenho, por me abençoar, me conceder saúde, sabedoria, força para conseguir vencer todos os percalços que surgiram durante essa caminhada.

Aos meus pais, Maria Candida Rangel e Edson Santana Rangel, família iluminada, generosa, que me apoiou em momentos de fraqueza, e que sorriu comigo em momentos de Alegria. Eu sou apenas o reflexo da dedicação que tiveram comigo todos esses anos. Nada disso teria sentido se vocês não estivessem ao meu lado.

Ao meu pequeno Davi, amor da minha vida razão do meu viver. Filho abençoado que Deus me deu. Chegou para dar sentido à minha vida, me dar força para lutar e querer sempre o melhor. Amo-te.

A toda minha família, que sempre de longe me apoiaram em todas as minhas escolhas.

Ao Prof. Dr. Deolindo Stradiotti Júnior, meu orientador e amigo, um grande exemplo de superação. Sempre com palavras doces, me orientou e aconselhou ao melhor caminho. Cada conversa nossa era um novo aprendizado.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Cóser, sempre prestativo, esteve presente durante todo esse caminho.

À Prof.^a Dr.^a. Jeanne Broch Siqueira, por contribuir com sua experiência enriquecendo ainda mais o nosso trabalho, além do carinho e atenção que me acolheu.

A todos os meus amigos e amigas que me ajudaram direta ou indiretamente nessa caminhada.

Em especial, ao meu grande amigo Cristiano Tavares, que se mostrou presente deste o começo, sempre torcendo por mim. E por ser uma pessoa fundamental para a execução dessa Dissertação de Mestrado. Agradeço a Deus por ter colocado você no meu caminho.

Ao aluno de graduação Felipe Freixo Pogian, que me auxiliou na execução dessa Dissertação.

Ao aluno de Mestrado Júlio Francisco Valiati Marin, pela colaboração com as análises realizadas nessa Dissertação.

Ao Médico Veterinário e Mestre Diogo Vivacqua de Lima, pelo auxílio no enriquecimento do meu trabalho colaborando com o diagnóstico de gestação das ovelhas.

À equipe de funcionários da área experimental, Gilberto e Jonas, que sempre colaboraram para a realização deste trabalho.

A CAPES, pelo fornecimento da bolsa de estudos.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

LISTA DE SIGLAS E/OU ABREVIATURAS

AEPA - Atividade específica de produção de amônia

AGV - Ácidos graxos voláteis

AST - Aspartato Transaminase

eCG - Gonadotrofina Coriônica Equina

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

UI - Unidade Internacional

EE - Extrato etéreo

ES - Espírito Santo

ECCI - Escore de condição corporal inicial

ECCF - Escore de condição corpora final

FDN - Fibra em detergente neutro

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e estatística

MS - Matéria seca

NDT - Nutrientes digestíveis totais

NUS - nitrogênio ureico no sangue

OPG – Ovos por Grama de fezes

PB - Proteína bruta

PDR - Proteína Degradável no Rúmen

PNDR – Proteína Não Degradada no Rúmen

SAS - Statistical Analysis System

SEBRAE - Serviço Brasileira de Apoio às Micro e Pequenas Empresas

TC - Tratamento controle

TF - Tratamento com flushing

TFP₁ - Tratamento com flushing e com nível 1 de própolis

TFP₂ - Tratamento com flushing e com nível 2 de própolis

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Composição química (%MS) do feno de Tifton 85 e da ração concentrada e proporção dos ingredientes da ração concentrada (%MS).....45
- Tabela 2.** Características físico-químicas do extrato de própolis verde alecrim.....46
- Tabela 3.** Médias e erros-padrão do consumo de matéria seca de ovelhas em relação ao peso vivo, em quatro tratamentos e duas fases (pré e pós cobrição).....48
- Tabela 4.** Taxa de prenhez (%) e tipo de gestação (simples ou gemelar) de ovelhas da raça Santa Inês submetidas a quatro tratamentos alimentares.....51
- Tabela 5.** Médias e respectivos erros padrão dos teores de ureia (mg/L), proteínas totais (g/L), albumina (g/L), globulina (g/L), e aspartato transaminase (U/L) em coleta de sangue de ovelhas realizada em jejum e duas horas nas fases pré e pós cobrição, em relação aos tratamentos.....53
- Tabela 6.** Médias e respectivos erros padrão dos teores de ureia (mg/L), proteínas totais (g/L), albumina (g/L), globulina (g/L), e aspartato transaminase (U/L) em coleta de sangue de ovelhas realizada nas fases pré e pós cobrição, em relação aos tratamentos.....57

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 O rebanho ovino no Brasil	13
2.2 Raça Santa Inês	14
2.3 Reprodução	16
2.3.1 Influência da Nutrição na Reprodução	17
2.4 Perfil Metabólico	20
2.4.1 Indicadores do Metabolismo Protéico	21
2.4.1.1 Proteínas Totais	21
2.4.1.2 Ureia	22
2.4.1.2.1 Ureia e Reprodução	24
2.4.1.3 Albumina	25
2.4.1.3.1 Albumina e Reprodução	26
2.4.4 Globulina	28
2.4.5 Hemoglobina	29
2.5. Ionóforos.....	30
2.5.1 Mecanismo de Ação.....	30
2.5.2.Monensina.....	32
2.6.Própolis.....	35

CAPÍTULO I	38
AÇÃO DA PRÓPOLIS NO PERFIL METABÓLICO DE OVELHAS EM FASE REPRODUTIVA.....	38
Resumo	38
Abstract	40
5. INTRODUÇÃO	41
6. MATERIAL E MÉTODOS	43
7. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
8. CONCLUSÕES	59
9. REFERÊNCIAS	60

INTRODUÇÃO

As expectativas em relação à criação de ovinos no Brasil têm estado em alta nos últimos anos. Relatos sobre as vantagens e perspectivas do crescimento da atividade têm sido constantes, tratando-se de uma atividade emergente no mercado nacional. A raça Santa Inês vem sendo difundida em grande parte do Brasil tropical devido a sua rusticidade, produtividade e alta habilidade materna nas diversas condições climáticas brasileiras. Apesar dessas características desejáveis, há entraves não solucionados e recorrentes, a exemplo dos ajustes nutricional e reprodutivo, essenciais para a obtenção de melhores resultados da ovinocultura para o agronegócio nacional.

Neste sentido, o uso de aditivos pode trazer resultados positivos para obtenção de melhores índices produtivos e reprodutivos. Estudos com aditivos ionóforos tem mostrado que se pode obter redução no consumo e mudanças favoráveis na fermentação microbiana ruminal, contribuindo para redução dos custos de produção. Entre os aditivos não nutrientes, a própolis, substância natural e atóxica, tem se destacado em pesquisas recentes, apresentando efeitos similares aos de ionóforos comerciais. Neste sentido, o uso desse aditivo vem ao encontro do que exige tanto o mercado interno quanto o externo.

O Perfil Metabólico pode ser usado para monitorar a adaptação metabólica e diagnosticar desequilíbrios nutricionais e reprodutivos. Na impossibilidade de se obter resultados da atividade microbiana ruminal, espera-se que se possa relaciona-los com os níveis dos componentes sanguíneos.

Com base no exposto objetivou-se avaliar os efeitos das dietas com e sem a inclusão de extrato etanólico de própolis verde alecrim sobre o consumo de matéria seca, os parâmetros de perfil metabólico sanguíneo e as inter-relações com aspectos reprodutivos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O rebanho ovino no Brasil

O efetivo do rebanho de ovinos no Brasil em 2010 teve um crescimento de 3,4%, onde alcançou 17,3 milhões de cabeças, frente as 16,8 milhões de cabeças em 2009. A região Nordeste se destacou, apresentando o maior número de cabeças de ovinos, totalizando 9,85. Aumento de 3,04% com relação a 2009. A região Sul apresentou o segundo maior rebanho, 4,88 milhões de cabeças, um crescimento de 1,64% comparado a 2009, seguido pela região Centro-Oeste, que apresentou um crescimento significativo do rebanho ovino com 1,26 milhões de cabeças, aumento de 12,44 % no efetivo. Já, as regiões Sudeste e Norte apresentaram um efetivo de 781.874 cabeças, com crescimento de 2,61 % frente a 2009 e 586.237 cabeças, com crescimento de 7,0%, respectivamente (RODRIGUES, 2010).

Os números acima mostram o aumento significativo do rebanho ovino na região Centro-Oeste do Brasil. Três Estados contribuíram para este crescimento. Mato Grosso do Sul apresentou crescimento de 4,05%, Goiás de 7,89% e destaque para o Mato Grosso (crescimento de 24,13%). Já, no Distrito Federal, houve recuo de 2,78%. Nessas regiões, o Bioma que predomina é o Cerrado, sendo a maior formação vegetal brasileira depois da Amazônia e a savana tropical, mais rica do mundo em biodiversidade, ocupa 24% da área total do País, distribuído por 12 Estados, com 204 milhões de hectares. A disponibilidade de 127 milhões de hectares em área contínua faz do Cerrado a maior área agricultável do mundo, não coberta por florestas destinada à produção de alimentos (EMBRAPA, 2013). A região Centro-Oeste ocupa uma área superior a 44% do Cerrado brasileiro. Evidentemente que não há relação direta entre o Bioma Cerrado e o Centro-Oeste (IBGE, 2008), mas o número resultante pode ser um indicativo da importância que este bioma representa para o futuro da criação nacional de ovinos.

Os produtos originados dos ovinos como carne, leite e pele, apresentam crescente procura e aceitação no mercado interno e externo. Porém, para atender à demanda de mercado e as exigências dos consumidores, começam

a ser observadas mudanças nos segmentos de produção e comercialização (SEBRAE, 2005), como por exemplo, o surgimento de criadores especializados, que têm superado a condição de produtores para o mercado local ou autoconsumo. Este fato pode ser observado na região Centro-Oeste, que apresentou um aumento significativo do rebanho. O suporte das associações aos produtores, com realização de eventos como feiras e exposições fortalece a cadeia produtiva.

Com a criação de ovinos ocupando cada vez mais espaço, fica evidente que para este setor ter uma competitividade com outras cadeias mais organizadas como a de frango e suínos, é necessária a modernização de importantes elos desta cadeia, principalmente naqueles segmentos localizados além da porteira das fazendas, nas atividades agroindustriais, nas ações mercadológicas, na distribuição e comercialização dos produtos.

2.2 Raça Santa Inês

A escolha da raça ideal, dentre os fatores de produção que determinam a eficiência no processo produtivo de carne ovina, é o que mais influência a quantidade e a qualidade do produto final (SOUSA, 2003), motivo pelo qual esta seleção é essencial a uma exploração comercial bem sucedida, de alta produtividade e, ecologicamente sustentável, sob condições ambientais adequadas. Porém, nenhuma raça pode reunir todas as características produtivas, reprodutivas e econômicas desejáveis.

A origem da raça Santa Inês, hoje encontrada em todas as regiões do Brasil, pode ser proveniente de combinações de quatro fontes genéticas, segundo Sousa, (2003): a) animais do tipo Crioulo, trazidos por colonizadores portugueses e espanhóis, lanados, mas que sob condições tropicais eliminaram ou reduziram a lã; b) ovinos deslanados oriundos do continente africano, os quais deram origem à maioria das raças deslanadas do Brasil, América Central e Caribe; c) a raça Bergamácia, de origem italiana, que foi usada para cruzamento tanto com as ovelhas remanescentes daquelas oriundas do continente africano, como com a raça Morada Nova, seguido de

um período de seleção e/ou evolução para ausência de lã; d) finalmente, no final da década de 80, um pequeno grupo de criadores adicionou à Santa Inês, as raças Somalis e Suffolk.

De acordo com Figueiredo et al. (1983), são animais de grande porte, apresentam bom potencial de crescimento, boa produção de leite, característica importante para criar bem os cordeiros e uma baixa taxa de partos múltiplos. O padrão da pelagem inclui o branco, o vermelho, o preto e o malhado. Em condições normais de pastejo e manejo alimentar, o peso de uma ovelha adulta varia de 40 a 60 kg e os machos podem atingir até 120 kg. A seleção praticada na raça tem sido orientada para tamanho e peso corporal, ausência de lã e cornos e, presença de uma intensa pigmentação. As fêmeas apresentam boa habilidade materna e conseguem facilmente parir cordeiros vigorosos, além de não apresentarem uma estacionalidade reprodutiva, sendo não estacional. A idade à puberdade varia de 274 a 376 dias e à primeira parição, de 442 a 551 dias; o intervalo de parto varia de 227 a 307 dias, a fertilidade ao parto de 83,6 a 93%, a prolificidade, de 1,1 a 1,4 e a sobrevivência à desmama, de 69 a 87% (SOUZA, 2003).

Com relação aos aspectos sanitários e de manejo, os ovinos, de forma geral, são susceptíveis à infecção nos cascos denominada pododermatite necrótica, sendo os lanados particularmente mais sensíveis. Já, os animais da raça Santa Inês tem mostrado menor susceptibilidade a esse tipo de problema. O aparecimento de miíases secundárias, originadas pela dificuldade de cicatrização, também são menos incidentes nesta raça.

Ovinos criados em clima tropical úmido, particularmente em sistemas intensivos de exploração, são sujeitos às endoparasitoses gastrintestinais. O parasito do gênero *Haemonchus* é o principal agente causador deste tipo de enfermidade, espoliando o organismo animal através de sua ação hematófaga. Trabalhos realizados por Bueno et al. (2002) na região de São Paulo, demonstraram maior resistência de ovelhas Santa Inês ao *Haemonchus*, quando comparadas às ovelhas Suffolk, Ile de France e Poll Dorset. Amarante et al., (2004) também observaram, em seus estudos, maior resistência à infecção por nematódeos gastrintestinais em cordeiros da raça Santa Inês quando comparados com cordeiros Suffolk e Ile de France.

Devido ao seu cruzamento de origem, a presença da raça Bergamácia eleva a capacidade leiteira da raça Santa Inês, fazendo com que as ovelhas apresentem períodos de lactação mais longos que as raças especializadas para corte e grande número de animais apresentam úberes com implantação não satisfatória. Essa característica é um ponto negativo da raça, segundo Bueno et al. (2006), pois dificulta o desmame precoce dos cordeiros, prejudicando o sistema intensivo de exploração, além de causar o frequente aparecimento de mastites, o que pode levar à perda dos tetos.

2.3 Reprodução

A ovelha é um ruminante poliéstrico sazonal com um padrão reprodutivo caracterizado por dois ciclos distintos: um ciclo éstrico que tem a duração de 16 a 17 dias e está dividido em fase folicular e fase lútea (HENDERSON, 1990; SCARAMUZZI et al., 1993) e um ciclo anual de atividade ovárica, determinado pelo fotoperíodo (VIÑALES, 2003). O fotoperíodo, ou a intensidade luminosa, é um fator preponderante na regulação da estacionalidade reprodutiva da espécie ovina. Sendo assim, ovelhas criadas em zonas tropicais, a exemplo animais da raça Santa Inês, onde a variação da luz diária é menor, não apresentam sazonalidade reprodutiva (SIMPLICIO et al., 1982)

Este ciclo anual de atividade ovárica, que se traduz na sazonalidade da reprodução, surgiu como forma de adaptação à variação sazonal de temperatura e disponibilidade de alimento que os animais das zonas de climas temperados têm de enfrentar. A ocorrência de nascimentos na época mais favorável do ano, normalmente a primavera, permite que os recém nascidos cresçam sob condições de temperatura e de disponibilidade de alimento favoráveis (VIANA, 2010). Assim, em termos gerais, as ovelhas apenas se tornam sexualmente ativas em resposta à diminuição da duração dos dias (final do verão, início do inverno), sendo, portanto “reprodutores de dias curtos”.

Denominam-se poliéstricos sazonais de dias curtos, sendo a sazonalidade reprodutiva uma característica limitante da sua produtividade, uma vez que nos sistemas comerciais de produção estas podem não ser as

épocas que os agricultores mais desejam para a obtenção e venda dos seus produtos (SCARAMUZZI et al., 2006). Já, raças como a Santa Inês são denominadas poliéstricas não estacionais, possibilitando que ocorram partos durante o ano todo.

2.3.1 Influência da Nutrição na Reprodução

Nos ruminantes, a nutrição influencia a fertilidade diretamente por intermédio do fornecimento de nutrientes específicos, que são necessários para os processos de desenvolvimento do folículo, ovulação, maturação oocitária, fertilização, sobrevivência embrionária e o estabelecimento da gestação. Indiretamente, atua sobre as concentrações circulantes dos hormônios e outros metabólitos sensíveis aos nutrientes que são requeridos para o sucesso destes processos (ROBINSON et al., 2006). A relação entre a nutrição da ovelha e o crescimento e sobrevivência do embrião (RHIND et al., 1989) pode depender de interação entre o genótipo, a fecundidade, o grau de restrição alimentar e a duração do mesmo.

A existência ou não da atividade reprodutiva é a primeira resposta ao nível nutricional, ou seja, a nutrição tem inicialmente um efeito qualitativo sobre a fertilidade, atuando sobre o eixo hipotálamo hipofisário que controla a ovulação, permitindo que esta ocorra ou, bloqueando-a. Se a resposta for afirmativa, o animal tem então que ajustar o desempenho reprodutivo (concretamente a taxa de ovulação) ao fornecimento nutricional, efeito quantitativo sobre a prolificidade (SCARAMUZZI e MARTIN, 2008).

Os rebanhos de ovelhas Merino, postas à cobrição no fim da primavera/início do verão estão normalmente sujeitos a períodos de estresse alimentar em ambas as fases de desenvolvimento folicular, devido a variações sazonais na disponibilidade do alimento (VIANA, 2010), o que pode influenciar a taxa de ovulação e a qualidade dos oócitos. Assim, durante o período de preparação para a cobrição, no decurso desta e ao longo do primeiro mês de gestação, (JARRIGE, 1988) devem evitar-se as variações bruscas na alimentação, já que

se dá o risco de perturbar a entrada em cio das ovelhas e, posteriormente, aumentar a mortalidade embrionária.

Diante da grande necessidade de se fornecer uma dieta que possa auxiliar o período reprodutivo das fêmeas, a fim de se obter maior resposta produtiva e reprodutiva, é que em alguns casos os produtores utilizam o flushing. O flushing é uma suplementação alimentar que é fornecida às fêmeas, imediatamente antes da cobertura e que possibilita elevar o nível proteico, energético ou ambos entre 20 e 30% acima das necessidades de manutenção, (VIANA, 2010). De acordo com Chagas et al. (2007), o objetivo do flushing é aumentar o número de ovulações, melhorando a fertilidade do plantel com a obtenção de maior número de partos múltiplos. Russel (1982) recomenda que o flushing deva começar de duas a quatro semanas antes da estação de monta e continuar até duas a três semanas após, visando à diminuição da mortalidade embrionária.

Trabalhos realizados por Abecia et al. (1999), registraram taxa de prenhez de 100% em ovelhas submetidas ao flushing 15 dias após o início da estação de monta, enquanto naquelas sem suplementação essa taxa foi de 40%.

Os alimentos que podem ser utilizados na formulação de rações concentradas a serem fornecidas para fêmeas em reprodução podem ser o milho triturado, o farelo de soja, torta ou caroço de algodão, farelo de mandioca e farelo de trigo. (SOARES et al., 2007).

Utilizando 112 ovelhas dos grupos raciais Hampshire Down, Ile de France, Suffolk e Corriedale, Mori et al. (2006) submeteram os animais à diferentes suplementações alimentares antes e durante a estação de monta. Dessa forma, os animais foram separados em três grupos: T₁ (sem suplementação), T₂ (suplementação com 600 g/dia de milho triturado) e T₃ (suplementação com 600 g/dia de concentrado constituído de 75% de milho triturado e 25% de farelo de soja). Os autores observaram que o flushing não resultou em maior taxa de parição, nem em aumento de partos gemelares, porém, ocasionou maior índice de natalidade nas ovelhas que receberam suplementação somente com milho, concluindo que, a suplementação

energética com milho pode melhorar o número de cordeiros nascidos por ovelha acasalada.

Além de melhorar a nutrição utilizando o flushing, para se obter melhores resultados produtivos e reprodutivos, é importante que no momento da cobertura os animais estejam com boas condições corporais pois, segundo Boland et al. (2001), uma rápida melhoria da condição corporal está normalmente associada a um aumento da taxa de ovulação e da prolificidade.

A forma mais difundida de avaliação da condição nutricional de ruminantes é o escore de condição corporal (ECC). Esta é uma avaliação subjetiva que tem o objetivo de categorizar animais de acordo com o acúmulo de gordura corporal, sendo extremamente útil no manejo de ovinos (RUSSEL et al., 1969). Cezar e Souza (2006) relatam, ainda, que o ECC pode ser definido como a quantidade de tecido muscular e adiposo armazenado pelo corpo do animal em determinado momento do ciclo reprodutivo/produtivo, que serve para estimular a quantidade de energia acumulada do animal naquele dado estado fisiológico.

O método de avaliar o ECC do animal, de acordo com Jefferies (1961) e Russel, Doney e Gunn (1969), consiste de uma escala de 1 a 5, em que 1 representa o animal em caquexia e 5, um animal obeso. Os escores são obtidos por meio da palpação dos músculos dorsais e transversais das vértebras lombares, em que se avaliam a quantidade de músculo e de gordura acumulados sobre as estruturas ósseas.

Estudos realizados desde a década de 70 têm demonstrado a importância da avaliação do ECC para aumento da eficiência reprodutiva. Cumming (1977) observou em seus estudos que ovelhas mais pesadas apresentaram uma maior taxa ovulatória em comparação às mais leves.

Várias pesquisas vem demonstrando que matrizes com ECC entre 2,5 a 3, apresentam maior taxa de ovulação (GUN e MAXWELL, 1978; MOLINA et al., 1993), maior ocorrência deaios (MELLADO et al., 1994), maior taxa de concepção (SANTUCCI et al., 1991), menor taxa de mortalidade embrionária (MENZIES et al., 1998) e maior taxa de parição (MELLADO et al. 2004).

2.4 Perfil Metabólico

Perfil metabólico é o termo utilizado para avaliar alguns componentes hemato bioquímicos específicos que são utilizados no diagnóstico e prevenção dos transtornos metabólicos. Além disso, fornece informações valiosas com relação ao *status* nutricional do rebanho.

O teste dos perfis metabólicos para avaliar o estado nutricional desenvolvido por Payne et. al (1970), na Grã-Bretanha, foi direcionado originalmente, para rebanhos de bovinos de leite. Posteriormente, no final da década de 70, o uso do perfil metabólico foi utilizado no Chile por Wittwer e Contreras (1980) e, no Brasil, González (1998) também fez o uso em bovinos de leite. Por outro lado, Hearly e Falk (1974), na Austrália, avaliaram o perfil metabólico de ovelhas clinicamente normais, mantidas em pastagem durante um ano. O resultado do trabalho demonstrou pequenas variações nos constituintes bioquímicos do soro.

Ribeiro et. al (2004) avaliaram o perfil metabólico de ovelhas mantidas em campo nativo do Rio Grande do Sul (RS) durante a gestação e lactação. O estudo demonstrou um déficit energético e mineral que pode comprometer a plena expressão do potencial zootécnico dos ovinos.

Atualmente, além de avaliar o status nutricional do rebanho, o perfil metabólico também tem sido empregado na avaliação do balanço nutricional dos rebanhos, uma vez que, em algumas situações, as dietas mal balanceadas podem influenciar nas concentrações sanguíneas de alguns metabólitos, assim como em outros fluidos biológicos, tais como leite, urina e saliva (GONZÁLEZ, 2000b).

Geralmente, a maioria das doenças metabólicas nutricionais e os desequilíbrios nutricionais têm um efeito de difícil percepção e limitam a produção animal de modo persistente, causando diminuição na rentabilidade da empresa pecuária (GRANDE e SANTOS, 2006).

O desequilíbrio nutricional, de acordo com Contreras (2000), deve ser avaliado levando em consideração outros fatores, não apenas avaliando o perfil metabólico. Fatores como produção, problemas no rebanho, alimentação, manejo, deficiência ou excesso de um nutriente na alimentação podem

contribuir para o desequilíbrio nutricional. Por isso, esses fatores devem ser avaliados simultaneamente ao perfil metabólico. Além disso, segundo Brito et al. (2006); Balikci et al. (2007), o tipo de gestação, a nutrição e as estações do ano podem ser responsáveis por alterações no perfil metabólico de fêmeas em atividade reprodutiva. Por isso, é de extrema importância a avaliação dos resultados bioquímicos, correlacionando esses possíveis elementos de interferência.

Com o estudo do perfil metabólico é possível, segundo Dirksen e Breitner (1993), determinar os componentes bioquímicos sanguíneos que representam as principais vias metabólicas do organismo, das quais a glicose, o colesterol e o betahidroxibutirato representam o metabolismo energético, a uréia, a hemoglobulina, as globulinas, a albumina e as proteínas totais representam o metabolismo protéico e o cálcio, o fósforo inorgânico, o magnésio, o sódio e o potássio representam os macrominerais (WITTEWER e CONTRERAS, 1980).

Diante do fato de se avaliar o perfil metabólico em ovinos, muitos trabalhos podem ser utilizados como base a fim de se discutir os valores obtidos dos metabólitos. Entretanto, esses trabalhos utilizam animais de diferentes raças, idades, sexo e local de criação, com necessidades nutricionais, energéticas e metabólicas diversificadas, em que esses fatores refletem nos seus perfis metabólicos. Além disso, qualquer enfermidade que os animais venham adquirir podem causar alterações hematológicas e bioquímicas.

2.4.1 Indicadores do Metabolismo Proteico

2.4.1.1 Proteínas Totais

As proteínas totais têm sido muito utilizadas para indicar o status nutricional proteico dos animais, em que os níveis séricos de ureia e albumina são os principais indicadores do metabolismo proteico em ruminantes. As proteínas totais são sintetizadas principalmente pelo fígado, sendo sua taxa de

síntese diretamente relacionada com o estado nutricional do animal, especialmente com os níveis de proteína e de vitamina A e com a funcionalidade hepática (PAYNE e PAYNE, 1987).

A diminuição das proteínas totais no plasma está relacionada com deficiência proteica na alimentação, descartadas causas patológicas. Estima-se que dietas com menos de 10% de proteína, de acordo com Kaneko et al. (1997), causam diminuição dos níveis proteicos no sangue. Relatam, ainda, que em estados de inanição, elevada proteína de reserva, especialmente do músculo e fígado, são degradadas para servir de fonte de glicose, reduzindo as proteínas totais no plasma, havendo queda na osmolaridade plasmática e resultando em saída de líquidos da corrente circulatória para os tecidos. Os valores de proteínas totais como referência para a espécie ovina encontram-se dentro do intervalo de 60 a 79 g/L (KANEKO et al. 1997)

Ribeiro et al. (2003) estudando o perfil metabólico de borregas Corriedale em pastagem nativa durante as diferentes estações do ano, observaram que os metabólitos relacionados com o metabolismo proteico (proteínas totais, albumina e globulinas) apresentaram diferenças.

2.4.1.2 Ureia

A ureia apresenta-se disponível ao animal sob duas formas, a endógena, proveniente do metabolismo proteico e a exógena, que é fornecida ao ruminante como fonte de nitrogênio para posterior ação dos microrganismos ruminais (FERNANDES, 2008).

De acordo com Wittwer et al. (1993), a ureia é sintetizada no fígado em quantidades proporcionais à concentração de amônia produzida no rúmen, em que sua concentração e seu destino final dependem do aporte proteico, bem como da relação energia:proteína da dieta. Segundo esses autores, quando há energia suficiente, a amônia é convertida em proteína microbiana. Portanto, o equilíbrio energia:proteína na dieta de ruminantes é fundamental para o bom aproveitamento da ureia.

A concentração de ureia no sangue pode sofrer algumas alterações passageiras, principalmente durante o dia e logo após a alimentação. A rápida fermentação, seguida da absorção de amônia, eleva a ureia nesse período (GARCIA, 1997).

Oliveira Junior et al. (2004), em bovinos da raça Nelore, não castrados, com peso inicial de 420 Kg, avaliaram a substituição total de uma fonte de proteína verdadeira (farelo de soja), em uma dieta deficiente em proteína degradável no rúmen (PDR), por ureia ou amireia (fontes de nitrogênio não proteico), ambas em uma dieta adequada em PDR. Verificaram que o pico de produção de amônia ruminal ocorre duas horas após a ingestão do alimento, independente da degradabilidade ruminal da fonte proteica fornecida aos animais (farelo de soja, ureia ou amireia).

A formação da ureia ocorre por meio da ação das enzimas microbianas do rúmen a compostos nitrogenados da dieta, que são convertidos em amônia. A amônia produzida é utilizada pela microflora para a formação dos aminoácidos, juntamente com o esqueleto carbonado fornecido pelos carboidratos da dieta. A amônia que não é utilizada pela flora ruminal passa rapidamente pela parede do rúmen e vai para o sangue, tendo como destino final o fígado, onde há a formação da ureia. A ureia formada no fígado possui características de ser não tóxica e hidrossolúvel, circula no sangue e é eliminada na urina ou no leite, ou reciclada para o rúmen via saliva ou por difusão na parede deste. (CHURCH, 1988)

Com relação aos níveis de ureia sérica, Peixoto (2007) relata que os teores encontrados em ovinos tendem a ser sempre mais altos que dos bovinos. Enquanto nos bovinos de leite ou de corte, estes teores variam de 8,4 a 27,2 mg./dL (ELROD e BUTLER, 1993; FERGUSON et al., 1993; BUTLER et al., 1996), autores como Ribeiro et al. (2003) encontraram teores médios de ureia sérica, para borregas Corriedale, de 37,94 mg/dL, nunca inferiores a 34,15 mg/dL. Estudos realizados por Bezerra (2006) também apontam para teores de ureia sérica variando entre 38,95 e 48,55 mg/dL em cordeiros da raça Santa Inês.

Quando a concentração de ureia está fora dos limites de referência, que de acordo com Kaneko (1997), encontra-se compreendido entre 17 e 43 mg/dL

para ovinos, esta pode ser associada a diferentes problemas produtivos e/ou reprodutivos. De acordo com Campos (2002), estudos têm sido conduzidos na procura de uma associação entre a nutrição proteica e o comportamento reprodutivo, mas todos afirmam que excessos de proteína afetam negativamente a fertilidade. Segundo este mesmo autor, quando o nível de ureia de um animal ou de um rebanho está elevado é indício de que a proteína está sendo utilizada de forma ineficiente e, considerando que é um dos componentes mais caros da dieta, ocorrem perdas econômicas significativas, que serão somadas, ainda, às perdas por falhas reprodutivas.

2.4.1.2.1 Ureia e Reprodução

O balanço energia:proteína tem um papel importante no início da atividade ovariana e na involução uterina do puerpério inicial. Dessa forma, a sua alteração provoca uma diminuição na fertilidade. Esta relação com a fertilidade tem sido associada ao efeito tóxico metabólico da ureia que, de acordo com Wittwer (2000), compromete a sobrevivência de gametas ou embriões, por sua difusão no trato reprodutivo e no mucus vaginal, alterando o ambiente uterino, levando a uma mortalidade embrionária. Além disso, ocorre, efeito espermicida, manifestando-se com cios salientes e ciclos estrais irregulares. Atualmente tem sido demonstrado que a uremia seria unicamente um sinal de deficiência de energia, que altera a função do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, com diminuição da progesterona plasmática, atrasando a primeira ovulação e diminuindo a taxa de concepção (GRANDE, 2008). Uma concentração elevada de ureia no sangue de ovelhas (entre 15,8 e 23,2 mg/dL), de acordo com Cannas et al. (1998), está associada a efeitos deletérios no início do desenvolvimento embrionário.

Balikci et al., (2007), trabalhando com 30 fêmeas sadias, prenhes de um e dois fetos, observaram aumento nos níveis séricos de uréia por volta de 60 e 100 dias de gestação e declínio por volta de 150 dias em ambos os grupos. BUTLER et al. (1996) utilizaram vacas de leite da raça Holandesa recebendo uma dieta contendo entre 17,5 e 19% de PB em seus trabalhos, e observaram

que à medida que os níveis de ureia no plasma e do leite ultrapassavam 19 mg/dL, a probabilidade de uma nova gestação decrescia.

Trabalhos realizados por Rhoads et al. (2006) indicam decréscimo na fertilidade de vacas leiteiras à medida que aumenta a concentração de nitrogênio ureico do plasma (PUN). Foi verificado que fêmeas doadoras com teor moderado de PUN (15,5 mg/dL) obtiveram taxa de gestação na transferência de embrião superior (35% vs. 11%) àquelas com teor elevado de PUN (24,4 mg/dL).

De acordo com Kaneko (1997), os valores de referência da ureia para bovinos está compreendido entre 23 e 58 mg/dL.

2.4.1.3 Albumina

A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, correspondendo aproximadamente a 50% das proteínas circulantes. Outras destas proteínas globulares são as globulinas. Assim como a ureia, esta é sintetizada no fígado e contribui com 80% da osmolaridade do plasma (CONTRERAS, 2000). A albumina, de acordo com González (2009), constitui uma importante reserva proteica, bem como um transportador de ácidos graxos livres, aminoácidos, metais, cálcio, hormônios e bilirrubina. A albumina também tem função importante na regulação do pH sanguíneo, atuando como ânion. Segundo González (2000b), a concentração de albumina pode ser afetada pelo aporte de proteína na ração, pelo funcionamento hepático, disponibilidade de aminoácidos, desidratação e perdas durante doenças, como por exemplo, parasitismos gastrintestinais (devido à saída de proteínas pelo intestino). Valores persistentemente baixos de albumina sugerem inadequado consumo proteico. Entretanto, para detectar mudanças significativas na concentração de albumina, é necessário um período de pelo menos um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação desta proteína no ruminante (PAYNE e PAYNE, 1987).

De acordo com González (2009), baixos níveis de albumina com níveis de ureia normais ou elevados, acompanhados ou não de valores de enzimas

altos, podem ser indicadores de falha e/ou de lesão hepática. Outras causas de baixo nível de albumina no sangue podem ser parasitismos crônicos, doença renal que cursa com síndrome nefrótico ou glomerulonefrite crônica e hemorragias.

Estudos sobre a relação fertilidade e níveis de albumina na época da monta, mostraram que menores taxas de gestação de vacas estão associadas com teores menores de 30 g/L de albumina sérica (GREGORY, SIQUEIRA, 1983). Estudos realizados pelos mesmos autores verificaram que vacas de corte com teores normais de albumina ($\geq 2,8$ g/dL) obtiveram 78% de gestação contra 50% em vacas com teores reduzidos. González et al. (1993) e González et al. (2000a) encontraram, respectivamente, valores médios para albumina sérica de 3,0 g/dL e 3,33 g/dL, em rebanhos de corte.

Com relação á produção de leite, importante fator econômico, este possui uma relação direta com a concentração de albumina. Níveis de 29,0 g/L foram relatados em vacas com produção abaixo de 15 kg de leite/dia. Já, níveis de 32,2 g/L foram encontrados em animais produzindo acima de 30 kg/dia. Se o balanço proteico negativo em vacas permanecer por muito tempo, estas sofrerão hipoalbuminemia e redução na produção de leite. A baixa concentração de albumina irá gerar não somente queda da produção em quantidade, mas também em qualidade, reduzindo o teor de sólidos não gordurosos no leite (GONZÁLEZ, 1997). Além disso, pode ocorrer queda na pressão osmótica do plasma e levar a ascite, geralmente quando a concentração de albumina cai para menos de 2,0 g/dL, bem como afetar o metabolismo de outras substâncias, devido ao papel da albumina de transportador. Para bovinos, valores superiores a 3,8 g/dL de albumina podem indicar acidose láctica. (GONZALEZ e SCHEFFER, 2002). Valores de albumina como referência para a espécie ovina encontram-se dentro do intervalo de 26 a 42 g/L, conforme estudos realizados por Kaneko (1997).

2.4.1.3.1 Albumina e Reprodução

Conforme Payne; Payne (1987); Gonzalez (1997), as concentrações de albumina estão diretamente relacionadas com o desempenho produtivo e reprodutivo dos ruminantes. Segundo Contreras (2000), uma dieta que consiste em baixa concentração de proteína, resultará em diminuição nos níveis de albumina que persiste por dois a três meses após o parto. Não só a deficiência de proteína na dieta, mas a demanda de aminoácidos para a síntese de proteínas no leite reduz a síntese de outras proteínas e, por isto, as concentrações de albumina e hemoglobina diminuem à medida que a lactação avança (WITTWER, 2000).

Nos rebanhos em que as concentrações de albumina estão dentro do intervalo de referência cerca de 10 semanas após o parto, observa-se maior produção de leite na lactação e maior taxa de fertilidade do que rebanhos em que estas concentrações se mantêm diminuídas (CONTRERAS, 2000).

Kaneko et al. (1997), observaram que, em ovelhas, os níveis de albumina declinam a um mínimo na fase média de gestação e retornam praticamente ao nível normal na fase final de gestação.

Estudos realizados por Ribeiro et al. (2004) com ovelhas Border Leicester x Texel, verificaram queda no valor do ECC do início até o final de gestação (3,30 e 2,11, respectivamente), o mesmo observado com os teores de albumina sanguínea na metade e final da gestação (31,05 e 24,44 g/L, respectivamente). Segundo os autores, isto se deve ao fato de as ovelhas em final de gestação possuir uma demanda proteica maior para o crescimento fetal e desenvolvimento do úbere, reduzindo os teores de albumina.

O nível de albumina no sangue pode diminuir ao parto, devendo recuperar-se durante o pós parto. A diminuição da síntese hepática de proteínas e do consumo, ocasionadas pelo estresse ou por combinação de outros fatores, pode ser uma explicação. Em vacas, a concentração de albumina pode diminuir, após o parto, a níveis menores que 30 g/L e, aumentar no pós parto a níveis de 3,7 a 6,9 mg/dL por dia. Estes aumentos não ocorrem em animais com dietas pobres em proteína, nas quais a concentração pode permanecer baixa por quatro a seis semanas após o parto (GONZÁLEZ, 1997).

Em vacas, a fertilidade diminui se a concentração de albumina estiver abaixo de 32 g/L, de acordo com González (1997). Animais que mantêm os níveis de albumina mais estáveis tendem a serem mais férteis.

Em vacas leiteiras, a concentração de albumina tem demonstrado uma relação direta com a produção de leite. Em vacas cuja produção de leite era menos de 15 Kg/dia, foram relatados níveis de 29,0 g/L de albumina, entretanto em vacas cuja produção ultrapassava 30 kg/dia, os níveis de albumina eram de 32,2 g/L. (GONZÁLEZ, 1997).

2.4.4 Globulina

A concentração sérica de globulinas pode ser obtida pela diferença de concentração entre as proteínas totais e a albumina, podendo ser divididas em 3 tipos α , β e γ , identificadas mediante eletroforese. Além disso, elas têm funções no transporte de metais, lipídeos e bilirrubina, bem como papel na imunidade (fração gama). As globulinas são indicadores limitados do metabolismo proteico, tendo mais importância como indicadores de processos inflamatórios (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Dessa maneira, a globulina reflete o *status* imunológico do animal e, portanto altas concentrações deste metabólito geralmente estão associadas com doença ou vacinação recentes (PAYNE ; PAYNE, 1987). Alterações nos níveis de globulinas podem ser utilizadas para avaliar a adaptação ao estresse. Animais adaptados possuem níveis normais, ao contrário daqueles não adaptados. (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

Segundo González et al. (1996) a concentração de globulinas diminui ao final da gestação devido à passagem de gamaglobulinas para o colostro. Por isso, logo após o nascimento, as concentrações de globulinas totais e, conseqüentemente, de proteínas totais encontram-se em níveis mínimos (MADEN et al., 2003). No entanto, elevam-se rapidamente, à medida que se oportuniza a absorção de imunoglobulinas procedentes da mãe por meio do consumo de colostro (LOSTE et al., 2008, ECKERSALL, 2008).

Estudos realizados por Madureira (2013), a fim de estabelecer os valores hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper e avaliar a

influência do sexo e idade nestas determinações, realizaram estudos com 72 animais distribuídos em três grupos experimentais de acordo com a faixa etária e com o sexo. Considerando aspectos produtivos e reprodutivos, os autores observaram que as fêmeas necessitam de um aporte alimentar proteico maior do que os machos, para que dessa forma, possam adquirir maturidade reprodutiva, ganhar peso, produzirem colostro e leite em quantidade e qualidade adequadas. Segundo Kaneko (1997), os níveis de normalidade para valores de referencia para a espécie ovina esta compreendida entre 35 e 57 g/L.

2.4.5 Hemoglobina

A hemoglobina é constituída por uma proteína, a globina, cerca de 96 % e uma protoporfirina denominada heme, representando 4%, formada por um grupo que contém quatro anéis pirrólicos e ferro. É produzida pelos eritrócitos maduros, sendo que sua degradação leva à formação de bilirrubina. Praticamente toda a hemoglobina está localizada no eritrócito. Entretanto há uma fração mínima que pode ser encontrada no plasma, como resultado da degradação eritrocítica. A hemoglobina possui a função de transportar o oxigênio no sangue, sendo que a concentração da mesma aumenta com a idade ou em períodos de desidratação (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Entretanto segundo Lacerda (2006) muitas patologias resultam em síntese química anormal de hemoglobina, com capacidade de ligação ao oxigênio diminuída. Além das hemoglobinopatias, há muitas toxinas comuns, incluindo monóxido de carbono e nitratos, que causam alterações potencialmente letais por agirem na capacidade da hemoglobina de se ligar ao oxigênio.

Uma parcela importante dos parâmetros hematológicos sofre influência da alimentação. De acordo com Contreras et. al (2000) e Del Valle et al. (1983), quando os requerimentos nutricionais de ovelhas no pré e pós parto não são preenchidos, os níveis de hemoglobina e o volume globular apresentam-se diminuídos, podendo levar a um quadro de anemia. A anemia pode estar relacionada à redução nos níveis de hemoglobina e do hematócrito. Configura-

se anemia quando a hemoglobina é menor que 8 g/dL ou o hematócrito menor que 25%. Em bezerros, a anemia pode retardar o crescimento. Já em vacas, pode baixar a fertilidade (GONZÁLEZ, 1997).

2.5. Ionóforos

Os ionóforos são antibióticos que, seletivamente, deprimem ou inibem o crescimento de micro-organismos do rúmen (NICODEMO, 2001). Estes transportam íons e, a partir disso, têm a capacidade de formar complexos lipossolúveis com cátions e mediar seu transporte através das membranas lipídicas (PRESSMAN, 1968). De acordo com a classificação química, os ionóforos são antibióticos poliésteres carboxílicos, de baixo peso molecular, produzidos por diversas linhagens de actinomicetos, mais especificamente por *Streptomyces sp.*. A partir da década de 70 os ionóforos começaram a ser utilizados nas dietas de ruminantes, sendo anteriormente fornecidos como coccidiostáticos para aves. De acordo com Lana (1998) os ionóforos mais importantes são: monensina, lasalocida, salinomicina, maduramicina, narasina, tetronasina, lisocelina, dianemicina, nigercina, gramicidina, semduramicina e laidlomicina.

Existem mais de 120 ionóforos descritos, porém, somente a monensina, a lasalocida, a salinomicina e a laidomicina propionato são aprovados para uso em dietas de ruminantes (NAGARAJA et al., 1997). No Brasil, entretanto, apenas a monensina sódica e a lasalocida são liberados para uso em ruminantes, comercializados com os nomes de Rumensin® e Taurotec®, respectivamente.

2.5.1 Mecanismo de Ação

O principal mecanismo de ação dos ionóforos, para melhorar a eficiência alimentar nos ruminantes, está relacionado às mudanças na população microbiana do rúmen, selecionando as bactérias Gram-negativas, produtoras

de ácido propiônico, mais resistentes, inibindo as Gram-positivas, responsáveis pela desaminação de aminoácidos, e segundo Henderson et al. (1981) e McCaughey et al. (1997), inibindo as produtoras de ácido acético, butírico e láctico, hidrogênio e metano.

As bactérias Gram negativas são mais resistentes aos ionóforos devido à estrutura de sua parede celular, que apresenta membrana externa de proteção, responsável por regular o balanço químico entre o meio interno e externo da célula (RUSSELL E STROBEL, 1989).

De acordo com Russell e Strobel (1989), os ionóforos desempenham a função de carreador iônico, quando combinados com determinados íons. Alguns se ligam a apenas um cátion, enquanto outros se ligam a vários, simultaneamente. Este mecanismo foi proposto por Russell (1987), ao estudar a ação da monensina sobre o *Streptococcus bovis*, bactéria Gram positiva produtora de ácido láctico e notar que esta era sensível à droga, tendo o seu crescimento inibido devido à sua parede celular não possuir membrana externa, permitindo assim a ocorrência de troca iônica provocada pelo ionóforo que aumenta o fluxo de cátions através de sua membrana e altera todo o equilíbrio energético celular.

Os ionóforos desorganizam o transporte de cátions na membrana das bactérias Gram-positivas, interferindo na absorção de soluto pela célula e promovendo maior gasto energético para a manutenção do balanço osmótico. Este fato é explicado da seguinte forma. Ao ligar-se a um cátion, o ionóforo transporta-o através da membrana celular para dentro da bactéria, quebrando a homeostase, na tentativa de manter o equilíbrio, por meio do mecanismo da bomba iônica. A bactéria utiliza sua energia de forma excessiva até deprimir suas reservas e, em consequência, a bomba iônica não opera eficientemente, provocando um desequilíbrio devido a uma maior concentração catiônica dentro da célula do que fora. Com essa mudança no metabolismo, os micro-organismos têm as capacidades de crescimento e reprodução reduzidas (BAGG, 1997; BERGEN e BATES, 1984). Como ocorre maior concentração iônica dentro da célula, a água em excesso migra para o interior desta, que, juntamente com o aumento da pressão osmótica, faz com que a célula “inche”, tendendo a romper-se (BARRAGRY, 1994).

Com isso, segundo Berger e Bates (1984), os efeitos benéficos dos ionóforos na fermentação ruminal são o aumento da produção de propionato, com conseqüente redução de metano, resultando na melhoria da eficiência energética, a diminuição na degradação proteica, resultando em melhoria na utilização dos compostos nitrogenados, e a reduzida produção de ácido láctico, que acarretaria diminuição nas desordens ruminais.

2.5.2 Monensina

A monensina sódica (C₃₆H₆₁O₁₁Na) é o ionóforo mais conhecido até o momento, quanto aos seus efeitos sobre o padrão de fermentação ruminal e suas conseqüências na produção animal. Sua comercialização ocorre sob o nome comercial de Rumensin®.

Os modos de ação da monensina foram descrito através de estudos propostos por Schelling (1984), em que relata o melhor desempenho dos ruminantes por ocasião da sua utilização. Entre eles, destacam-se a modificação na produção de ácidos graxos voláteis, alteração no consumo de alimentos, alteração na produção de gases, modificação na digestibilidade dos alimentos, alteração no enchimento do rúmen e na taxa de passagem e alteração na utilização de proteína.

A alteração na produção dos gases, com a utilização da monensina, foi inicialmente observado por Dinius et al. (1976), em que ocorreu a inibição da produção de amônia ruminal. Outro mecanismo de ação da monensina é a inibição do crescimento da bactéria Gram-positiva, *Streptococcus bovis* (Russel 1996), que esta relacionada com acidose aguda no rúmen, sendo que as utilizadoras de lactato são resistentes (RUSSELL e STROBEL, 1988).

Segundo Nagaraja et al. (1997), as principais bactérias produtoras de ácido láctico no rúmen são *Streptococcus bovi* e a *Lactobacillus spp*, sensíveis à monensina. Esta substância inibe ainda as bactérias produtoras de hidrogênio, formato, acetato, butirato, enquanto as produtoras de succinato e propionato são resistentes (RUSSELL e STROBEL, 1989). O aumento na produção de propionato é acompanhado pela redução na quantidade de metano produzida.

Trabalhos realizados por Oliveira et al. (2005), com o intuito de verificar a influência da monensina sobre o consumo e a fermentação ruminal, utilizaram quatro novilhos holandeses fistulados no rúmen e alimentados quatro vezes ao dia com dietas contendo teores baixo e alto de proteína, 11,4 e 16,5% respectivamente, sendo o concentrado da dieta com baixo teor proteico à base de milho e ureia e o da dieta com alto teor proteico à base de milho e farelo de soja, com e sem monensina, onde o nível de ionóforo utilizado foi de 28 mg de monensina/kg de matéria seca (MS) consumida, totalizando quatro dietas experimentais (tratamentos). Foram observados que as dietas com alto teor proteico proporcionaram aumento da concentração ruminal do ácido butírico e da amônia. O fornecimento de monensina sódica, independentemente do teor proteico das dietas, promoveu diminuição no consumo de matéria seca, aumento na concentração de ácido propiônico e redução do teor de ácido butírico, da relação acetato:propionato e da atividade específica de produção de amônia.

Oliveira et al. (2001) observaram maior redução no consumo de alimento relacionado à suplementação com monensina à medida que o nível de concentrado (0, 25, 50 e 75%) na dieta aumentou. Tedeschi et al., (2003) mostraram em seus experimentos com bovinos em crescimento que em condições de confinamento, houve uma consistente diminuição na conversão alimentar de 6% a 7,5 % (kg alimento/kg ganho), redução no consumo de matéria seca de 4% a 6%, e o aumentou de 1,6 a 1,8% no ganho médio diário. Trabalhos realizados por Salles e Lucci (2000a) mostraram que a adição de monensina melhorou as condições ruminais de bezerros da raça Holandesa alimentados com dietas com maior quantidade de concentrado, em termos de pH, amônia e ácidos graxos voláteis, proporcionando aumento na digestibilidade do alimento e maior quantidade de nutrientes a ser disponibilizado para o animal. Em vacas de leite fistuladas, Eifert et al. (2005) avaliaram a combinação de óleo de soja e monensina e verificaram aumento da produção de propionato na presença de monensina e óleo, com consequente diminuição da relação acetato:propionato. Nagaraja et al. (1997), resumindo 35 experimentos conduzidos na Europa relataram melhoria de 9%

na conversão alimentar de bovinos, com relação de 4% no consumo de matéria seca e aumento de 5% no ganho de peso.

Patil e Honmode (1994) observaram que o fornecimento de monensina (0, 11 e 22 mg/kg de concentrado) a ovinos mantidos em sistema de pastejo e suplementados com concentrado diminuiu o consumo de concentrado e aumentou o consumo de volumoso até o nível de 22 mg/kg, sem comprometer o desempenho produtivo dos animais. Para cordeiros confinados, Rodrigues (2001) recomenda 40 mg de monensina/animal/dia adicionados a ração concentrada.

No caso de bovinos em pastejo, a monensina pode ser fornecida por meio de suplemento proteico-energético para reduzir o risco de intoxicação. Nesse caso, recomenda-se de 50 a 100 mg de monensina sódica/cabeça/dia na fase de adaptação (cinco ou sete dias) e, a seguir, fornecer 200 mg/cabeça/dia em 450 g de suplemento (POTTER et al., 1984; ELANCO, 1999).

Os animais devem ser adaptados ao consumo de monensina (NICODEMO, 2001), pois concentrações elevadas de ionóforos na dieta podem levar à intoxicação. Os tecidos primariamente afetados são o muscular estriado cardíaco e o esquelético. A suscetibilidade à intoxicação varia consideravelmente entre as espécies, sendo que os equinos são os mais sensíveis. Nos ovinos, as concentrações de creatinina fosfoquinase estão elevadas e os sinais clínicos incluem anorexia, diarreia, ataxia, debilidade muscular, perda de peso, recumbência e morte, segundo Nicodemo (2001) e Mendes et al. (2003).

Apesar dos resultados positivos obtidos com o uso de ionóforos na produção animal, a resistência antimicrobiana em humanos tem sido relacionada aos antibióticos presentes na alimentação animal em geral (MATHEW et al., 2001). De acordo com Biavatti et al. (2003), tal resistência tem sido uma preocupação da saúde pública devido ao alto custo e baixa efetividade dos antibióticos. Além disso, países importadores de produtos de origem animal têm apresentado exigências e restrições quanto ao uso destes aditivos na criação de animais domésticos, com objetivo principal de garantir a saúde dos consumidores.

2.6 Própolis

A própolis, subproduto da apicultura, é um material resinoso de consistência viscosa proveniente de substâncias coletadas de plantas e misturadas com secreções de abelhas. A palavra própolis é derivada do grego que significa: pró - “em defesa de” e polis - “cidade”, isto é, em defesa da cidade ou da colmeia (MARCUCCI, 1996; BURDOCK, 1998).

De acordo com Brasil (2001), a própolis se origina de substâncias resinosas, gomosas e balsâmicas, provenientes de brotos, flores e exsudados de plantas, nas quais as abelhas acrescentam secreções salivares, cera e pólen para elaboração final do produto. A própolis atua na vedação e proteção da colmeia contra ataque dos insetos e microrganismos e auxilia na manutenção da temperatura e umidade da colmeia.

A composição química da própolis sofre bastante variação e apresenta-se muito complexa, fato que ocorre devido à diversidade da flora de cada região visitada pelas abelhas (GHISALBERTI, 1979), a qual influencia a atividade biológica (ANDRÉA et al., 2005).

A própolis recolhida da colmeia, ou seja, a própolis bruta, apresenta em média os seguintes percentuais em sua composição: 55% de resinas e balsamos, 30% de ceras, 10 % de óleos voláteis e 5% de pólen (BONVEHI et al., 1994; GHISALBERTI, 1979; GRANGE e DAVEY, 1990; IOIRISH, 1975; NIKOLAEV, 1975).

Dentre os diversos compostos químicos encontrados na própolis, os principais grupos podem ser organizados como: ácidos e ésteres alifáticos, ácidos e ésteres aromáticos, açúcares, álcoois, aldeídos, ácidos graxos, aminoácidos, esteroides, cetonas, charconas e di-hidrocharconas, flavonoides (flavonas, flavonóis e flavononas), terpenóides, proteínas, vitaminas B1, B2, B6, C, E, bem como diversos minerais. De todos esses grupos de compostos, certamente o que mais vem chamando a atenção dos pesquisadores são os flavonoides (HAVSTEEN, 2002).

Segundo Beecher (2003) e Manach et al. (2004), flavonoides são compostos fenólicos que compreendem amplo grupo de substâncias naturais não sintetizadas por animais. Cerca de 4.000 substâncias diferentes já foram

listadas como flavonoides, entre elas apigenina, quercetina, hesperetina, rutina, luteolina, genisteina, daidzeina, antocianidina, kampferol etc. O índice de qualificação das amostras de própolis ocorre devido à concentração desses compostos (LU et al., 2004).

Os flavonoides apresentam diversas ações, dentre elas destacam-se, o auxílio na absorção e ação de vitaminas, nos processos de cicatrização como antioxidante, além de apresentarem atividade antimicrobiana e moduladora do sistema imune (Williams et al., 2004). Sendo assim, vários autores atribuem as propriedades da própolis como atividade antimicrobiana (Gonsales et al., 2006), anti-fúngica (Longhini et al., 2007), antiinflamatória (Montpied et al., 2003), cicatrizante (Ghisalberti, 1979), anestésica (Burdock, 1998), anticariogênica (Park et al., 1998a), antiviral (Burdock, 1998), anticarcinogênica (Menezes, 2005), antioxidante (Park et al., 1998b), dentre outras, devido principalmente a presença de flavonoides em sua composição.

A própolis possui atividade antimicrobiana principalmente sobre as bactérias Gram positivas (LU et al., 2005; YANG et al., 2007), característica dos ionóforos. Seu objetivo é melhorar a eficiência alimentar dos ruminantes, maximizando os processos ruminais como a degradação da fibra, fermentação do lactato e conversão de compostos nitrogenados não proteicos em proteína e minimizando a produção de metano, degradação da proteína e absorção de amônia, segundo Nagaraja et al. (1997).

Vários estudos têm sido realizados com o intuito de avaliar a resposta do animal ao uso da própolis. O primeiro estudo procurando avaliar mudanças na fermentação microbiana ruminal *in vitro* com solução etanólica de própolis foi realizado por Stradiotti Jr et al. (2001), em que se verificou ser eficiente na redução da atividade específica de produção de amônia (AEPA) pelos microorganismos. Oliveira et al. (2004), utilizando diferentes fontes de proteína (tripticase, farelo de soja e farinha de peixe), com ou sem monensina ou extrato de própolis, demonstraram que a monensina e a própolis foram eficientes em reduzir a produção de amônia de fontes de proteína de alta degradabilidade, e que a própolis foi mais eficiente que a monensina em manter maiores concentrações de proteína solúvel no início das incubações, pela redução da atividade de desaminação. Stradiotti Jr et al., (2004),

comprovaram a eficiência, *in vitro*, do extrato de própolis em inibir a produção de gases por micro-organismos ruminais. Assim, acredita-se que a própolis possa melhorar a conversão alimentar, uma vez que a produção de gases consome parte da energia ingerida em forma de alimento. Com relação à desaminação de aminoácidos em vivo e *in vitro*, Stradiotti Jr. et al. (2004b), verificaram que a própolis foi eficiente em inibir tal fato, o que pode significar maior escape de proteína ruminal, com consequente melhora da eficiência produtiva dos ruminantes. Lana et al. (2005), estudaram a associação entre extrato de própolis e óleo de soja na alimentação de cabras, e verificaram que a própolis aumentou os teores de gordura, proteína e sólidos totais no leite, aumentou o pH e reduziu a razão acetato/propionato no líquido ruminal. Porém, extratos etanólicos, ou a própolis bruta, em doses crescentes, não modificaram a ingestão de nutrientes e parâmetros ruminais de cabras leiteiras (Lana et al., 2007). Em vacas lactantes, Freitas et al., (2009) forneceram extrato etanólico de própolis, e observaram o aumento da produção de leite em 12%, além de elevar a concentração de proteína do leite em 4,5% em relação à dieta controle.

Relatando a ação das propriedades antissépticas, antimicótica, bacteriostática, anti-inflamatória e anestésica da própolis, Silva Sobrinho et al., (2000) observaram resultados positivos no tratamento da pododermatite necrótica em ovinos.

CAPÍTULO I

AÇÃO DA PRÓPOLIS NOS VALORES DE PERFIL METABÓLICO DE OVELHAS EM FASE REPRODUTIVA

Resumo

Objetivou-se avaliar os efeitos das dietas com e sem a inclusão de extrato etanólico de própolis Verde Alecrim no consumo de matéria seca, nos parâmetros de perfil metabólico sanguíneo e nas inter-relações com aspectos reprodutivos. Os tratamentos utilizados foram: Controle (TC) dieta controle; Flushing (TF), dieta controle mais 300 g de fubá de milho; Flushing com nível 1 de própolis (TFP₁), TF mais 8 mL de solução alcoólica de própolis/animal/dia; Flushing com nível 2 de própolis (TFP₂), TF mais 12 mL de solução alcoólica de própolis/animal/dia. Foram utilizadas 16 fêmeas nulíparas vazias, sendo quatro por tratamento, distribuídas em experimento inteiramente casualizado, submetidas a um protocolo de sincronização de cio e posteriormente cobertas. Os animais foram estabelecidos por um período de adaptação de 10 dias, seguido de 30 dias de período experimental e alimentados duas vezes ao dia, às sete e 16 horas. Para determinar o perfil hematobioquímico, amostras de sangue foram coletadas a cada cinco dias, sendo a primeira coleta realizada com os animais em jejum e a segunda, duas horas após a alimentação das sete horas da manhã, durante 15 dias na fase pré cobrição e 15 dias na pós cobrição, para estimar os teores de ureia, proteínas totais, albumina, globulinas e a enzima AST. Utilizou-se ultrassonografia para confirmação de prenhez trinta dias após cobrição. Verificou-se que o tratamento com menor concentração de extrato etanólico de própolis Verde Alecrim apresentou potencial para diminuir consumo de MS e que o extrato etanólico de própolis demonstrou ser eficiente na diminuição do consumo de matéria seca e na concentração de ureia sérica.

Os tratamentos TC, TF e TFP₁ apresentaram mesma taxa de prenhez, superior ao TFP₂, contudo o TFP₁ resultou em maior taxa de partos gemelares. O tratamento com menor concentração de própolis reduziu a concentração de

ureia sérica nos momentos jejum e duas horas após alimentação e na fase pós cobrição. Os teores dos metabólitos, em sua maioria, encontram-se dentro dos limites de valores de referência.

Palavras chave: Metabólitos sanguíneos. Ovinocultura. pós cobrição. pré cobrição. reprodução de ovinos. Santa Inês.

Abstract

The aim of this research was to evaluate diets with and without inclusion of propolis ethanolic extract “Verde Alecrim” on dry matter intake, metabolic profile and its relationships of reproductive aspects and to compare metabolic profile values with reference values established on the scientific literature. Treatments were: Control (CT), control diet; Flushing (FT), control diet plus 300 g/animal/day of corn meal; Flushing with level 1 of propolis (FTP₁), FT plus 8 mL/animal/day of propolis ethanolic extract; Flushing plus level 2 of propolis (FTP₂), FT plus 12 mL/animal/day of propolis ethanolic extract. Sixteen Santa Inês nulliparous ewes, empty, four per treatment, were assigned in a complete randomized design, in a factorial scheme and subjected to an estrus synchronization protocol and covered. The females were housed and the experiment consisted of an adjustment period of ten days, followed by an experimental period of 30 days (15 days for pre-mating and 15 days for post mating). Animals were fed twice a day at 7 AM and 4 PM. To determine the hematobiochemical profile, blood samples were collected at each five days in fasting and two hours after during 15 days in the pre-mating phase and 15 days in the post mating to estimate urea, total protein, albumin, globulins and AST enzyme contents. Ultrasound to confirm pregnancy thirty days following mating was used. It was found that treatment with lower concentrations of propolis ethanol extract “Verde Alecrim” presented the potential to decrease DM intake and that the ethanol extract of propolis has proved effective in decreasing the dry matter intake and concentration of serum urea.

The CT, FT and FP₁T provided the same pregnancy rate, superior to TFP₂, however FP₁T resulted in higher rate of twin births. Treatments with a lower concentration of propolis reduced urea content in serum in fasting and two hours after feeding and in the post-mating phase. Most of metabolite contents were within reference values, according to the literature.

Keywords: Blood metabolites. post mating. pre mating. Santa Inês. sheep. sheep breeding.

5. INTRODUÇÃO

A tendência atual do mercado consumidor constata o abandono do uso de drogas na dieta animal, a exemplo de antibióticos, e já se torna uma realidade, tanto no mercado interno, quanto de países importadores de carne, principalmente os países europeus.

Os ionóforos antibióticos, principalmente a monensina sódica® e a lasalocida sódica®, aparecem como uma categoria de aditivos não nutrientes para ruminantes e, por meio de modificações na fermentação ruminal pela ação sobre bactérias GRAM⁺ (CHEN e RUSSELL 1991; LANA e RUSSELL, 1997; NAGARAJA et al. 1982; YANG e RUSSELL, 1993a ; YANG e RUSSELL ,1993b), trazem benefícios à produção e reprodução, tanto para animais a pasto (ANDRADE et al., 1996; PARROT et al., 1990; RODE et al., 1994), quanto para estabulados (BRANCO et al., 1996; BOIN et al. 1984; MORAES et al.,1993;).

A partir do conhecimento de que a própolis, substância natural e atóxica, sintetizada pelas abelhas através da mistura da resina das plantas com secreções das suas glândulas hipofaríngeas, especialmente β -glicosidases, apresentava ação farmacológica (BONHEVI et al., 1994; PARK e IKEGAKI, 1998), e atividade antimicrobiana, pela inibição de bactérias GRAM⁺ (GHISALBERTI, 1979; PARK et al., 2000; VARGAS et al., 1994), STRADIOTTI JR et al. (2001, 2002, 2004 a,b), pesquisaram-na com ruminantes e abalizaram-na como promotora de mudanças na fermentação microbiana ruminal, com propriedade bacteriostática sobre GRAM⁺, propriedade essa pertinente aos antibióticos ionóforos.

No que se refere às possíveis respostas funcionais da própolis em relação à melhoria no consumo animal e aspectos produtivos, alguns estudos foram posteriormente realizados. Enquanto parte mostra ter havido mudanças no consumo de matéria seca, seja pela ação sinérgica da própolis com óleo vegetal na dieta (LANA et al., 2005), outro não computou diferença no consumido (LANA et al., 2007). Contudo, ainda não foram realizados ensaios de pesquisa procurando avaliar os reflexos do uso da própolis sobre o perfil metabólico sanguíneo.

Entende-se que estudos por meio dos quais se busque compreender melhor a inter-relação do que é consumido e qual resposta ou sinal metabólico venha a ocorrer, devam ser realizados. A intenção primeira seria de adequações prévias de manejo alimentar e nutricional (possibilidade de manejo preventivo) e, por fim, da possibilidade de se evitar a ocorrência de problemas de ordem produtiva, reprodutiva e sanitária dos rebanhos, como deve ser desejado.

Foram PAYNE et al. (1970) quem primeiro empregaram o termo perfil metabólico. A partir daí, passou-se a estudar os componentes hematobioquímicos específicos, com o intuito de avaliar, diagnosticar e prevenir transtornos metabólicos e servindo também como indicador do estado nutricional. Dessa forma, a química sanguínea desperta hoje, no universo científico zootécnico, grande interesse.

A ação da própolis dentro do rumem já vem sendo estudada por STRADIOTTI JR et al. (2001, 2002, 2004 a,b), entretanto, uma possível ação da própolis ao nível sanguíneo ainda é desconhecida. Assim, qualquer alteração realizada no rumem do animal poderá ser relacionada às concentrações dos metabólicos, trazendo-lhes benefícios tanto produtivos quanto reprodutivos, a exemplo da concentração de ureia que esta intimamente ligada às questões reprodutivas.

Neste sentido objetivou-se avaliar os efeitos das dietas com e sem a inclusão de extrato etanólico de própolis verde alecrim no consumo de matéria seca, nos parâmetros de perfil metabólico sanguíneo, nas inter-relações com aspectos reprodutivos e na aferição de resultados de perfil metabólico.

6. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Fazenda Experimental do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (CCA-UFES), setor de Ovinocaprinocultura, município de Alegre-ES, durante o período de 11 de junho a 20 de julho de 2013. O município localiza-se nas coordenadas geográficas 20°45'49" Latitude Sul e 41°31'59" Longitude Oeste, a 254 metros de altitude.

A temperatura e a umidade relativa médias para o período que compreendeu o experimento foram 21,6° C e 20,5°C e 79% e 76% para o mês de junho e julho, respectivamente.

Foram utilizadas 16 ovelhas da raça Santa Inês, nulíparas, pertencentes ao setor de Caprinovinocultura do CCA-UFES, com peso corporal médio de $58,8 \pm 0,66$ Kg e ECC médio de $3,45 \pm 0,41$ pontos. Tanto o peso corporal quanto escore corporal (THOMPSON e MEYER, 1998) dos animais experimentais apresenta-se adequados para a fase de acasalamento. A metodologia utilizada para avaliar o ECC foi proposta por WEAVER (1986), que classifica os animais quanto ao ECC em escala de 1 a 5 (um para animal muito magro e cinco para animal muito gordo). Visando minimizar o efeito subjetivo desta variável em relação aos observadores, tais avaliações foram realizadas pela mesma pessoa, sendo apenas uma avaliação no início do experimento.

Para verificar possíveis gestações, foi realizado, ao início da fase experimental, o exame ultra sonográfico transretal, com o auxílio do aparelho DP 2200 VET e se constatou que todos os animais apresentavam-se não gestantes. Os animais foram selecionados segundo exame clínico, sendo que o controle parasitário foi efetuado a partir de exame de fezes para realização do OPG (ovos por grama) pela técnica de Gordon e Whitlock modificada (Ueno, 1998), em dois momentos distintos do estudo, imediatamente antes do início e ao final do período experimental.

Posteriormente os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização de cio que consistiu na implantação de dispositivo intravaginal contendo 60 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP; Progespon®), no dia zero; no dia oito foi feita a administração de 200 UI de eCG (Novormon®),

mais 0,4 ml de Cloprostenol (Prolise®), via intramuscular; no décimo dia retiraram-se as esponjas e, passadas 24 horas, foram observados os sinais de cio, por meio de um rufião, para que fosse feito o processo de monta. Um novo exame ultra sonográfico foi realizado 30 dias após a cobertura, considerado um período para um diagnóstico com maior exatidão em ovinos, em que foram registrados os tipos de gestação (simples ou gemelar).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições, em esquema fatorial 4 x 2 x 2, que consistiu de quatro tratamentos, duas fases (pré e pós cobrição) e dois momentos (jejum e duas horas após alimentação). As ovelhas foram divididas aleatoriamente em quatro tratamentos: Tratamento Controle (TC) dieta controle; Tratamento Flushing (TF), dieta controle mais 300 g de fubá de milho; Tratamento flushing com própolis (TFP₁), dieta controle com flushing e 8 mL de solução alcoólica de própolis/animal/dia; Tratamento flushing com própolis (TFP₂), dieta controle com flushing e 12 mL de solução alcoólica de própolis/animal/dia. Os tratamentos com inclusão de própolis era fornecidos individualmente às ovelhas.

O experimento consistiu de um período de adaptação alimentar de 10 dias, durante os quais os animais receberam a dieta controle (Tabela 1), seguidos de um período de 30 dias de tratamento, correspondente ao período de 15 dias pré e 15 dias pós cobrição, período de fornecimento das rações experimentais, em que os animais permaneceram estabulados. O arraçoamento foi realizado duas vezes ao dia, às sete e 16 horas, na forma de ração completa, distribuída em cochos coletivos/tratamento, postados no interior das baias. Durante o período experimental foram fornecidos 2,5 Kg de feno na alimentação das sete horas e 2,5 Kg de feno na alimentação das 16 horas, quantidade já ajustada no período de adaptação, de modo a permitir uma sobra ao redor de 10%. O feno somente era fornecido após toda a ingestão da ração concentrada. A suplementação mineral foi fornecida à vontade e a ração concentrada, na quantidade de 400g/animal/dia (dieta controle), foi formulada de acordo com o Nutrient Requirements of Small Ruminants (NRC, 2007). O flushing adicionado à dieta controle consistiu em 300g de fubá de milho/animal/dia.

A determinação do consumo de feno foi realizada pela diferença entre a oferta e a sobra para cada tratamento, diariamente. O consumo de MS por tratamento foi obtido pelo consumo da ração total, multiplicado pelos respectivos teores de MS dos ingredientes. Posteriormente calculou-se o consumo em relação à percentagem do peso vivo (PV), utilizando-se o valor médio do PV/tratamento.

Na Tabela 1 encontra-se a composição química (%MS) do feno de Tifton 85 e da ração concentrada e a proporção dos ingredientes da ração concentrada.

Tabela 1. Composição química (%MS) do feno de Tifton 85 e da ração concentrada e proporção dos ingredientes da ração concentrada (%MS).

Variáveis medidas	Feno	Ração concentrada
MS	81,85	87,54
PB	6,02	20,31
NDT	50,34	78,24
FDN	81,09	12,17
Ingredientes	MS (%)	
Milho quirera	66,93	
Farelo de soja	32,10	
Calcário	0,72	
Sal comum	0,35	

*Análises realizadas no Laboratório de Bromatologia e Nutrição Animal (LABNA) do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal do Espírito Santo.

A própolis utilizada no experimento foi a Verde Alecrim, adquirida da Natucentro Indústria e Apiários Centro Oeste Ltda., cuja data de fabricação é julho de 2012, com vencimento em julho de 2014. Esta própolis apresentou as seguintes características (Tabela 2), disponibilizadas pelo Setor de Controle da Qualidade, realizadas pelo Técnico Gustavo Lucas Gonçalves - CRQ-MG 02202372. Importante ressaltar tratar-se de uma própolis com maior

concentração de flavonoides, ainda não testada em pesquisas com fermentação microbiana ruminal.

Tabela 2. Características físico-químicas do extrato de própolis Verde Alecrim.

Análises	Especificação	Resultado
Cera	Máximo 1 % (m/m)	1,0 %
Extrato Seco	Mínimo de 11% (m/v)	14,31 %
Flavonóides Totais	Mínimo 0,25 % (m/m)	7,74 mg/ mL - 0,86 %
Teor Alcoólico	Máximo 70 °GL	63° GL
Ativação de Oxidação	Máximo 22 segundos	02 seg

O extrato de própolis Verde Alecrim foi diluído a 33% volume/volume em solução etanólica hidratada a 70%, conforme técnica descrita por Stradiotti Jr. et al. (2004). Essa solução final foi utilizada para ser misturada junto ao fubá de milho (flushing), sendo homogeneizada inicialmente em 50 g do fubá e, após, nos 250 g restantes, possibilitando melhor homogeneização. Essa mistura foi realizada, periodicamente, todos os dias, antes do fornecimento para os animais, pela manhã e à tarde.

As coletas de sangue foram realizadas nos animais em jejum e 2 horas após a alimentação da manhã, de cinco em cinco dias, perfazendo um total de seis coletas durante toda a fase experimental. O sangue foi coletado por punção dos vasos jugulares em tubos Vacutainer® de 10 ml, sem anticoagulante, para a dosagem de Ureia, Albumina e Proteínas Totais. Os níveis séricos de Globulinas foram obtidos pela diferença entre os níveis de Proteínas Totais e de Albumina.

Este trabalho utilizou como referência os valores normais hematobioquímicos de ovinos, disponibilizado pelo Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias (LACVet) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que se baseiam em resultados obtidos de uma ampla revisão feita por Kaneko et al. (1997). Trata-se de valores de referência representativos para a ovinocultura brasileira.

Após a coleta, os tubos sem anticoagulante foram mantidos a temperatura ambiente e posteriormente centrifugados a 2500 G por 15 minutos;

foi feita a retirada do soro e armazenado em tubos tipo eppendorf de 1,5 mL a -20 °C até o momento das análises. As análises foram realizadas pelo Laboratório de Análises Clínicas PROBIOVET, localizado à Rua Padre Franco, nº 17 b, bairro Alto Recanto, no município de Cachoeiro do Itapemirim, E.S.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o procedimento do Statistical Analysis System (SAS, 2001) e as médias das variáveis comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 3 encontram-se os valores médios do consumo de matéria seca de ovelhas em relação ao peso vivo (%), no período experimental total e nas fases pré e pós cobrição, a taxa de prenhez e tipo de gestação nos quatro tratamentos experimentais.

Tabela 3. Médias e erros-padrão do consumo de matéria seca de ovelhas da raça Santa Inês em relação ao peso vivo, em quatro tratamentos e duas fases reprodutivas (pré e pós cobrição)

T	Consumo* (%)	Consumo por fase	
		Pré cobrição	Pós cobrição
TC	2,52 ab	2,37 ± 0,06 aB	2,66 ± 0,05 abA
TF	2,58 a	2,36 ± 0,06 aB	2,79 ± 0,05 aA
TFP ₁	2,40 b	2,26 ± 0,06 abB	2,54 ± 0,05 bA
TFP ₂	2,38 b	2,17 ± 0,06 bB	2,58 ± 0,05 bA

TC: Tratamento Controle ; TF: Tratamento Flushing ; TFP₁: Tratamento Flushing concentração 1 de própolis ; TFP₂: Tratamento Flushing concentração 2 de própolis.

*Consumo médio considerando todo o período experimental (30 dias).

Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna e maiúsculas na mesma linha são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (P<0,05).

Observa-se no presente estudo, que não houve diferença entre o TC e TF (p>0,05) no consumo de matéria seca em relação ao peso vivo durante todo o período experimental de 30 dias. Os tratamentos TFP₁, TFP₂ e TC, apresentaram menor consumo de matéria seca com relação ao TF (p<0,05).

Verifica-se que os tratamentos com inclusão de própolis, apresentaram menor consumo com relação ao TF. Os percentuais de diminuição no consumo de MS dos tratamentos com própolis (TFP₁ e TFP₂) em relação ao TF foram, respectivamente, 8,4% e 7,5%. Rodrigues (2013), ao utilizar 10 e 15 mL de extrato etanólico de própolis na dieta de ovelhas múltiparas da raça Santa Inês, na fase pré e pós parto, também observou redução de consumo em relação ao tratamento controle, sendo de 5,9% e 7%, respectivamente. Ao verificar os efeitos da adição de óleo de soja e/ou de extrato etanólico de própolis (10 mL) na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo e a digestibilidade de nutrientes, Lana et al. (2005) constataram redução nos consumos de MS, matéria orgânica (MO) e fibra em detergente neutro (FDN) (em kg/animal/dia)

quando houve interação entre óleo de soja e extrato etanólico de própolis. Embora no nosso estudo não tenha sido realizada a conversão alimentar, devido à falta de condições em termos de estrutura, é possível ser feita uma relação entre própolis e conversão alimentar. Itavo (2008), realizou este estudo avaliando o comportamento ingestivo e desempenho produtivo de cordeiros confinados recebendo dieta controle (50:50 Volumoso e concentrado comercial) com ou sem própolis verde, própolis marrom e monensina sódica como aditivo, observou que houve menor tempo de ruminação e maior de ócio com a própolis verde, para mesma conversão alimentar entre tratamentos e menores consumos de matéria seca e FDN (em porcentagem do PV e em g/kg de peso metabólico) e melhor conversão alimentar para os tratamentos com própolis marrom e monensina. Segundo o autor, tecnicamente, a própolis pode ser utilizada como aditivo alimentar em substituição à monensina sódica em dietas para ovinos confinados.

Ao se analisar o consumo por fase reprodutiva (pré e pós cobrição), observa-se que os tratamentos com inclusão de própolis (TFP₁ e TFP₂) foram semelhantes ($P < 0,05$), apresentando menor consumo de matéria seca em relação ao PV quando comparados aos TC e TF. Assim como observado em toda a fase experimental, antes e após a cobrição o consumo de MS foi reduzido nos tratamentos que incluíram a própolis em sua composição. Não houve diferença ($P > 0,05$) em relação ao consumo de matéria seca para os grupos TC e TF nos períodos pré e pós cobrição.

O menor consumo de MS pelas matrizes, sem perda de PV ($58,8 \pm 0,66$ Kg) e sem mudança no ECC ($3,45 \pm 0,41$ pontos) nos tratamentos com própolis pode ser explicado pela menor produção de gás metano pelas bactérias ruminais e intestinais (*Methanobrevibacter* spp. e *Methanomicrobium mobile*) que, segundo Lana et al. (1998), corresponde a uma perda energética de até 13% em relação à energia do alimento ingerido. A redução da produção total de gases pode ser atribuída ao efeito da própolis em aumentar a concentração molar de propionato, com consequente diminuição da relação acetato:propionato (STRADIOTTI JR et al., 2004). Assim, a melhora na eficiência alimentar resulta dessa economia de energia advinda da incorporação dos carbonos e hidrogênios ao propionato, que seriam lançados

na atmosfera na forma de gás (CO₂ e metano), principalmente via eructação (ruminação). Estudo com própolis realizado por Lana et al. (2005) mostra diminuição na taxa acetato/propionato no fluido ruminal. Sabe-se que o propionato é o principal substrato precursor de glicose pela gliconeogênese no fígado.

Quando comparadas as médias do consumo de matéria seca entre fases reprodutivas dentro de cada tratamento, observa-se que todos os valores da fase pré cobertura foram menores que os da pós cobertura ($P < 0,05$), indicando que houve um aumento do consumo de matéria seca após a cobertura das fêmeas. Possivelmente essa diferença no consumo possa ser atribuída ao manejo de sincronização de cio, que ocorreu na fase pré cobertura, onde as fêmeas eram manejadas em dias alternados para a realização do protocolo de sincronização de cio, introdução da esponja, aplicação de ecG e Prolise® e retirada das esponjas, respectivamente. Além disso, segundo Aisen (2008), fêmeas ovinas em estro, podem apresentar diminuição de consumo, embora em cabras essa diminuição seja maior. Esta característica comportamental também pode ter influenciado a diminuição de consumo no período pré cobertura. No presente estudo pode-se observar que não houve mudança nos pesos dos animais durante a fase experimental (peso inicial e final).

A taxa de sincronização de cio obtida foi de 100%, semelhante à de Santos e Barcelos (2012), que trabalharam com ovelhas de cruzamentos Texel x Ille de France. No entanto, Dias et al. (2001) realizaram experimentos com ovelhas deslanadas com protocolo de sincronização semelhante ao utilizado neste experimento e obtiveram uma taxa de 76%. A alta manifestação de cio obtida deve-se, possivelmente, ao satisfatório estado corporal, aporte nutricional e ciclicidade das ovelhas. Deve-se ressaltar que a empresa Tecnopec/Agener, responsável pelo protocolo de sincronização e produtos utilizados tem preconizado um valor médio de 76% de manifestação de cio.

Quanto à avaliação reprodutiva dos animais, as taxas de prenhez e tipos de gestação correspondentes aos tratamentos utilizados estão sumariados na Tabela 4.

Tabela 4. Taxa de prenhez (%) e tipo de gestação (simples ou gemelar) de ovelhas da raça Santa Inês submetidas a quatro tratamentos alimentares.

T	Taxa Prenhez*		Tipo Gestação*	
	n	%	simples	gemelar
TC	3	75	100	0
TF	3	75	100	0
TFP ₁	3	75	33,3	66,6
TFP ₂	2	50	100	0

*TC: Tratamento Controle ; TF: Tratamento Flushing ; TFP₁: Tratamento Flushing concentração 1 de própolis ; TFP₂: Tratamento Flushing concentração 2 de própolis; n: número de animais

*Avaliados por meio de ultrassonografia

Pode-se observar que nos tratamentos TC, TF e TFP₁, 75% das matrizes (3 das 4 fêmeas por tratamento) ficaram gestantes, contrastando com 50% das fêmeas no TFP₂. Apenas no tratamento TFP₁ observou-se presença de gestação gemelar em duas das fêmeas, apresentando este tratamento menor concentração de ureia (38,84 mg/dL), como pode ser observado na Tabela 5. Lima (2011), ao avaliar a ação do extrato etanólico de própolis (8 mL/animal/dia) e da monensina (33mg/Kg MS) sobre aspectos reprodutivos de ovelhas multíparas da raça Santa Inês, observou que os tratamentos com própolis e com monensina, administrados em fase pré cobertura, proporcionaram os menores valores médios de ureia que, por sua vez, resultaram em maior ocorrência de partos gemelares. Vale ressaltar, que as ovelhas do presente estudo são filhas provenientes das fêmeas utilizadas nos trabalhos realizados por Lima (2011). Sendo assim, a presença de parto gemelar no TFP₁, pode ser devido à ação do extrato etanólico de própolis, ou à uma possível relação com a genética dos animais envolvidos, apresentando um certo grau de parentesco, como por exemplo, serem filhas do mesmo pai. Estudo realizado por Ferguson e Chalupa (1989) relacionou altas concentrações de ureia no sangue com alterações na função hormonal de vacas, resultando em prejuízos para a reprodução. Para Butler (1997), quando níveis elevados de uréia ocorrem no ambiente uterino, a capacidade da progesterona de manter o pH que existe entre as células da parede uterina é

reduzida, elevando a secreção de prostaglandina F_{2α}, afetando o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária.

Quando fêmeas são suplementadas com ionóforos, espera-se aumentos da eficiência reprodutiva provenientes do aumento da disponibilidade de aminoácidos utilizados na síntese de GnRH no hipotálamo. A própolis diminui a atividade específica de produção de amônia (AEPA) no rúmen (STRADIOTTI et al., 2004), possibilitando a ocorrência de menores níveis de ureia sanguínea e, por consequência, maior taxa de escape (bypass) de aminoácidos e proteínas não degradadas no rúmen (PNDR), sendo os primeiros absorvidos no intestino delgado e as PNDR sendo degradadas no abomaso e também absorvidas no intestino delgado (NRC, 2001) na forma de pequenos peptídeos ou mesmo na forma de aminoácidos.

Os valores médios e erros-padrão dos metabólitos avaliados (uréia, proteínas totais, albumina, globulina e AST) em relação aos tratamentos, no momento de jejum e duas horas após alimentação estão sumariados na Tabela 5.

Tabela 5. Médias¹ e respectivos erros padrão dos teores de ureia (mg/dL), proteínas totais (g/L), albumina (g/L), globulina (g/L), e aspartato transaminase (U/L) em coleta de sangue de ovelhas realizada em jejum e duas horas nas fases pré e pós cobertura, em relação aos tratamentos.

Momento	Tratamento	Variáveis				
		Ureia	Proteínas totais	Albumina	Globulina	AST
Jejum	TC	46,48 ± 1,55 aA	57,06 ± 1,60 bA	29,71 ± 1,15 aA	26,79 ± 1,93 aA	121,11 ± 22,71 bA
	TF	47,24 ± 1,55 aA	62,85 ± 1,68 aA	29,67 ± 1,15 aA	32,76 ± 1,93 aA	130,22 ± 22,71 aA
	TFP ₁	38,84 ± 1,55 bA	59,86 ± 1,60 abA	28,62 ± 1,15 aA	31,12 ± 1,93 aA	124,89 ± 22,71 abA
	TFP ₂	48,88 ± 1,55 aA	57,84 ± 1,60 abA	30,55 ± 1,15 aA	27,24 ± 1,93 aA	124,37 ± 22,71 abA
2 horas	TC	48,98 ± 1,90 aA	61,33 ± 1,45 aA	30,94 ± 1,16 aA	30,14 ± 1,79 aA	*
	TF	44,90 ± 1,74 abA	57,42 ± 1,33 aA	29,40 ± 1,07 aA	27,72 ± 1,66 aA	*
	TFP ₁	35,34 ± 1,90 bA	59,28 ± 1,45 aA	30,67 ± 1,16 aA	29,53 ± 1,82 aA	*
	TFP ₂	49,94 ± 1,90 aA	58,79 ± 1,48 aA	31,50 ± 1,16 aA	26,64 ± 1,79 aA	*

TC: Tratamento Controle ; TF: Tratamento Flushing ; TFP₁: Tratamento Flushing concentração 1 de própolis ; TFP₂: Tratamento Flushing concentração 2 de própolis.

¹Letras minúsculas diferentes na mesma coluna comparam teores dos metabólitos dentro de momentos, e letras maiúsculas comparam entre os momentos pelo teste de Tukey (P<0,05).

*Amostras perdidas

Quanto aos valores de referência, os valores de ureia no TFP₁ apresentaram-se dentro do intervalo de normalidade, quando comparados com os valores preconizados por Kaneko et al.(1997), que se situa entre 17-43 mg/dL. Em referência ao jejum e duas horas, os teores de ureia mostraram-se diferentes, com a ocorrência de maiores valores ($P<0,05$) nos tratamentos com dieta controle, flushing e para o tratamento com maior concentração de extrato etanólico de própolis, tendo o TFP₁ apresentado resultados em torno de 21,6 e 27% inferiores para ureia em relação ao TF, respectivamente para jejum e duas horas após alimentação. Importante relatar que Oliveira et al. (2004) observaram que o pico de produção de amônia ruminal ocorre especificamente duas horas após a ingestão do alimento, independente da degradabilidade ruminal da fonte proteica fornecida aos animais. Baseado nisso, pode-se inferir que os menores valores de ureia sérica obtidos no TFP₁ estão relacionados, possivelmente, à menor AEPA ao nível de rúmen, constatação obtida por Stradiotti Jr. et al. (2001), tanto *in vitro*, quanto *in vivo* com bovinos. Reportando-se aos efeitos benéficos já discutidos dessa menor degradabilidade ruminal de proteínas no rúmen com a reprodução, Davis et al. (1981) afirmam que dietas que contém PNDR podem elevar a taxa de ovulação. Segundo esses autores, a taxa de ovulação também esta altamente correlacionada com níveis plasmáticos de alguns aminoácidos essenciais. Já, Selem (2012), ao avaliar os efeitos antimetanogênicos *in vitro* da própolis tipo Vermelho Brasileiro (PVB) e Marrom Egípcio (PME), constatou que houve redução da produção de metano, sendo similar à monensina. No mesmo estudo, houve constatação *in vivo*, ao se trabalhar com ovelhas recebendo dieta flushing, de que a PVB melhorou ($P<0,01$) o número de serviços por concepção e aumentou ($P<0,01$) o teor de progesterona, com diminuição ($P<0,01$) nas concentrações de cortisol. Tendo-se o conhecimento da relação direta do cortisol com níveis de estresse na gestada, sugere-se que estudos com a própolis verde alecrim, detentora da maior concentração de princípios ativos entre os tipos de própolis, sejam realizados. No presente estudo, o menor valor de ureia para o TFP₁, resultou em maior ocorrência de parto gemelar, fato semelhante ao ocorrido em estudos realizados por Lima (2011).

Para proteínas totais e AST, os resultados apontaram para diferenças entre os tratamentos com inclusão de dieta flushing quando comparado ao controle, em relação ao jejum. Os maiores valores de proteínas totais, $62,85 \pm 1,68$ para o TF, estão dentro dos valores de referência proposto por Kaneko et al. (1997), que se situa entre 60-79 g/L. Embora o TF tenha apresentado maiores valores de proteínas totais, o que favoreceria a reprodução, haja vista que dietas flushing, ou seja, com alto nível energético e proteico, antes e durante o período de acasalamento, são utilizadas com o propósito de favorecer a produção de óvulos, a fecundação e a implantação do embrião (CAMBELLAS, 1993), aumentando a incidência de partos gemelares (MUKASA-MUGERWA e LAHLOU-KASSI, 1995; NOTTLE et al., 1997), a elevada concentração plasmática de uréia ($47,24 \pm 1,55$) pode ter contribuído negativamente para a ocorrência de prenhez com gêmeos.

Os valores de AST apresentaram-se fora do intervalo de normalidade, situado entre 0 a 90 U/L, no momento jejum em relação aos valores preconizados por Kaneko et al. (1997). Tem-se o conhecimento de que quando concentrações elevadas de AST ocorrem concomitantemente com níveis baixos de albumina e aumentados de ureia (GONZÁLEZ e SCHEFFER, 2002), promovendo mobilização de gordura, produto do déficit de energia (CONTRERAS et al., 2000), com perda de ECC e PV, pode ocorrer lesão hepática.

Essas condições não ocorreram no presente trabalho e em todos os trabalhos, citados no mesmo, que avaliaram a própolis como aditivo para ruminantes.

Para albumina e globulina não foram detectadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos nos dois momentos (Tabela 5). Os valores de albumina observados no presente trabalho encontram-se dentro dos valores de referência, situados entre 26 a 42 g/L, de acordo com Kaneko et al. (1997). Por ser um indicador da concentração de proteína na dieta, pode-se afirmar que os tratamentos atenderam às exigências de proteína das matrizes. Sua concentração pode ser influenciada por perdas durante doenças, principalmente em parasitismos gastrintestinais (ROWLANDS, 1976). Exames de ovos por grama de fezes (OPG) realizados antes do início e após o término

do experimento mostraram que as ovelhas apresentavam-se sem parasitismos gastrintestinais (< 300 OPG).

Todos os valores de globulina encontram-se abaixo do valor de referência descrito por Kaneko et al. (1997), que varia de 35-57 g/L. No presente estudo, possivelmente o estresse não afetou os valores de globulina. Para González (2000b), vacas com níveis elevados de globulinas geralmente requerem maior número de serviços por concepção, o que pode, segundo Bouda et al. (2000), estar relacionado com estados inflamatórios ou infecciosos como mastite, metrite e laminite.

Não se observou diferença nas concentrações dos metabólitos estudados nem entre tratamento nem entre os momentos, embora em estudos de perfil metabólico utiliza-se avaliar os metabólitos em jejum variando de 12 a 15 horas, sendo os resultados representativos da alimentação diária. Já, com coleta realizada duas horas após alimentação, pretendeu-se observar o ocorrido com a fermentação microbiana ruminal pós-jejum (pós-alimentação).

No presente estudo não se observou diferença entre jejum e duas horas após alimentação. Neste sentido, sugere-se que a coleta seja realizada duas horas após alimentação das ovelhas, diminuindo o estresse animal.

Os valores médios e erros-padrão dos metabólitos avaliados (uréia, proteínas totais, albumina, globulina e AST) em relação aos tratamentos, e nos períodos pré e pós cobertura estão sumariados na Tabela 6.

Tabela 6. Médias¹ e respectivos erros padrão dos teores de ureia (mg/dL), proteínas totais (g/L), albumina (g/L), globulina (g/L), e aspartato transaminase (U/L) em coleta de sangue de ovelhas realizada nas fases pré e pós cobrição, em relação aos tratamentos.

Fase	Tratamento	Variáveis				
		Ureia	Proteínas totais	Albumina	Globulina	AST
Pré cobrição	TC	44,60 ± 2,72 aA	5,78 ± 0,37 aA	30,82 ± 1,43 aA	29,77 ± 3,16 aA	116,49 ± 3,01 aB
	TF	46,70 ± 2,72 aA	6,08 ± 0,37 aA	28,02 ± 1,43 aA	32,74 ± 3,16 aA	115,91 ± 3,01 aB
	TFP ₁	49,00 ± 2,72 aA	6,32 ± 0,37 aA	26,48 ± 1,43 aA	36,70 ± 3,16 aA	112,49 ± 3,01 aB
	TFP ₂	53,80 ± 2,72 aA	6,06 ± 0,37 aA	32,04 ± 1,43 aA	28,56 ± 3,16 aA	116,10 ± 3,01 aB
Pós cobrição	TC	44,70 ± 2,72 aA	6,24 ± 0,20 aA	28,57 ± 2,01 aA	32,25 ± 2,96 aA	126,69 ± 4,19 aA
	TF	47,00 ± 2,72 aA	5,93 ± 0,20 aA	32,43 ± 2,01 aA	26,86 ± 2,96 aA	128,06 ± 4,19 aA
	TFP ₁	33,10 ± 2,72 bB	6,25 ± 0,20 aA	31,59 ± 2,01 aA	30,93 ± 2,96 aA	131,60 ± 4,19 aA
	TFP ₂	47,90 ± 2,72 aA	6,06 ± 0,20 aA	36,18 ± 2,01 aA	25,18 ± 2,96 aA	131,95 ± 4,19 aA

TC: Tratamento Controle ; TF: Tratamento Flushing ; TFP₁: Tratamento Flushing concentração 1 de própolis ; TFP₂: Tratamento Flushing concentração 2 de própolis.

¹Letras minúsculas diferentes na mesma coluna comparam teores dos metabólitos dentro de momentos, e letras maiúsculas comparam entre os momentos pelo teste de Tukey (P<0,05).

Em relação às duas fases reprodutivas, pode-se notar que somente o TFP₁ na fase pós cobrição apresentou diferença entre tratamentos ($P < 0,05$) para o metabólito ureia, com valor inferior, conforme também verificado nos momentos jejum e duas horas após alimentação (Tabela 6). Também se pode verificar que apresentou resultado em torno de 42% inferior para ureia em relação ao TF na fase pós cobrição e 48% inferior quando avaliado entre fases.

Quanto à enzima AST, todos os tratamentos da fase pré cobrição mostraram valores inferiores ($P < 0,05$) em relação à fase pós cobrição. Os demais metabólitos não apresentaram diferença ($P > 0,05$) entre tratamentos dentro de fase e entre fases.

Deve-se considerar que há evidências de que níveis elevados de uréia sérica podem reduzir os índices reprodutivos de fêmeas ovinas, que a própolis Verde Alecrim apresenta potencial para reduzir esses níveis, e que há escassez de informações a respeito do perfil metabólico na raça Santa Inês nas fases pré e pós cobrição. Assim, sugere-se que novos estudos sejam realizados, com maior período pré cobrição para, possivelmente reduzir, já nesta fase, os níveis de ureia, possibilitando maior ocorrência de partos gemelares.

8. CONCLUSÕES

O extrato etanólico de própolis Verde Alecrim apresenta potencial para diminuir consumo de MS.

O tratamento com menor concentração de própolis reduz concentração de ureia sérica nos momentos jejum e duas horas após alimentação e na fase pós cobrição.

Os teores dos metabólitos, em sua maioria, encontram-se dentro dos limites de valores de referência, de acordo com a literatura.

9. REFERÊNCIAS

ABECIA, J.A.; FORCADA, F.; LOZANO, J.M. A preliminary report on the effect of dietary energy on prostaglandin F₂ α production in vitro, interferon-tau synthesis by the conceptus, endometrial progesterone concentration on day 9 and 15 of pregnancy and associated rates of embryo wastage in ewes. **Theriogenology**, v.52, p.1203-1213, 1999.

AISEN, Eduardo G. **Reprodução ovina e caprina**. 1. ed. São Paulo: MedVet, 2008. 203 p.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Vet. Parasitol.**, v.120, p.91-106, 2004.

ANDRADE, V.J. et al. Monensina na terminação de novilhos mestiços zebu x Angus, a pasto. **In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**, 33., Fortaleza, 1996. **Anais...** Fortaleza, Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1996. p.23-25.

ANDRÉA, M.V.; COSTA, C.N.; CLARTON, L. Própolis na cura e prevenção de doenças? Pode ser uma boa alternativa! **Bahia Agrícola**, v.7, n.1, p.19-21, 2005.

α

BAGG, R. Mode of action of ionophores in lactating dairy cattle. Use fulness of ionophores in lactating dairy cattle. Proceedings of a Symposium. Held. Guelph, p. 13-21, 1997.

BALIKCI, E.; YILDIZ, A.; GURDOGAN, F. Blood metabolite concentrations during pregnancy and postpartum in Akkaraman ewes. **Small Veterinary Research**, v.67, p.247-251, 2007.

BARCELOS, A.F.; PAIVA, P.C.A.; OLALQUIAGA PEREZ, J.R. Fatores antinutricionais da casca e da polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.) armazenadas em diferentes períodos. **Revista Brasileira Zootecnia**. v. 30, n. 4, 1316-1324, 2001.

BARIOGLIO, C.; RUBIALES DE BARIOGLIO, S. Sincronizacion de celos y suplementacion energetica en ovejás. **Archivos de Zootecnia**, v.43, n.164, p.327-334, 1994.

BERGEN, W. G.; BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v. 58, n. 6, p.1465-1483, 1984.

BEECHER, G.R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. **Journal of Nutrition**, v.133, n.10, p.3248S-3254S, 2003.

BEZERRA, L.R. Desempenho e comportamento metabólico de cordeiros da raça Santa Inês alimentados com diferentes concentrações de *Spirulina platensis* diluída em leite de vaca. 2006. 41f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agrosilvopastoris no semi-árido) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande – PB.

BIAVATTI, M.W.; BELLAVER, M.H.; VOLPATO, L. et al. Preliminary studies of alternative feed additives for broilers: *Alternanthera brasiliana* extract, propolis extract and linseed oil. **Revista Brasileira Ciência Avícola**, v.5, n.2, p. 147-151, 2003.

BOIN, C., LEME, P.R., NARDON, R.F. et. al. A monensina sódica no ganho de peso e na conversão alimentar de zebuínos em confinamento. **Zootecnia**, Nova Odessa, v.22, n.3, p.247-55, 1984.

BOLAND, M. P.; LONERGAN, P.; O'CALLAGHAN. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology and oocyte and embryo development; **Theriogenology**; v.55, p.1323-1340, 2001.

BONVEHI, J.S., COLL, F.V., JORDA, R.E. The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics. **Journal of American Oil Chemists Society**, v. 71, n. 5, p. 529-532, 1994.

BOUDA, J.; NÚÑEZ, L.; QUIROZ-ROCHA, G. Interpretação dos perfis metabólicos em bovinos. In: GONZALEZ, F.H.D, BORGES, J.B., CECIM, M.(Eds) **Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. p.17-18.

BRANCO, A.F. et al. Efeito da lasalocida sódica, na dieta de bovinos em confinamento, sobre as características de produção e carcaça. **R. Soc. Bras. Zoot.**, Viçosa, v.25, n.4, p.713-22,1996.

BRASIL 2001. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa nº3 – Anexo VI – **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 19 Jan. 2001.

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; VERÍSSIMO, C. J.; SANTOS, L. E.; LARA, M. A. C.; OLIVEIRA, S. M.; SPÓSITO FILHA, E.; REBOUÇAS, M. M. Infecção por nematodos em razas de ovelhas carnicas criadas intensivamente em la región del sudeste del Brasil. **Arch. Zootec.**, v.51, p.273-280, 2002.

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; SANTOS, L. E. dos; VERÍSSIMO, C. J.. **Santa Inês: uma boa alternativa para a produção intensiva de carne de cordeiros na região Sudeste**. 2006. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/SantaInes/index.htm>. Acesso em: 31/8/2013.

BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v.36, n.4, p.347-363, 1998.

BUTLER, W.R.; CALAMAN, J.J.; BEAM, S.W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 858-865, 1996.

BUTLER, W. R. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle, **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 9, p.2539-2539, 1997.

CAMBELLAS, J.B. Comportamiento reproductivo em ovinos tropicales. **Revista Científica de Universidad del Zulia**, v. 3, p. 135-141, 1993.

CAMPOS, R.G. Alguns indicadores metabólicos no leite para avaliar a relação nutrição:fertilidade. In: GONZALEZ, F.H.D. In: Avaliação metabólico nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais. **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Gramado. p. 40-48, 2002.

CANNAS, A.; PES, A.; MANCUSO, R.; VODRET, B.; NUDDA, A. Effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 499-508, 1998.

CEZAR, M.F.; SOUSA, W.H. Avaliação e utilização da condição corporal como ferramenta de melhoria da reprodução e produção de ovinos e caprinos de corre. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 43., JOÃO PESSOA, 2006, **Anais...João Pessoa**, p. 541-565. 2006.

CHAGAS, A. C. de S.; OLIVEIRA, M. C. de S.; FERNANDES, L. B.; et al. Ovinocultura: controle da verminose, mineralização, reprodução e cruzamentos na EMBRAPA Pecuária Sudeste. São Carlos: **Embrapa Pecuária Sudeste**, p. 44, 2007.

CHEN, G.; RUSSELL, J.B. Effect of monensin and a protonophore on protein degradation, peptide accumulation, and deamination by mixed ruminal microorganisms in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 2196-2203, 1991.

CHURCH, D, C. **El ruminante: fisiología digestible y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 1988, 641p.

CONTRERAS, P.; WITTWER, F.; BÖHMWALD, H. Uso dos perfis metabólicos no monitoramento nutricional de ovinos. In: GONZALEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

CUMMING, I. A. Relationship in the sheep of the ovulation rate with live weight, breed, season and plane of nutrition. **Australian Journal Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, Melbourne, v. 17, p. 234-241, 1977.

DAVIS, I.F.; BRIEN, F.D.; FINDLAY, J.K. et al. Interactions between dietary protein, ovulation rate and follicle stimulating level in the ewe. **Animal Reproduction Science**, v. 4, p. 19-28, 1981.

DIAS, F. E. F., LOPES JR, E. S., VILLAROEL, A. B. S., et al. Sincronização do estro, indução da ovulação e fertilidade de ovelhas deslanadas após tratamento hormonal com gonadotrofina coriônica equina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 53, n.5, p. 618-623, out. 2001.

DEL VALLE, J.;WITNER, F.;HERVÉ, M. Estudió de los perfiles metabólicos durante los períodos de gestacion y lactancia em vinhos Romney. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.15, p.65-72,1983.

DEPENBUSCH, B.E.; DROUILLARD, J.S.; LOE, E.R. et al. Efficacy of monensina and tylosin in finishing diets based on steam-flaked corn with and without corn wet distillers grains with soluble. **Journal of animal Science**, v.86, p.2270-2276, 2008.

DINIUS, D.A.; SIMPSON,M.E.;MARSH,P.B. Effect of monensina fed withforage on digestion and the ruminal ecosystem of steers. **Journal of Animal Science**,v. 42, p. 229- 234, 1976.

DIRKSEN, G.; BREITNER, W. New quick-test for semi quantitative determinations of beta-hydroxybutyric acid in bovine milk. **Journal Veterinary Medical Animal Physiology Pathology Clinical Medical**, v.40, p.779-784, 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8135084>>. Acesso em: 22 fev. 2013.

ECKERSALL, P.D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds.) **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. San Diego: Academic Press, 2008. p. 117-155.

EIFERT, E.C.; LANA, R.P.; LANA, D.P.D. et al. Efeitos do fornecimento de monensina e óleo de soja na dieta sobre o desempenho de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2123-2132, 2005.

ELANCO ANIMAL HEALTH (Indiana, EUA). [Rumensin]. Disponível: site Elanco Animal Health. URL: <http://www.elanco.com/products/rumensin/rumensin80pim.html> Consultado em 15/08/2013.

ELROD, C.C.; BUTLER, W.R. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. **Journal of Animal Science**, v.71, n.4, p.694-701, 1993.

EMBRAPA Agência de Informação – Bioma Cerrado. Disponível em: <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/Abertura.html>>. Acesso em 31/08/2013

FERGUSON, J.; CHALUPA, W. Impacto f protein nutrition on reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3742- 3746, 1989.

FERGUSON, J.D.; GALLIGAN, D.T.; BLANCHARD, T. et al. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3742- 3746, 1993.

FERNANDES, R. H. R.; SARAN N. A.; Ed Hoffmamm. Nitrogênio dietético e eficiência reprodutiva em bovinos-revisão. **Ensaio e Ciência**, v.12, n. 2, p. 117-128, 2008.

FIGUEIREDO, E. A. P., OLIVEIRA, E. R., BELLAVER, C., et al. Hair sheep performance in Brazil. In: H. A. Fitzhugh and Bradford G. E. (Eds.) **Hair sheep of Western Africa and the Americas**. Colorado: Westview Press, 1983. p.125-140.

FREITAS, J.A.; ANTONANGELO, R.P.; RIBEIRO, J.L. et al. Extratos etanólico de própolis na alimentação de vacas leiteiras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.10, n.2, 2009.

GARCIA, A. Dosificación de la urea en la leche para predecir el balance nutricional en vacas lecheras. **XXV Jornadas Uruguayas de Buiatria/ IX Congresso Latinoamericano de Buiatria**, Paysandú, junho de 1997.

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

GONSALES, G.Z.; ORSI, R.O.; FERNANDES JR., A. et al. Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.12, n.2, p.276-284, 2006.

GONZÁLEZ, F.H.D., TORRES, C.A.A., VETROMILA, M.A.M. Efeito da condição corporal em novilhas mestiças sobre a fertilidade e os níveis sanguíneos de glicose, albumina e progesterona pós-serviço. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 22, n. 03, p. 439-444, 1993.

GONZÁLEZ, F. H.D.; HAIDA, K. S.; ZANOLLA, N.; FIGUR, K. Influência da época do ano no perfil metabólico em gado leiteiro no sul do Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 24, n. 2, 1996.

GONZÁLEZ, F.H.D. O perfil metabólico no estudo de doenças da produção em vacas leiteiras. **Arquivo da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v.25, n.2, 1997

GONZÁLEZ, F.H.D., ROCHA, J.A. Metabolic profile variations and reproduction performance in Holstein cows of different milk yields in southern Brazil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.26, p.52-64, 1998.

GONZÁLEZ, F.H.D., CONCEIÇÃO, T.R., SIQUIERA, A.J.S., LA ROSA, V.L. Variações sanguíneas de uréia, creatinina, albumina e fósforo em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. **A Hora Veterinária**, v. 20, n. 117, 2000a.

GONZÁLEZ, F.H.D. Uso de perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Eds). **Perfil Metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000b.

GONZALEZ, F.H.D.; SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 29, Gramado-RS, Brasil. **Anais...** Gramado-RS: SBMV e SOVERGS, p. 5-17, 2002.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. 357p.

GONZÁLEZ, F.H.D. Ferramentas de diagnóstico e monitoramento das doenças metabólicas. **Ciência Animal Brasileira**, v. 1, 2009.

GRANDE, P. A.; SANTOS, G. T. O USO DO PERFIL METABÓLICO NA NUTRIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS. NUPEL - **Núcleo Pluridisciplinar de Pesquisa e Estudo da Cadeia Produtiva do Leite**. Disponível em: www.nupel.uem.br/ acesso em: 03/06/2013

GRANGE, J.M., DAVEY, R.W. Antibacterial properties of propolis (bee glue). **Journal of the Royal Society of Medicine**, v.83, n.3, p. 159-160, 1990.

GREGORY, R. M.; Siqueira, A. J. S. Fertilidade de vacas de corte com diferentes níveis de albumina sérica em aleitamento permanente e interrompido. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 7, n.1, p. 47-50, 1983.

GUNN, R. G.; MAXWELL, T. J. A note on the effect of direction of live weight change about the time mating on reproductive performance of Greyface ewes. **Animal Production**, v. 48, p. 471-474, 1978.

HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids, **Pharmacology and Therapeutics**, v.96, n.2/3, p.67-202, 2002.

HEARLY, P.J., FALK, R.H. Values of some biochemical constituents in the serum of clinically normal sheep. **Australian Veterinary Journal**, v. 50, p. 302-305, 1974.

HENDERSON, D. C. **The veterinary book for sheep farmers**. 1. ed. United Kingdom: Farming press, 1990. 689p.

HENDERSON, C.; STEWART, C.S.; NEKPEK, F.V. The effect of monensin on pure and mixed cultures of rumen bacteria. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 51, n. 1, p. 159-169, 1981.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. [2008]. **Estatísticas sobre pecuária, rebanho e produção**. Disponível em: < www.sidra.ibge.gov.br > Acesso em: 31/08/2013.

IOIRISH, N. P. In: COMISION PERMANENTE DE TECNOLOGIA Y UTILLAJE APICOLAS. **Un valioso producto de la apicultura**: Propoleos - Investigaciones científicas y opiniones acerca de su composicion, características y utilizacion com fines terapeuticos. Bucarest: p.89-90.1975.

ÍTAVO, C.C.B.F. **Própolis ou monesina sódica como aditivo para cordeiros terminados em confinamento**. Botucatu, SP: UNESP, 2008. 65p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2008.

JARRIGE, R. **Alimentação dos bovinos, ovinos e caprinos**. Men Mmartins : Europa- América Latina, 1988. 460p.

JEFFERIES, B. C. Body condition scoring and its use in management. **Tasm. Journal Agricultural**, v.32, p.19-21. 1961.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.

LACERDA, R. M. Determinação das variantes de hemoglobina em ovinos mestiços Santa Inês. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 4, p. 345-349, 2006.

LANA, R.P., RUSSELL, J.B. Effect of forage quality and monensin on the ruminal fermentation of fistulated cows fed continuously at a constant intake. **Journal of Animal Science**, v.75, p.224-229, 1997.

LANA, R.P. Microbiologia aplicada a nutricao de ruminantes. In: Congresso Nacional dos Estudantes de Zootecnia/ CONEZ, 1998, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1998, p.125-138, .

LANA, R. O. et al. Efeito da Monensina e Lasalocida sobre a Atividade de Fermentação de Aminoácidos in Vitro pelos Microrganismos Ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.724-730, 2002.

LANA, R. P.; CAMARDELLI, M. M. L.; QUEIROZ, A. C. et al. 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 se 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.

LIMA, A. R. **Própolis e monensina: parâmetros reprodutivos e perfil protéico em ovelhas**. 2011. 58f. . Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo.

LOSTE, A.; RAMOS, J.J.; FERNÁNDEZ, A.; FERRE, L.M.; LACASTA, D.; VERDE, M.T.; MARCA, M.C.; ORTÍN, A. Effect of colostrum treated by heat on immunological parameters in newborn lambs. **Livestock Science**, v. 117, p. 176-183, 2008.

LONGHINI, R.L.; RAKSA, S.M.; OLIVEIRA, A.C.P. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.388-395, 2007.

LU, Y.; WU, C.; YUAN, Z. Determination of hesperetin, cinnamic acid and nicotinic acid in propolis with micellar electrokinetic capillary chromatography. **Fitoterapia**, v.75, n.3/4, p.267-276, 2004.

LU, L.; CHEN, Y.; CHOU, C. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**, v.102, p.213-220. 2005.

MACKLE, T.R.; KAY, J.K.; AULDIST, M.J. Effects of abomasal infusion of conjugated linoleic acid on milk fat concentration and yield from pasture-fed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.86, n.2, p.644–652, 2003.

MADEN, M.; ALTUNOK, V.; BIRDANE, F.M.B.; ASLAN, V.; NIZAMLIOGLU, M. Blood and colostrums/milk serum gamma-glutamyltransferase activity as a predictor of passive transfer status in lambs. **Journal of Veterinary Medicine - Series B**, v. 50, n. 3, p. 128-137, 2003.

MADUREIRA, Karina Medici et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 811-816, 2013.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, n.5, p.727-747, 2004.

MARCUCCI, M.C. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Química Nova**, v.19, n.5, p.529-535, 1996.

MATHEW, A.G., BECKMANN, M.A.; SAXTON, A.M. A comparison of antibiotic resistance in bacteria isolated from swine herds in which antibiotics were used or excluded. **Journal of Swine Health and Production**, v.9, n.3, p.125-129, 2001.

McCAUGHEY, W.P.; WITTENBERG, K.; CORRIGAN D. Methane production by steers on pasture. **Journal of Animal Science**, v.77, n. 3, p. 519 24, 1997.

MELLADO, M.; VERA, A.; LOERA, H. Reproductive performance of crossbred goats in good or poor body condition exposed to bucks before breeding. **Small Ruminant Research**, v. 14, p.45-48, 1994.

MELLADO, M.; VALDEZ, R.; LARA, L. M. et al. Risk factors involved in conception, abortion and Kidding rates of goats under extensive conditions. **Small Ruminant Research**, v. 55, p. 191-198, 2004.

MENEZES, H. Própolis: Uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivo Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.405-411, 2005.

MENDES, O.; MOHAMED, F.; GULL, T.; CONCHABERMEJILLO, A. Monensin poisoning in a sheep flock. **Sheep & Goat Research Journal**, Aurora, v.18, p.109-113, 2003.

MENZIES, F.; BRYSON, D.; MALONE, F. Management of the breeding ewe at mating and in early pregnancy. In.: Menzies, F et al.(Eds). **Healthy sheep, healthy profits**. Belfast. Belfast: Crown Copyright. p. 7 -710, 1998.

MOLINA, A.; GALLEGO, L.; TORRES, A. Efecto del nivel de reservas corporales em distintas épocas del año sobre algunos parâmetros productivos em ovelhas manchgas. **Investigación Agrária – Produccion Y Sanidad Animales**, v. 8, n.2, p.127 – 137, 1993.

MONTPIED, P.; DE BOCK, F.; RONDOUIN, G. et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) prevents inflammatory stress in organotypic hippocampal slice cultures. **Molecular Brain Research**, v.115, n.2, p.111-120, 2003.

MORAES, C.A.C.; FONTES, C.A.A; LANA, R.P. et al. Influencia da monensina sobre o ganho de peso, consumo e conversão alimentar em bovinos castrados e não castrados. **R. Soc. bras. Zoot.**, Viçosa, v.22, n. 1, p.64-71, 1993

MORI, R. M.et al. Desempenho reprodutivo de ovelhas submetidas a diferentes formas de suplementação alimentar antes e durante a estação de monta. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 35, n. 3, p.1122-1128, 2006.

MOURTHE M.H.F; R.B. Reis, M.M. Ladeira . Suplemento múltiplo com ionóforos para novilhos em pasto: desempenho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. [online]. v. 63, n. 1, p. 124-128, 2011 .

MUKASA-MUGERVA, E.; LAHLOU-KASSI, A. Reproductive performance and productivity of Menz sheep in the Ethiopian highlands. **Small Ruminant Rescarch**, v.17, p.167-177,1995.

NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; Van NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds) **The rumen microbial ecosystem**. London: Blackie Academic e Professional, 1997. p. 523-632.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. Nutrient requerimento of the cattle. 7. Ed. Washington. D. C.: National Academy Press, 2001, 381p.

NICODEMO, M.L.F. **Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 54 p. (Documentos / Embrapa Gado de Corte, 106).

NIKOLAEV, A.B. Defensa de la ciudad de las abejas. In: COMISION PERMANENTE DE TECNOLOGIA Y UTILLAJE APICOLAS. **Un valioso producto de la apicultura**: Propoleos: Investigaciones cientificas y opiniones acerca de su composicion, características y utilizacion com fines terapeuticos. Bucarest: p. 8-10, 1975.

NOTTLE, M. B.; KLEEMANN, D. O.; SEAMARK, R. F. Effect of previous undernutrition on the ovulation rate of Merino ewes supplemented with lupin grain; **Animal Reproduction Science**, v. 49, p. 29-36, 1997.

OLIVEIRA, J.; CUNHA.R. et al . Substituição total do farelo de soja por ureia ou amiréia, em dietas com alto teor de concentrado, sobre a amônia ruminal, os parâmetros sanguíneos e o metabolismo do nitrogênio em bovinos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, n. 3, p. 738-748, 2004.

OLIVEIRA, J.S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes (Additive use in the nutrition. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 6, n. 11, 2005.

OLIVEIRA, J. S.; ZANINE, A. M.; SANTOS, E. M. Diversidade microbiana no ecossistema ruminal. **Revista Electrónica de Veterinaria**, España, v. 8, n. 1, jun. 2007. Disponível em: <www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060607/060703.pdf>. Acesso em: 7 fev.. 2013.

OLIVEIRA, J.S.; LANA, R.P.; BORGES, A.C. et al. Efeito da monensina e extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade in vitro da proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.33, n.1, p.504-510, 2004.

OLIVEIRA, M.V.M.; LANA, R.P.; JHAM, G.N. et al. Influência da monensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinos recebendo dietas com teores baixo e alto de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.5, p.1763-1774, 2005.

OLIVEIRA, P.S., TOMONAGA, H.E.; AMBIEL, C. A. et al. USO DE URÉIA E IONÓFOROS NA SUPLEMENTAÇÃO DE BEZERROS DESMAMADOS. In: **Colloquium Agrariae**, v.1, n. 2, p 28-37, 2005.

OLIVEIRA, R. P. M.; OLIVEIRA, F. F. Perfil metabólico de ovelhas com diferentes escores corporais em fase reprodutiva no amazonas. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 48, 2011, Belém. Brasília: SBZ, 2011. v. 48. p. 1012-1015.

PARK, Y.K.; HOO, M.H.; ABREU, J.A.S. et al. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. **Current Microbiology**, v.36, p.24–28, 1998a.

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. et al. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.3, p.313-318, 1998b.

PARK, Y.K., IKEGAKI, M., ALENCAR, S.M. Classificação das própolis brasileira a partir de suas características físico-químicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce**, v.58, n.9, p.3-7, 2000.

PARROT, C.J., CONRAD, M.J., BASSON, P.R. The effect of a monensin ruminal delivery device on performance of cattle grazing pasture. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 7, p. 2614-21. 1990.

PATIL, N.V.; HONMODE, J. Growth and nutrient utilization in lambs as influenced by dietary monensin. **Indian Journal of Animal Nutrition**, v.11, n.4, p.237-239, 1994.

PAYNE, J.M.; DEW, S.M.; MANSTON, R. et al. The use of metabolic profile test in dairy herds. **The Veterinary Record**, v. 87, n.6, p. 150-158, 1970.

PAYNE, J. M; PAYNE, S. **The Metabolic Profile Test**. New York: Oxford University Press, 1987. 179p.

PEIXOTO, L.A.O.; OSÓRIO, M. T. M. Perfil metabólico proteico e energético na avaliação do desempenho reprodutivo em ruminantes. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 13, n. 3, p. 299-304, 2007.

POTTER, E. L.; VANDUYN, R. L.; COOLEY, C. O. Monensin toxicity in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, n. 6, p. 1499-1511, 1984.

POTTER, L.; ROCHA, M.G.; SOUZA, A.N.M. et al. Desenvolvimento de novilhas de corte sob alternativas de mineralização em pastagem de azevém. **Ciência Rural**, v.39, p.182-187, 2009.

PRESSMAN, B. C. Ionophorus antibiotics as models for biological transport. **Fedding Process**, 27, p. 1283-8, 1968.

RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C., et al. **Clínica Veterinária – Um tratado de Doenças dos Bovinos, Suínos, Caprinos e equinos**. 9ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1737p.

RESTLE, J.; BACK, M.; BRONDANI, I. et al. Suplementação associada com lasalocida para novilhos em terminação em pastagem cultivada de inverno. **Ciência Rural**, v.29, n.3, p.555-559, 1999.

RIBEIRO, L.A.O.; GONZÁLEZ, F.H.D.; CONCEIÇÃO, T.R. et al. Perfil metabólico de borregas Corriedale em pastagem nativa do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 31, n. 3, p. 167-170, 2003.

RHIND, S. M.; MCKELVEY, A. C.; MCMILLEN, S.; GUNN, R. G.; ELSTON, D. A. Effect of restricted food intake, before and/or after mating, on the reproductive performance of greyface ewes. **Animal Production**, v. 48; p. 149-155, 1989.

RHOADS, M.L.; RHOADS, R.P.; GILBERT, R.O. et al. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 91, n. 1-2, p. 1-10, 2006.

ROBINSON, J. J.; ASHWORTH, C. J.; ROOKE, J.A.; MITCHELL, L.M.; MCEVOY, T.G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, p. 259-276, 2006.

RODE, L.M., LYSYK, L.T.J., BEAUCHEMIN, K.A. et. al. Intake of lasalocid-containing mineral supplements by grazing beef heifer. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.74,n.1,p.77-82, 1994.

RODRIGUES, P. H. M.; MATTOS, W. R. S.; MELOTTI, L. et al. Monensina e digestibilidade aparente em ovinos alimentados com diferentes proporções volumoso/concentrado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 449-455, 2001.

RODRIGUES, F.T. **Uso da própolis nos valores de perfil metabólico em ovelhas sob diferentes dietas, no pré e pós parto**. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo.

RODRIGUES, R. M. C.; Análise do desenvolvimento do rebanho ovino e caprino no Brasil em 2010; disponível em <<http://www.farmpoint.com.br/cadeia-produtiva/especiais/analise-do-desenvolvimento-do-rebanho-ovino-e-caprino-no-brasil-em-2010-77031n.aspx>>. Acesso em: 25 Julho 2013.

ROSO, C.; RESTLE, J. Lasalocida sódica suplementada via sal para fêmeas de corte mantidas em pastagem cultivada de estação fria. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n.4, p.830-834, 2001.

ROWLANDS, G. J.; MANSTON, R. The potential uses of metabolic profiles in the management and selection of cattle for milk and beef production. **Livestock Production Science**. v. 3, n. 3, p. 239-253, 1976.

RUSSEL, A. J. F.; DONEY, J. M.; GUNN, R. G. Subjective assessment of body fat in live sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 451-454, 1969.

RUSSEL, A. J. F. Nutricion de las ovejas gestantes. In: MALUENDA, P. D. **Manejo e enfermedades de las ovejas**. Zaragoza: Acribia, 1982. p. 225-242.

RUSSEL, J.B. A proposed mechanism of monensina action in inhibiting ruminal bacterial growth: effects on ion flux and protonmotive force. **Journal of Animal Science**, Savoy, v.64, p. 1519-1525, 1987.

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

RUSSELL, J.B. Bacteria: mechanisms of ionophoreaction in ruminal bacteria. In: SYMPOSIUM SCIENTIFIC UP DATE ON RUMENSIN/TYLAN FOR THE PROFESSIONAL FEEDLOT CONSULTANT, 1996, Amarillo, TX, Indianapolis, **Proceedings...** Indianapolis: Elanco Animal Health, 1996, p. E1 – E19.

SALLES, M. S. V.; LUCCI, C. S. Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. 1. Desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 2, p.573-581, 2000.

SALLES, M.S.V.; LUCCI, C.S. Monensina para Bezerros Ruminantes em Crescimento Acelerado. 2. Consumo e Parâmetros Ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p.582-588, 2000a.

SANTOS, F. C. C.; BARCELOS, R. A. D. Eficiência de protocolos de sincronização de estro em ovelhas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.36, n.3, p.202-205, 2012.

SANTUCCI, P. M.; BRANCA, A.; NAPOLEONE, M. et al. Body condition scoring of goats in extensive conditions, In: Goat nutrition. (Ed. Morand-Fehr). Wageningen: **Centre for Agricultural Publishing and Documention**, 1991. p.240-255.

SEBRAE. Informações de Mercado sobre Caprinos e Ovinos – Relatório Completo. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br>>. Acesso em: 26 de julho de 2013.

SELEM, Amr Salah Morsy Amine. **Effect of propolis on ruminal fermentation, reproductive and productive performance of Santa Inês ewes**. 2012. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidad de São Paulo, Piracicaba, 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64134/tde-22042013-164545/>>. Acesso em: 2013-11-16.

SCARAMUZZI, R. J.; ADAMS, N. R.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DOWNING, J. A.; FINDLAY, J. K.; HENDERSON, K. M.; MARTIN, G. B.; MCNATTY, K. P.; MCNEILLY, A. S.; TSONIS, C. G. A model of follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe; **Reproduction, Fertility and Development** . vol. 5; pp. 459 – 78, 2006.

SCARAMUZZI, R. J.; CAMPBELL, B. K.; DOWNING, J.A.; KENDAL, N. R.; KHALID, M.; MUÑOZ-GUTIÉRREZ, M.; SOMCHIT, A. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate; **Reproduction Nutrition and Development**, vol. 46; pp. 339-354, 2006.

SCARAMUZZI, R.J. AND MARTIN, G.B. The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone free methods for controlling fertility; **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, pp.129-136, 2008.(Suppl 2).

SCHELLING, G.T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.58, n.6, p.1518-1527, 1984.

SILVA SOBRINHO, A.G. Produção de cordeiros em pastagem. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE OVINOCULTURA, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001, p.63-97.

SILVA SOBRINHO, A.G.; TONHASCA, J.G.; NOGUEIRA-COUTO, R.H. et al. Utilização da própolis no tratamento curativo da pododermatite necrótica em ovinos. **Mensagem doce**, v.56, 2000. Disponível em <http://apacame.org.br/mensagemdoce/56/propolis.html> Acesso em 19 ag. 2013.

SIMPLÍCIO , A. A., RIERA, S. R., FIGUEIREDO, E. A. P. de, NUNES, J. F. Desempenho produtivo de ovelhas da raça Somalis Brasileira no Nordeste do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.17, n.12, p.1795-1803, 1982.

SOARES, A. T.; VIANA, J. A.; LEMOS, P. F. B. A. Recomendações Técnicas para Produção de Caprinos e Ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.1, n.2, p.45-51, 2007.

SOUSA, W.H.; LOBO, R.N.B.; MORAIS, O.R. Ovinos Santa Inês: Estado de arte e perspectivas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 2.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE O AGRONEGÓCIO DA CAPRINOCULTURA LEITEIRA, 1., 2003, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: Emepa, 2003.

STATISTICAL Analysis System - SAS Institute - SAS/STAT: user's guide version 9.2. Cary: SAS INSTITUTE, 2001. 943p.

STRADIOTTI Jr., D., QUEIROZ, A.C., LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre microrganismos ruminais desaminadores de aminoácidos e sobre alguns parâmetros de fermentação no rúmen. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba:SBZ, 2001. 1 CD-ROM.

STRADIOTTI JR., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA; R.P. et al. Ação da própolis e da monensina sobre o consumo de matéria seca e parâmetros de fermentação ruminal em caprinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 39., 2002, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2002. (CD-ROM).

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, 2004a.

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

TEDESCHI, L. O. et al. Environmental benefits of ionophores in ruminant diets. **Journal of Environmental Quality**, v.32, p. 1591–1602, 2003.

THONNEY, E., HEIDE, K., DUHAIME, D.J. Growth, feed efficiency and metabolite concentration of cattle feed high forage diets with lasalocid or monensin supplements. **Journal of animal Science**, Champaign, v. 52, n. 2, p. 427-433, 1981.

THOMPSON, J.M.; MEYER, H. Body condition scoring of sheep. Disponível em < <http://www.oregonstate.edu/dept/animal-sciences/bcs.htm> >. Acesso em 26 de agosto de 2013.

UENO, H. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4.ed. Japan: International Cooperation Agency, 1998. 143 p.

VARGAS, A.C. et al. Dados parciais do teste “in vitro” da atividade antibacteriana da própolis. In: Congresso de Medicina Veterinária do Cone Sul, I & Congresso Estadual de Medicina Veterinária, XII. **Anais....** Porto Alegre: SOVERGS. 160p.1994.

VASQUES, M. I.; CAVACO-GONÇALVES, S.; MARQUES, C. C. et al. The effect of ram exposure previous to progestagen oestrus synchronization on corpus luteum function and fertility in crossbred ewes IN Animal products from the Mediterranean area; EAAP publication No. 119; Ed: JMC Ramalho Ribeiro, AEM Horta, C Mosconi and A Rosati; Wageningen Academic Publishers – Netherlands, pp. 343 – 348. 2006.

VIÑALES, G. **Effect of nutrition on follicle development and ovulation rate in the ewe.** Doctoral Thesis, Uppsala Sweden: Department of Clinical Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, 2003.

WEAVER, L.D. Reproductive management programs for large dairies In: Morrow, D.A. *Current Therapy in Theriogenology*. 2. ed. W.B.: Saunders, 1986.

WILLIAMS, R.J.; SPENCER, J.P.; RICE-EVANS, C. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? **Free Radical Biology and Medicine**, v.36, n.7, p.838-849, 2004.

WITWER, F.; CONTRERAS, P.A. Consideraciones sobre al empleo de los perfiles metabólicos en ganado lechero. **Archivo de Medicina Veterinaria**, v. 12, n. 1, p. 180-188, 1980.

WITWER, F.; REYES, J.M.; OPITZ, H. et al. Determinación de urea en muestras de leche de rebaños bovinos para el diagnóstico de desbalance nutricional. **Archivo Medico Veterinario**, v. 25, p. 165-172, 1993.

WITWER, F. Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite. In: GONZÁLEZ, F.D. et al. (Eds). **Perfil metabólico em ruminantes**, Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.53-62.

YANG, C.M.J., RUSSELL, J.B. Effect of monensin on the specific activity of ammonia production by ruminal bacteria and disappearance of amino nitrogen from the rumen. **Appl. Environ. Microbiol.**, v.59, p.3250-3254, 1993a.

YANG, C.M.J., Russell, J.B. The effect of monensin supplementation on ruminal ammonia accumulation in vivo and the numbers of amino-acid fermenting bacteria. **Journal of Animal Science**, v. 71, p.3470-3476, 1993b.

YANG, H., HO, W.L., CHANG, C.M., et al. Antibacterial activity of propolis ethano extract against *Streptococcus mutans* as influenced by concentration, temperature, pH and cell age. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 15, n. 1, p. 75-81, 2007.