



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PEDRO HENRIQUE DE MELO GARCIA

**EXTRATO DA PRÓPOLIS VERMELHA NA DIETA DE OVINOS CONFINADOS:
ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO**

AREIA

2021

PEDRO HENRIQUE DE MELO GARCIA

**EXTRATO DA PRÓPOLIS VERMELHA NA DIETA DE OVINOS CONFINADOS:
ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Comitê de Orientação:

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra

Coorientador: Prof. Dr. Dorgival Moraes de Lima Júnior

Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Silva de Oliveira

AREIA

2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G216e Garcia, Pedro Henrique de Melo.

Extrato da própolis vermelha na dieta de ovinos confinados: alterações morfométricas do sistema digestório / Pedro Henrique de Melo Garcia. - Areia:UFPB/CCA, 2021.

78 f. : il.

Orientação: Ricardo Romão Guerra.

Coorientação: Dorgival Moraes de Lima Júnior, Juliana Silva de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. Zootecnia. 2. Aditivo alimentar. 3. Compostos fenólicos. 4. Histomorfometria. 5. Morfologia. I. Guerra, Ricardo Romão. II. Oliveira, Juliana Silva de. III. Lima Júnior, Dorgival Moraes de. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636(043.3)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “EXTRATO DA PRÓPOLIS VERMELHA NA DIETA DE OVINOS CONFINADOS: ALTERAÇÕES MORFOMÉTRICAS DO SISTEMA DIGESTÓRIO”

AUTOR: Pedro Henrique de Melo Garcia

ORIENTADOR: Ricardo Romão Guerra

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena
Examinador
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Vitor Visintin Silva de Almeida
Examinador
Universidade Federal de Alagoas

Areia, 02 de fevereiro de 2021.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Pedro Henrique de Melo Garcia - filho de Maria das Graças de Melo e José Carlos Miguel Garcia (*in memoriam*), nasceu no dia 29 de junho de 1993, natural de Recife, Estado de Pernambuco. No ano de 2010 iniciou sua formação no Instituto Federal de Alagoas – Câmpus Satuba, tornando-se Técnico em Agropecuária em 2012. No mês de setembro de 2013 deu início ao curso de Zootecnia na Universidade Federal de Alagoas – Centro de Engenharias e Ciências Agrárias (UFAL/CECA), atuando durante o período do curso como estagiário no Setor de Suinocultura e Ovinocultura, foi monitor de algumas disciplinas e bolsista-colaborador pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), voltando suas atividades para as áreas de Produção e Nutrição de Ruminantes, com ênfase em conservação, avaliação de alimentos, blocos multnutricionais e própolis. Em setembro 2017 ingressou no período sanduíche (mobilidade acadêmica) na Universidade de Évora, Portugal, finalizando em fevereiro de 2018 e logo após obtendo o grau de Zootecnista em fevereiro de 2019. No mesmo ano, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, da Universidade Federal da Paraíba – Centro de Ciências Agrárias (UFPB/CCA), concentrando seus estudos na área de Produção Animal. Em dezembro de 2020 foi aprovado para ingresso no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Doutorado, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Câmpus de Botucatu, no primeiro semestre de 2021.

A minha amada mãe, **MARIA DAS GRAÇAS DE MELO**, pelo amor incondicional, por acreditar em mim quando eu achei difícil acreditar em mim mesmo e por fazerem de meus sonhos, o seu.

DEDICO

A todos os **PROFESSORES** que passaram em minha vida, pela imensa parcela de contribuição na minha formação profissional e pessoal.

Sem vocês nada disso seria possível.

Esta conquista é nossa.

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pelo dom da vida, força, sabedoria, oportunidades, conquistas, concretização deste sonho e por sempre me direcionar no caminho certo.

Aos meus admiráveis pais, Maria das Graças de Melo e José Carlos Miguel Garcia (*in memoriam*) e, a minha querida irmã, Luana de Melo Ferreira, pelo imensurável carinho e esforços dedicados em todos os momentos da minha vida, sempre almejando pelo meu êxito. Vocês contribuíram muito para este objetivo ser alcançado. É imensurável o amor que tenho por vocês.

Ao meu estimado orientador, Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra, por seu inesgotável conhecimento, sua dedicação, excelência, seriedade, orientação, paciência, incentivo, amizade e por todo aprendizado durante esta jornada.

Aos meus coorientadores, Profa. Dra. Juliana Silva de Oliveira e Prof. Dr. Dorgival Moraes de Lima Júnior, por todas as sugestões e contribuições imprescindíveis para enriquecimento deste trabalho.

Aos professores que tanto me inspiram: Profa. Dra. Patricia Beelen, Prof. Dr. Elton Santos, Profa. MSc. Carla Cordeiro, Prof. Dr. Daniel Magalhães, Profa. Dra. Rosa Lira, Prof. Dr. Paulo Vanderlei e Prof. Dr. Jair Tenório, por toda atenção, amizade, críticas construtivas e principalmente pelos incentivos diários.

À Profa. Dra. Neila Lidiany Ribeiro e ao Prof. Dr. Walter Esfrain Pereira, por toda ajuda na estatística e sempre muito solícitos nos esclarecimentos das dúvidas.

À Alexandra Elbakyan que quebrou todas as barreiras que o mercantilismo científico me impôs. Pois acredita, que o conhecimento não deve ser exclusivo para aqueles que podem pagar.

A todos os meus familiares, amigos e colegas pela plenitude de minha vida.

À Iasmin Calaça, Alice Barbosa, João Lukas, Tio Juca, Tia Silvana, Tia Silvia, Tia Dore e Tia Fan, pela amizade, torcida, encorajamento, zelo, incentivo, apoio e pelos brilhantes momentos.

Aos amigos, Suzane Fernandes (Suzy), Reinaldo Pereira (Ray), Noelia Barros (Nô), Márcio Valadares, Luigi Paiva (Rafa), Bianca Amorim (Cachinhos), Thiago Zanetti (Gajo), Rafael Villar (Rafote), Girlene Cordeiro, Marina Sousa, Daiane Gonçalves, Talita Fernandes, Daniel Santos, Jorge Henrique, Gustavo Paranhos, Thamires Ferreira, Romilton Barros, Tomás

Guilherme, Douglas Santos, Henrique Nogueira, Davi Francisco, Heloísa Oliveira, Caio Jordy e Mariléa Gomes, pela amizade, fidelidade, incentivo, companheirismo e grandes contribuições para a minha formação.

A Edson Silva (Edinho), Guilherme de Pádua (Gui) e William Santana (Will), por todo acolhimento na Casa Pós-Graduandos, e pelos alegres momentos de convivência, amizade, companheirismo e inesquecíveis lembranças.

Ao técnico do Laboratório de Histologia Animal, MSc. Edijanio Galdino da Silva, por todo apoio, ajuda, ensinamentos, paciência, amizade, conselhos, confiança e pelo exemplo de profissional a seguir.

Aos doutorandos que executaram toda parte experimental da pesquisa, João Wilian Dias Silva e Tarcísio Ribeiro Paixão. Assim como, aos animais utilizados nesta pesquisa, por todo sacrifício em prol da ciência.

Ao Prof. Dr. Vitor Visintin Silva de Almeida, pela disponibilidade da composição química do extrato da própolis vermelha que foi utilizada no presente trabalho.

À Universidade Federal da Paraíba (UFPB) - Centro de Ciências Agrárias, Câmpus II e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ), pela vasta oportunidade de realização do curso de Mestrado.

Aos professores do PPGZ/UFPB pelos conhecimentos adquiridos durante as disciplinas cursadas. Em especial à Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez, coordenadora do PPGZ.

A todos os funcionários que fazem parte do Centro de Ciências Agrárias, Câmpus II, Areia – PB, pelos serviços prestados e pela atenção recebida, especialmente a Cláudia Lima, Jaldir Costa e Mayra Araújo.

À banca examinadora, Prof. Dr. Vitor Visintin Silva de Almeida e Prof. Dr. Ricardo Barbosa de Lucena pelas correções e sugestões repletas de preocupações que objetivaram melhorar o trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto.

Enfim, meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que se empenharam para que a conclusão desse trabalho fosse possível.

“Eu só consegui, porque nós conseguimos. Eu sou, porque nós somos”.

“Animal experimental: sob o nosso controle, ele cresce, depende e confia. Respeito haja, enquanto vivo, pois não será em vão seu sacrifício”.

Prof. Ivan Barbosa Machado Sampaio (*in memoriam*)

“Cresça sem humilhar o outro. Ensine sem pisar em ninguém. Não importa o quão bom você seja no que faz, sempre existirá alguém melhor do que você. O **CONHECIMENTO** te abre portas, mas é a **HUMILDADE** que te levará mais longe”.

Paulo Cirilo

RESUMO

A própolis vermelha destaca-se como aditivo natural alimentar, pois apresenta uma fonte potencial de compostos bioativos de grande interesse. Objetivou-se com este estudo avaliar o efeito do uso de níveis crescentes de extrato da própolis vermelha (EPV) na dieta de ovinos confinados sobre os parâmetros morfométricos de rúmen e intestino e histopatológicos de fígado e rim. Para tanto, foram utilizados 35 cordeiros mestiços Santa Inês, machos não castrados, com idade média de 6 meses e peso corporal inicial de $17,08 \pm 2,36$ kg, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (0, 7, 14, 21 e 28 mL de EPV/animal/dia) e sete repetições, submetidos a um período experimental de 68 dias. A ração dos animais foi a mesma para todos os tratamentos, sendo adotado a relação volumoso concentrado de 60:40, respectivamente, sendo composta por milho moído, farelo de soja, suplemento mineral e feno de Tifton-85. O fornecimento da ração foi realizado duas vezes ao dia, na forma de mistura completa. A oferta das doses do EPV aos animais foi realizada via oral após a alimentação, com intervalo de uma hora, utilizando uma pistola dosadora de fluxo contínuo de 10 mL. Decorridos 68 dias de confinamento, os animais foram abatidos e coletadas amostras de rúmen, intestino delgado, fígado e rim para análises histológicas. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão ao nível de 5% de probabilidade. As variáveis consumo de matéria seca (CMS), ganho de peso total (GPT), espessura de epitélio (EE), porção queratinizada do epitélio (PQ), porção não queratinizada do epitélio (PNQ), altura de papila (AP), largura de papila (LP), espessura de mucosa (EM) e espessura de submucosa (ES) exibiram comportamento de curva quadrático ($P < 0,05$), exceto para a espessura da camada muscular, índice de células caliciformes duodenais e glicogênio hepático. O GPT apresentou um aumento de 20,24% quando comparado os animais do tratamento de 28 mL dia⁻¹ EPV com o grupo controle. Verifica-se que o uso do EPV na dieta de ovinos confinados para as variáveis EE, PNQ, LP, EM e ES tiveram como ponto de máxima estimado nos níveis 17 (174,38 μm), 14 (153,06 μm), 16 (429,36 μm), 33 (548,85 μm) e 9 (1382,52 μm) mL dia⁻¹ EPV, respectivamente, e obteve ponto de mínima estimado nos níveis 13 (0,65 kg de MS dia⁻¹), 11 (4,81 kg), 9 (19,99 μm) e 12 (1374,25 μm) mL dia⁻¹ EPV para as variáveis CMS, GPT, PQ e AP, respectivamente. Com base nos resultados obtidos no presente estudo, recomenda-se o nível de 28 mL dia⁻¹ EPV na dieta de ovinos confinados, a fim de proporcionar maiores áreas absorptivas no sistema digestório, aumento no ganho de peso total e não causa alterações histopatológicas em fígado e rins.

Palavras-chave: Aditivo alimentar. Compostos fenólicos. Histomorfometria. Morfologia.

ABSTRACT

Red propolis stands out as a natural food additive, as it presents a potential source of bioactive compounds of great interest. The objective of this study was to evaluate the effect of the use of increasing levels of red propolis extract (RPE) in the diet of sheep confined on the morphometric parameters of rumen and intestine and histopathological parameters of liver and kidney. For this, 35 Santa Inês crossbreed lambs, non-castrated males, with a mean age of 6 months and initial body weight of 17.08 ± 2.36 kg, distributed in a completely randomized design, with five treatments (0, 7, 14, 21 and 28 mL of RPE/animal/day) and seven replicates, submitted to an experimental period of 68 days. The animal feed was the same for all treatments, and the concentrated bulky ratio of 60:40 was adopted, respectively, consisting of ground corn, soybean meal, mineral supplement and Tifton-85 hay. The feed was supplied twice a day, in the form of a complete mixture. The RPE doses were offered to the animals orally after feeding, with an interval of one hour, using a 10 mL continuous flow dosing gun. After 68 days of confinement, the animals were slaughtered and samples of rumen, small intestine, liver and kidney were collected for histological analysis. The data were submitted to analysis of variance and regression at the level of 5% probability. The variables dry matter intake (DMI), total weight gain (TWG) epithelium thickness (ET), keratinized portion of epithelium (KP), non-keratinized portion of epithelium (NKP), papilla height (PH), papilla width (PW), mucosa thickness (MT) and submucosa thickness (ST) exhibited quadratic curve behavior ($P < 0.05$), except for the thickness of the muscle layer, duodenal goblet cell index and hepatic glycogen. The TWG showed an increase of 20.24% when compared to the animals of the 28 mL day⁻¹ RPE treatment with the control group. It was verified that the use of RPE in the diet of sheep confined to the variables ET, NKP, PW, MT and ST had as maximum point estimated at levels 17 (174.38 μm), 14 (153.06 μm), 16 (429.36 μm), 33 (548.85 μm) and 9 (1382.52 μm) mL day⁻¹ RPE, respectively, and obtained an estimated minimum point at levels 13 (0.65 kg of DM day⁻¹), 11 (4.81 kg), 9 (19.99 μm) and 12 (1374.25 μm) mL day⁻¹ RPE for the variables DMI, TWG, KP and PH, respectively. Based on the results obtained in the present study, it is recommended the level of 28 mL day⁻¹ RPE in the diet of confined sheep, in order to provide greater absorptive areas in the digestive system, increase in total weight gain and does not cause histopathological changes in liver and kidneys.

Keywords: Food additive. Phenolic compounds. Histomorphometry. Morphology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Própolis vermelha oriunda da planta leguminosa <i>Dalbergia ecastaphyllum</i> (L).....	29
Figura 2 - Compostos bioativos identificados na própolis vermelha da região Nordeste do Brasil.....	32
Figura 3 – Largura de papila ruminal de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV).....	60
Figura 4 – Espessura de mucosa e submucosa do intestino delgado de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV).....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição química do extrato da própolis vermelha (EPV), consumo de compostos fenólicos (CCF) e flavonoides totais (CFT).....	54
Tabela 2 - Composição química dos ingredientes alimentares, concentrado e ração total com base na matéria seca (MS) oferecido aos ovinos.....	55
Tabela 3 - Composição de ácidos fenólicos e flavonoides indentificados no extrato da própolis vermelha (EPV).....	56
Tabela 4 - Médias do consumo de matéria seca (CMS) e ganho de peso total (GPT) de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV).....	59
Tabela 5 - Médias das variáveis avaliadas na histomorfometria do epitélio ruminal de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV).....	60
Tabela 6 - Médias dos índices de glicogênio hepático (IGH) e células caliciformes duodenais (ICC) de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV).....	61

LISTA DE SIGLAS

AA – Área de absorção
AGV's – Ácidos graxos voláteis
ANOVA – Análise de variância
AOAC – Association of Official Analytical Chemists
AP – Altura de papila
CCA – Centro de Ciências Agrárias
CCF – Consumo de compostos fenólicos
CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CIDN - Cinza insolúvel em detergente neutro
CMS – Consumo de matéria seca
CTF – Consumo de flavonoides totais
EAG – Equivalente de ácido gálico
ECM – Espessura da camada muscular
EE – Espessura de epitélio
EM – Espessura de mucosa
EPM – Erro padrão da média
EPV – Extrato da própolis vermelha
EQ – Equivalente de quercetina
ES – Espessura de submucosa
FDA – Fibra em detergente ácido
FDN – Fibra em detergente neutro
FDNcp – Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados
GPT – Ganho de peso total
HE – Hematoxilina-eosina
ICC – Índice de células caliciformes
IGH – Índice de glicogênio hepático
LP – Largura de papila
MS – Matéria seca
NRC – National Research Council
OMS – Organização Mundial da Saúde

PAS – Ácido periódico-Schiff

PB – Proteína bruta

PIDN – Proteína insolúvel em detergente neutro

PNQ – Porção não queratinizada do epitélio

PQ – Porção queratinizada do epitélio

SAS – Statistical Analysis Software

UFAL – Universidade Federal de Alagoas

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

® - Marca registrada

µg – Micrograma

cm³ – Centímetro cúbico

g – Grama

kg – Quilograma

m² – Metro quadrado

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm - Milímetro

nm – Nanômetro

°C - Grau Celsius

US\$ - Dólar americano

µm – Micrômetro

µm² – Micrômetro quadrado

SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS	17
CAPÍTULO I - REFERENCIAL TEÓRICO	19
1. REFERENCIAL TEÓRICO	20
1.1. Panorama da ovinocultura no Brasil	20
1.2. Morfofisiologia dos sistemas digestório e renal	23
1.3. Própolis Vermelha	28
REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO II - ARTIGO CIENTÍFICO	49
RESUMO	50
INTRODUÇÃO	51
MATERIAL E MÉTODOS	53
RESULTADOS	59
DISCUSSÃO	62
CONCLUSÃO	67
AGRADECIMENTOS	67
REFERÊNCIAS	67

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A criação de ovinos têm se destacado como uma promissora atividade pecuária, evidenciando sua importância no agronegócio brasileiro, principalmente na região Nordeste, uma vez que, é uma atividade rentável, com alto índice de prolificidade, rápido retorno econômico e por apresentar rusticidade às adversidades edafoclimáticas. Tais características são possíveis em função da possibilidade de maior alocação no número de animais por hectares e também pelo menor tempo de abate.

A utilização de aditivos alimentares na nutrição de ruminantes, caracteriza-se como uma alternativa para intensificação dos sistemas de produção (RANGEL et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2019). Dentre eles, se destacam para manipulação das condições ruminais, o uso de antibióticos ionóforos e não ionóforos, sendo capazes de manipular a fermentação microbiana pela seleção de determinados microrganismos, de modo a otimizar a eficiência alimentar, aumentando a concentração de ácido propiônico, reduzindo as concentrações de amônia, hidrogênio e ácido láctico, mantendo o pH em níveis satisfatórios e eliminando parte das arqueas metanogênicas (LANA e RUSSEL, 2001; BALCELLS et al., 2012).

Contudo, nos países europeus, desde o ano de 2006, há restrição no consumo de produtos de origem animal que tiveram o uso de antibióticos como base na alimentação, uma vez que, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os resíduos desse tipo de produto podem promover resistência bacteriana em humanos. Na pesquisa de Karikari et al. (2017), relataram o desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes nos produtos de origem animal. De acordo com Sabino et al. (2019), verificaram a presença de genes de resistência a antibióticos em espécies da microbiota ruminal.

Sendo assim, a proibição dos antibióticos promotores de crescimento no mundo, representa um sério desafio para os produtores de proteína animal, incluindo a carne ovina (EUROPEAN COMMUNITIES, 2003; CALSAMIGLIA et al., 2007). Dessa forma, a partir das atuais imposições mercadológicas e sanitárias, têm-se introduzido produtos alternativos que apresentam funções semelhantes. Nota-se uma tendência do uso de produtos naturais e com menor impacto ao meio ambiente, os quais possam ser benéfico a saúde.

Nesse contexto, destaca-se a própolis vermelha, produzida pelas abelhas *Apis mellifera* por meio da coleta de extratos vegetais misturados à cera, pólen e enzimas secretadas pelo próprio inseto. Tal produto proporciona grande aceitação devido as suas inúmeras atividades

biológicas e farmacológicas versáteis, como anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiviral, antitumoral, antifúngica e imunomoduladora (ALENCAR et al., 2007), gastroprotetora (BERLING et al., 2008), nefroprotetora (FRIÓN-HERRERA et al., 2015; SILVEIRA et al., 2021), hepatoprotetora e antineoplásico (ATTIA et al., 2019; SILVA et al., 2019).

A própolis vermelha poderia ser utilizada na dieta dos animais ruminantes como aditivo natural alimentar, pois apresenta uma fonte potencial de compostos bioativos (flavonoides e ácidos fenólicos) (ALENCAR et al., 2007), sendo capaz de melhorar o consumo de ração e a eficiência alimentar, impulsionando o desempenho dos animais e consequentemente melhorando as características produtivas e reprodutivas (SARKER e YANG, 2010).

Conforme Stradiotti Júnior et al. (2004), a própolis favorece o crescimento das bactérias gram-negativas e tem ação bacteriostática sobre as gram-positivas, teoricamente pela modificação do estado bioenergético da membrana bacteriana e inibição de sua mobilidade, o que remete o funcionamento dos aditivos ionóforos, podendo modificar a fermentação ruminal.

Entretanto, existe uma lacuna no conhecimento científico sobre possíveis efeitos tóxicos e/ou negativos que a própolis vermelha possa comprometer o desempenho e saúde animal. É importante ressaltar que as informações disponíveis na literatura a respeito do efeito da ingestão do extrato da própolis vermelha referente aos parâmetros histomorfométricos do rúmen e intestino delgado são inexistentes, da mesma maneira que a histopatologia dos rins e fígado de animais ruminantes, confirmando a necessidade de estudos sobre o assunto.

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Panorama da ovinocultura no Brasil

A ovinocultura é uma atividade altamente difundida em todo território nacional, destacando-se com uma enorme relevância para o cenário da pecuária brasileira. Os ovinos apresentam alta rusticidade às adversidades edafoclimáticas, grande adaptabilidade, compondo-se uma das principais fonte alimentar e de renda para os agricultores (NÓBREGA et al., 2014; BARBOZA et al., 2019).

É uma atividade rentável e com um retorno econômico rápido devido ao seu curto período de ciclo produtivo, o que se sobressai quando comparado aos demais ruminantes destinados à produção de carne (SANTELLO et al., 2006). Até meados da década de 80, a criação de ovinos se destacava especialmente na região Sul do país, devido ao maior número de criadores qualificados na produção de lã. Contudo, com a crise no mercado da lã, os produtores modificaram a aptidão dos rebanhos especializados de lã para corte (MALHEIROS et al., 2017; EMBRAPA, 2018).

A população nacional de ovinos é de 17.976.367 milhões de cabeças, com destaque para a região Nordeste, que possui o maior rebanho do país, com o efetivo de 11.544.939 milhões de cabeças, o que corresponde a 64,22% do total nacional (IBGE, 2017). A exploração de ovinos voltados à produção de carne no país vem crescendo (POMPEU et al., 2012), com ênfase para o Nordeste que ao longo dos anos de 2006 a 2017 obteve um crescimento no rebanho de 15,94%, consolidando-se como a mais expressiva do país em termos numéricos, contrabalanceando as reduções observadas nas demais regiões do país (IBGE, 2017).

Diante desse crescimento, a ovinocultura tem espaço para melhorar a competitividade sobre outras cadeias produtivas, porém, para tal é necessário produzir cordeiros com eficiência e de forma rentável, bem como atender os requisitos de qualidade demandados pelo mercado, melhorando a produção de carne em menor tempo e com produtos mais seguros para o consumidor (FILHO e ATAÍDE JÚNIOR, 2010; COSTA et al., 2019).

A tradição da exploração de pequenos ruminantes, principalmente no Semiárido brasileiro e região Sul do país, propicia estabilidade do tamanho do rebanho ovino nacional (EMBRAPA, 2018). Apesar dos seguidos anos de seca na região Nordeste, houve apenas uma redução de 2,32% do rebanho efetivo em relação ao ano de 2016 (IBGE, 2017). A ovinocultura

no Brasil é uma das atividades promissoras, não somente pelo aumento no consumo da carne dessa espécie, mas também pela possibilidade de produção para o comércio nacional e internacional (BARBOZA et al., 2019; COSTA et al., 2019).

Os Estados que se destacaram pelo aumento de rebanho ovino entre 2016 e 2017 foram: Alagoas (15,6%) e Roraima (13,6%), enquanto negativamente se destacaram Sergipe (-34,3%) e Mato Grosso do Sul (-31,6%). Todavia, ao se considerar o período de dez anos, Tocantins exibe um crescimento de 62,7%, Pernambuco (62,2%) e o Amapá (59,6%), enquanto no mesmo período os estados que apresentaram maior redução de rebanho foram: Goiás (-29,7%), Roraima (-26,8%) e Mato Grosso do Sul (-26,6%) (IBGE, 2017).

Conforme IBGE (2017), embora o rebanho encontre-se estável, a quantidade de estabelecimentos agropecuários no país com exploração de ovinos cresceu cerca de 20%, alcançando 526 mil propriedades, sendo este avanço verificados nas regiões Nordeste (28,4%) e Sul (12,5%) do país. Consequentemente, a comercialização de ovinos apresentou uma taxa de crescimento em torno de 50%, quando comparado ao censo de 2006, passando de 2,28 para 3,37 milhões de cabeças de animais vendidos, acarretando uma movimentação de R\$ 641 milhões. Estes aumentos no número de animais comercializados foram observados principalmente nas regiões Nordeste (81,4%) e Norte (29,7%).

A produção mundial de carne ovina foi de 13,7 milhões de toneladas no ano de 2010, devendo chegar aos 23 milhões em 2020. Parte desta produção acaba sendo exportada e, em conjunto com os demais produtos da ovinocultura, esta atividade mobiliza cerca de US\$ 11 bilhões todos os anos (ALVES et al., 2014). Segundo dados da FAO (2016) a média do consumo anual *per capita* de carne ovina no Brasil é de apenas 0,7 kg. Na região Nordeste o consumo *per capita* é mais que o dobro do registrado no Brasil, chegando ao índice de 1,5 kg/hab/ano, com destaque para as cidades de Juazeiro (BA) e Petrolina (PE) que apresentaram consumo de 10,87 e 11,7 kg *per capita*, respectivamente ((IBGE, 2017).

Mesmo com o visível crescimento da produção de carne nos últimos anos, o Brasil ainda importa carne ovina em especial do Uruguai, para abastecer o mercado consumidor, isso porque o consumo interno supera a oferta do mercado brasileiro e a importação representa uma ferramenta para equilibrar o mercado (VIANA e SILVEIRA, 2009; SORIO, 2012; EMBRAPA, 2018), o que evidencia a capacidade e necessidade de crescimento da atividade no país. Apesar do potencial de desenvolvimento desta cadeia produtiva, a atividade ainda apresenta baixos

níveis de organização com reflexos nos índices produtivos e na qualidade da carne (DANTAS et al., 2008; VIANA e SILVEIRA, 2009).

Viana (2008) descreve que o aumento dos rebanhos nacional, o incremento da oferta de animais jovens e a consolidação da cadeia produtiva por meio da organização de produtores e frigoríficos são desafios a serem atingidos para que o Brasil possa exportar a carne ovina para países com elevado consumo.

Entretanto, diversas dificuldades são enfrentadas pelos produtores na comercialização de animais para abate via mercado, destacando-se a sazonalidade produtiva da atividade, inexistência de um mercado constante, exigência de uma oferta regular de animais, necessidade de escala para comercialização e a busca por animais jovens por parte dos frigoríficos (JORIS e VILPOUX, 2013; SORIO, 2013).

A demanda de carne ovina, nos países em desenvolvimento vem sendo estimulada principalmente pelo crescimento demográfico, urbanização, variações das predileções e dos hábitos alimentares do consumidor (COSTA et al., 2019). Com o acréscimo da demanda de carne ovina a busca por sistemas de criação menos onerosos e eficazes são extremamente importante.

De acordo com Pereira et al. (2013), a produção de ovinos em sua maioria, nas propriedades rurais do Semiárido nordestino é exclusivamente a pasto, tendo, dessa maneira se demonstrado improdutiva, pois este processo está submetido à instabilidade na disponibilidade de forragem, tendo como consequência o predomínio de baixos índices produtivos, abates tardios, qualidade de carne incompatível com a demanda e irregularidade na oferta de produtos cárneos.

Nesse contexto, a utilização das técnicas de confinamento para cordeiros tem recebido bastante atenção nos últimos anos, sendo crescente sua adoção em virtude da diminuição do tempo para o abate, maior eficácia no controle sanitário, melhor qualidade da carcaça, manutenção da oferta de forragem no período de insuficiência e, consequentemente ocasionando uma regularidade melhor na produção e na qualidade da carne ofertada no mercado (CUNHA et al., 2008; MEDEIROS et al., 2009; LAGE et al., 2010).

Em concordância com Urano et al. (2006), ao se considerar o elevado custo da terra, a prática de confinamento se destaca como uma estratégia capaz de atender os interesses tanto do produtor quanto do consumidor, em virtude que, possibilita diminuir o ciclo de produção e oferecer ao mercado carcaças de animais jovens e, desse modo, de melhor qualidade.

Uma estratégia utilizada para o aperfeiçoamento do desempenho dos rebanhos ovinos, caracterizados por baixos índices zootécnicos, seria o manejo alimentar satisfatório, principalmente nas épocas de baixa disponibilidade de forragens, empregando-se os sistemas intensivos de produção, como o confinamento ou semi-confinamento (CUNHA et al., 2008).

Assim, a terminação de cordeiros em sistema de confinamento é uma atividade que tem despertado o interesse de produtores, por proporcionar a diminuição de perdas de animais jovens decorrente de deficiências nutricionais e infestações parasitárias, assim como, por permitir que os animais atinjam o peso de abate mais precocemente (MEDEIROS et al., 2009; MONÇÃO et al., 2013).

1.2. Morfofisiologia dos sistemas digestório e renal

Além do conhecimento do valor nutricional dos alimentos, conhecer a influência alimentar sobre as alterações morfológicas e histopatológicas nos sistemas digestório e renal dos animais ruminantes é de grande relevância (BARBOZA et al., 2019).

As características nutricionais dos alimentos consumidos pelos ruminantes modificam as condições fermentativas do rúmen, como concentração de ácidos graxos voláteis (AGV's), pH, amônia e taxa de passagem. Essas mudanças no ambiente ruminal podem refletir-se negativa ou positivamente na utilização dos nutrientes da dieta, possibilitando modificações morfológicas na mucosa do rúmen que alteram a capacidade absorptiva (COSTA et al., 2008; WANG et al., 2017).

O estômago dos ruminantes é constituído por quatro compartimentos morfológicamente diferentes, os três primeiros correspondem ao rúmen, retículo e omaso, constituem-se à porção aglandular, com funções ligadas diretamente ao processo fermentativo, e o abomaso é o compartimento glandular, equivalente ao estômago dos monogástricos (SAMUELSON, 2007).

O epitélio que reveste os compartimentos aglandulares é formado por quatro camadas: basal, espinhosa, granulosa e córnea ou queratinizada, sendo a última voltada para o lúmen do órgão (KIERSZENBAUM, 2008). A camada basal corresponde a parte germinativa do epitélio, onde ocorre a multiplicação celular para crescimento e renovação epitelial, expressa por alta atividade mitótica (KIERSZENBAUM, 2008).

Algumas investigações científicas, têm constatado que a presença de substâncias agressoras (fatores antinutricionais) ao epitélio contidas nos alimentos dietéticos, podem propiciar mudanças nos parâmetros morfológicos da mucosa ruminal (NEIVA et al., 2006; BARBOZA et al., 2019).

O desenvolvimento do epitélio ruminal está relacionado ao tipo de dieta que é ofertado aos animais (WANG et al., 2017), o formato e tamanho das papilas são completamente dinâmicas e sujeitas às mudanças da dieta, bem como nos diferentes locais do rúmen (PEREIRA et al., 2002). Por sua vez, as papilas ruminais são projeções da túnica mucosa para o lúmen do órgão e são encarregadas por aumentar a área de superfície de contato, isto é, a área de troca entre o conteúdo ruminal e a corrente sanguínea (WANG et al., 2009; CUNNINGHAN, 2014).

O rúmen é revestido por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado que acompanha numerosas papilas da mucosa projetadas para o lúmen (SAMUELSON, 2007). A parede do rúmen é constituída por quatro diferentes túnicas, a mucosa, submucosa, muscular e serosa (FURLAN et al., 2011), onde a mucosa é formada por papilas que se diferenciam quanto a sua forma.

A mucosa do rúmen realiza a absorção, transporte, metabolismo e proteção (NEIVA et al., 2006). Por meio das papilas ruminais, ocorre à absorção dos produtos oriundos da fermentação dos alimentos que chegam ao rúmen. É o caso dos AGV's, compostos com elevado conteúdo calórico por unidade de massa, e representam a principal fonte de energia para os animais ruminantes (SANDERS et al., 2015).

Os AGV's servem como estimuladores do aumento das papilas ruminais, isso explica o fato de que nas áreas de maior absorção, ocorre elevado desenvolvimento das papilas (PEREIRA et al., 2002). O desenvolvimento do epitélio ruminal é primordial para a utilização dos nutrientes (WANG et al., 2009). A aceleração do desenvolvimento do rúmen está de acordo com o consumo de alimentos sólidos e a produção de AGV's, especialmente ácido propiônico e butírico (BALDWIN et al., 2004; PENNER et al., 2010; WILSON et al., 2012), entretanto, o acúmulo excessivo destes ácidos graxos podem causar lesões no epitélio (ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ et al., 2012; STEELE et al., 2012; BAASKE et al., 2020).

Mudanças na dieta causam alterações na microbiota ruminal e nas características do epitélio ruminal. O aumento de grãos, ou seja, quanto maior a proporção de concentrado na dieta aumenta a concentração de propionato, ocasionando proliferação celular (efeito

mitogênico) do epitélio ruminal e propiciando o crescimento das papilas ruminais (COSTA et al., 2008).

A ingestão de alimentos ricos em fibra como forragens (volumoso) é de fundamental importância no processo de motilidade ruminal, o que estimula a capacidade da musculatura e volumétrica do rúmen-retículo (distensão da parede ruminal), promovendo aumento da área de absorção e produção de acetato (LANA, 2007). Dietas com altos níveis de fibra em detergente neutro (FDN), ocasiona maior desenvolvimento da camada muscular do rúmen (SUÁREZ et al., 2006), induzindo a uma elevada hipertrofia e hiperplasia das fibras musculares lisa, ou seja, essa camada fica mais espessa devido a maior necessidade de movimentos peristálticos (SAMUELSON, 2007).

A composição da dieta e a digestibilidade dos alimentos e não a idade, caracterizam-se como fatores relevantes nas modificações morfológicas da mucosa ruminal, alterando-se conforme o que é ingerido pelo próprio animal (COSTA et al.; 2008; FERREIRA et al.; 2009). Costa et al. (2003) verificaram que em animais alimentados apenas com leite, não houve aumento no desenvolvimento das papilas ruminais, enquanto, os animais submetidos a dieta volumosa e concentrada, além de leite, apresentaram aumento no tamanho das papilas.

Desta forma, a ingestão de concentrados e volumosos são agentes mais importantes para promover as mudanças anatômicas, fisiológicas e metabólicas no sistema digestório dos ruminantes, podendo retardar e/ou acelerar, conforme o regime alimentar que esses animais são submetidos (COSTA et al., 2003).

Especialmente para animais ruminantes, deve-se ressaltar que as características do rúmen podem ser influenciadas quanto ao alimento fornecido, pois, de acordo com Mertens et al. (2012), ovinos inicialmente alimentados através de dieta com baixa energia e posteriormente, com concentrado sofrem alterações no epitélio ruminal, particularmente com aumento no tamanho de papilas, em adaptação a mudanças nos parâmetros ruminais, como o pH, concentração de AGV's e pressão osmótica.

O intestino delgado tem aspectos que melhoram a digestão e absorção dos alimentos, como é o caso de sua grande extensão e presença de pregas da mucosa e vilosidades (SAMUELSON, 2007). Sendo dividido em três regiões: duodeno, jejuno e íleo. Estas regiões participam de numerosos aspectos histológicos comuns através de cada uma de suas quatro túnica (mucosa, submucosa, muscular e serosa).

A mucosa intestinal apresenta relevante aspecto na fisiologia da digestão, por representar uma extensa área que está diretamente envolvida nos processos de ingestão, digestão e absorção dos nutrientes (SAMUELSON, 2007). É revestida por um epitélio simples cilíndrico contendo quatro tipos celulares principais: enterócitos ou células absorptivas, células caliciformes, células enteroendócrinas e células de Paneth (KIERSZENBAUM, 2008).

A estrutura do epitélio intestinal pode mudar conforme com o alimento ingerido, sendo que ele parece se adequar para satisfazer as necessidades nutricionais do animal (ZITNAN et al., 2008). A mucosa do intestino apresenta crescimento contínuo e pode ser afetada por fatores exógenos e endógenos, assim como, metabólicos, características físicas e químicas da dieta e microrganismos presente no intestino (MONTANHOLI et al., 2013).

O tamanho das vilosidades intestinais determinam diretamente a capacidade deste órgão de absorver os nutrientes provenientes da dieta (BARBOZA et al., 2019), ocorrendo também a absorção de aminoácidos oriundos do catabolismo da proteína microbiana (proteína metabolizável de alto valor biológico absorvida no intestino delgado do ruminante) (SOUZA MENDONÇA et al., 2006). Quanto mais alta forem as vilosidades, maior a área de contato com os alimentos, consequentemente, maior a taxa de absorção (MACARI e MAIORKA, 2000).

O desenvolvimento da mucosa intestinal pode ser usado como indicadores da saúde intestinal (WANG et al., 2017). Dentre as variáveis mais importantes que estão diretamente relacionadas como marcador da saúde intestinal, destaca-se a relação vilosidade/cripta e a quantidade ou índice de células caliciformes (BARBOZA et al., 2019).

Quanto mais elevada for a saúde intestinal, maior será a relação vilosidade/cripta, desse modo, maior a altura de vilosidade e cripta mais rasa (BARBOZA et al., 2019). Quando a cripta apresenta-se mais profunda, tem-se uma expressiva proliferação celular, isso devido alguma agressão ao epitélio, como aquelas causadas por patógenos, abrasão mecânica, toxinas ou fatores antinutricionais dos alimentos (APTEKMANN et al., 2001; SILVA et al., 2010). Esta excessiva proliferação torna-se negativa para o desempenho produtivo, uma vez que, aproximadamente 20% da energia gasta pelo animal, provém da renovação intestinal, e é ainda mais eminente quando a taxa de *turnover* celular é aumentada (MCBRIDE e KELLY, 1990; PLUSKE et al., 1997).

A quantidade de células caliciformes é outra variável relacionada a saúde intestinal. Estas células são responsáveis pela síntese de mucinas, que corresponde a um gel de muco protetor composto predominantemente de glicoproteínas, responsáveis pelo revestimento do

epitélio intestinal (HOOPER, 2009), apresentam funções específicas, tais como: ajudam no trânsito intestinal (peristaltismo), camada de proteção do epitélio contra agentes infecciosos e fazem parte da composição do glicocálice intestinal, que ajuda na digestão dos alimentos (BUENO et al., 2012).

As alterações na mucosa podem determinar um nível digestivo superior e maior capacidade nutritiva do intestino, uma vez que, a maior espessura da mucosa demonstra uma maior altura de vilosidade (LIMA et al., 2018). Isso resulta em uma expressiva área de contato dos nutrientes com a superfície de absorção, o que acarretará em superiores índices zootécnicos. Apesar disso, o crescimento contínuo da mucosa intestinal devido à descamação das células e substituição celular, causa gasto de energia (LIMA et al., 2019). Entretanto, quanto maior for a mucosa, mais acentuada serão as necessidades de reparo, acarretando no maior gasto de energia (WANG et al., 2009).

O fígado, outro órgão do sistema digestório, é o principal órgão envolvido e correlacionado ao metabolismo protéico, e uma disfunção grave no mesmo pode levar a um quadro irreversível (GUYTON e HALL, 2002), com evidente redução da taxa de crescimento, podendo levar a morte do animal.

Todo alimento, depois de digerido é metabolizado no trato intestinal, tem seus nutrientes processados no fígado, levando à formação de ureia para remoção de amônia em excesso, tendo efeito detoxificante, assim como, a síntese de certos aminoácidos, fatores de coagulação, acúmulo de energia na forma de glicogênio (HIPOLITO et al., 2004).

Os hepatócitos são as células parenquimatosas do órgão, e constituem 80% da população celular e podem exercer diferentes funções. Estas células armazenam proteínas, vitaminas e alguns lipídeos, além de serem capazes de sintetizar proteínas, glicose e ácidos graxos para a síntese de triglicerídeos, fosfolipídios e glicerol (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

O conhecimento das alterações histológicas no fígado de ruminantes que são submetidos a determinadas dietas é relevante, pois é possível que, em virtude da extensão do comprometimento hepático e das modificações de suas funções, acarrete perda de peso ou ganho nos animais, mesmo na falta de sinais clínicos (BALDWIN et al., 2004).

Neste contexto, é indispensável investigações quanto a ação dos compostos bioativos presentes na própolis vermelha ou em quaisquer outros aditivos, para verificar sua influência

na alteração do estoque do glicogênio hepático e em possíveis redução da conversão do propionato em glicose.

Por fim, os rins apresentam diversos papéis na manutenção da homeostase, são responsáveis pela filtração do sangue e excreção de dejetos metabólicos, e ao mesmo tempo retêm as substâncias filtradas necessárias ao organismo animal, englobando água, eletrólitos e proteínas de baixo peso molecular (SAMUELSON, 2007).

Alguns fatores antinutricionais dos alimentos, podem desencadear urolitíase, bem como insuficiência e necrose renal (RAHMAN et al., 2013; SUN et al., 2015), além de corromper os túbulos renais e seguido pela morte das células (HOVDA et al., 2010). Como constatado nos trabalhos de Lucena et al. (2018) e Barboza et al. (2019), pequenos ruminantes alimentados com dietas a base de palma forrageira e feno da folhagem de mandioca mais a inclusão de palma forrageira, respectivamente, apresentaram lesões significativas no parênquima renal.

Nesta circunstância, o uso dos aditivos naturais alternativos devem ser primeiramente testados, para se verificar se causam alterações nos tecidos gastrointestinal, hepático e renal; evidencializa-se então a necessidade de testes sobre a utilização da própolis vermelha como aditivo nutricional para animais ruminantes.

1.3. Própolis Vermelha

A própolis é uma mistura de resina, que as abelhas produzem combinando sua própria saliva, enzimas e misturada à cera apícola com substâncias que elas coletam de diversas fontes botânicas (ALENCAR et al., 2007; SOLTAN et al., 2015). As abelhas (*Apis mellifera*) coletam esse material e utilizam para vedar e fechar pequenos furos, frestas e espaços abertos na colmeia que possam ser utilizados por bactérias, fungos, ácaros e/ou insetos invasores, bem como em sua desinfecção e embalsamento de animais mortos, promovendo a proteção e sanidade da colônia contra seus inimigos naturais (PARK et al., 2002).

A composição da própolis é muito complexa, sendo constituída, principalmente, por resina extraída dos vegetais (50%), ceras (30%), óleos essenciais lubrificantes (10%), pólen (5%) e componentes orgânicos (ácidos orgânicos, ácidos graxos, vitaminas e minerais) (5%) (GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006).

Castro (2001) descreve que mais de 300 compostos bioativos foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras de própolis, isso é devido a imensa variabilidade de sua composição conforme a época do ano, região e vegetação que a origina (BANKOVA, 2005).

A classificação da própolis ocorre de acordo com a espécie de planta na qual as abelhas fazem uso para a coleta da resina, e também pela presença dos compostos fitoquímicos que podem se apresentar em maior, menor quantidade e/ou com exclusividade no material (PARK et al., 2002).

Atualmente, existem 13 grupos diferentes ou tipos de própolis que podem ser distinguidos no Brasil (PARK et al., 2002; SILVA et al., 2008). O grupo de própolis 13, recentemente descrito na região Nordeste, é caracterizado por uma cor vermelha forte e algumas características físico-químicas e biológicas que o diferenciam de outros grupos de própolis que foram catalogados e descritos na literatura (PARK et al., 2002; DAUGSCH et al., 2008).

Devido a variedades de constituintes bioativos, a própolis vermelha (Figura 1) apresenta inúmeras atividades biológicas e farmacológicas, destacando-se as ações anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, anticancerígena, antisséptica, bacteriostática, antiespasmódica, antiviral, antitumoral, antifúngica e imunomoduladora (BURDOCK, 1998; ALENCAR et al., 2007), gastroprotetora e nefroprotetora (BEHLING et al., 2008; FRIÓN-HERRERA et al., 2015; SILVEIRA et al., 2021), hepatoprotetora e antineoplásico (ATTIA et al., 2019; SILVA et al., 2019) e neuroprotetora (SHIMAZAWA et al., 2005).



Figura 1. Própolis vermelha oriunda da planta leguminosa *Dalbergia ecastaphyllum* (L).
Fonte: Ássimos (2014).

Esse novo tipo de própolis se destaca principalmente pela sua elevada atividade antimicrobiana e antioxidante em ensaios *in vitro* (MACHADO et al., 2016), se tornando alvo de estudos mais detalhados (ALENCAR et al., 2007; CABRAL et al., 2009). Ressalta-se que o mecanismo da atividade antimicrobiana está relacionado com a inibição da RNA-polimerase bacteriana (TAKAISI-KIKUNI e SCHILCHER, 1994; SALGADO et al., 2010) e a atividade antioxidante corresponde a capacidade que os compostos da própolis têm de eliminar os radicais livres (KANDASWAMI e MIDDLETON, 1994; SHIMAZAWA et al., 2005).

A própolis apresenta alguns mecanismos de atividade (modo de ação) sobre o crescimento bacteriano, como a inibição da replicação do DNA e, indiretamente, a divisão celular; colapso do citoplasma bacteriano, membranas celulares e paredes celulares; bacteriólise e; inibição da síntese e secreção de proteínas das células bacterianas (TAKAISI-KIKUNI e SCHILCHER, 1994). Dessa maneira, os compostos bioativos presentes na composição química da própolis podem agir como aditivos ionóforos, podendo modificar a fermentação microbiana do rúmen (STRADIOTTI JÚNIOR et al., 2004).

Diversos trabalhos avaliando seus efeitos sobre a microbiota ruminal foram executados. Desta forma, foram encontrados resultados diversos, principalmente sobre bactérias gram-positivas, mas também sobre algumas gram-negativas (MIRZOEVA et al., 1997; AGUIAR et al., 2013), fungos (KUJUMGIEV et al., 1999) e protozoários ciliados (RÍSPOLI et al., 2009).

Oliveira et al. (2004) estudaram a atuação do extrato de própolis e da monensina na produção de amônia (NH_3) e degradabilidade *in vitro* de diferentes fontes de proteína, os quais verificaram que o extrato de própolis e a monensina apresentaram a mesma eficácia na inibição da produção de amônia em duas fontes de nitrogênio. Em outros estudos *in vitro*, observaram que a própolis reduziu a produção de amônia ruminal (OZTURK et al., 2010), inibição de bactérias super produtoras de amônia (AGUIAR et al., 2013), bem como aumentos de 10,3% na produção de ácido propiônico (BROUDISCOU et al., 2000). Ainda, segundo Stradiotti Júnior et al. (2004) a utilização do extrato de própolis proporcionou aumento na concentração total dos ácidos graxos voláteis e foi eficiente em inibir a atividade de desaminação de aminoácidos pela microbiota ruminal.

Zawadzki et al. (2011) relataram que a eficiência alimentar e o ganho de peso de bovinos terminados em confinamento, foram melhorados com o uso da própolis marrom e verde. Também a própolis verde e marrom foram testadas em ovinos confinados, sendo

encontrado resultados semelhantes aos anteriores quanto ao desempenho produtivo com a própolis marrom, o que não ocorreu com a verde (ÍTAVO et al., 2011).

Enquanto, Prado-Calixto et al. (2017) avaliaram os efeitos da adição de doses crescentes de extrato de própolis na ração concentrada sobre o comportamento ingestivo e parâmetros sanguíneos de cordeiros, verificaram que o extrato de própolis ofertado aos animais não interferiu no comportamento ingestivo, bem como os parâmetros hematológicos, bioquímicos e imunológicos estudados.

A própolis vermelha poderia ser utilizada na dieta dos animais ruminantes como aditivo natural alimentar, pois apresenta uma fonte potencial de substâncias bioativas (ALENCAR et al., 2007), sendo capaz de melhorar o consumo de ração e a eficiência alimentar, impulsionando o desempenho dos animais e consequentemente melhorando as características produtivas e reprodutivas (SARKER e YANG, 2010).

Devido à grande biodiversidade do Brasil, a composição da própolis em diferentes regiões geográficas varia, e vários tipos distintos de própolis foram descritos (MACHADO et al., 2016). A composição química da própolis é bastante complexa e variada, estando intimamente relacionada com a ecologia da flora de cada região visitada pelas abelhas (PARK et al., 2002). Entretanto, a sua composição varia grandemente e depende de vários fatores, tais como: origem botânica (flora local), região geográfica e tempo de coleta (BANKOVA, 2005).

A própolis vermelha se destaca das demais devido a presença de novos compostos bioativos e por possuir características físico-químicas e biológicas diferenciais (TRUSHEVA et al., 2006; ALENCAR et al., 2007; SILVA et al., 2008; MENDONÇA et al., 2015).

Os compostos flavonoides e isoflavonoides estão presentes em maior quantidade na própolis vermelha, oriunda da planta leguminosa *Dalbergia ecastaphyllum* (L) (Figura 1), vulgarmente conhecida como “rabo-de-bugio” e encontrada em quase todo litoral e entonas de rios do Nordeste brasileiro (SILVA et al., 2008; PONTES et al., 2018).

Quatro isoflavonas presentes na própolis vermelha com propriedades antimicrobiana, anticarcinogênica e antioxidante foram identificadas por Alencar et al. (2007), as quais não foram encontradas nas demais própolis brasileiras, sendo elas: dihidroxiisoflavona, homopterocarpina, medicarpina e 4',7-dimethoxi-2'-isoflavona. Na Figura 2, apresenta-se algumas das principais substâncias encontradas nos trabalhos de caracterização química desse novo tipo de própolis.

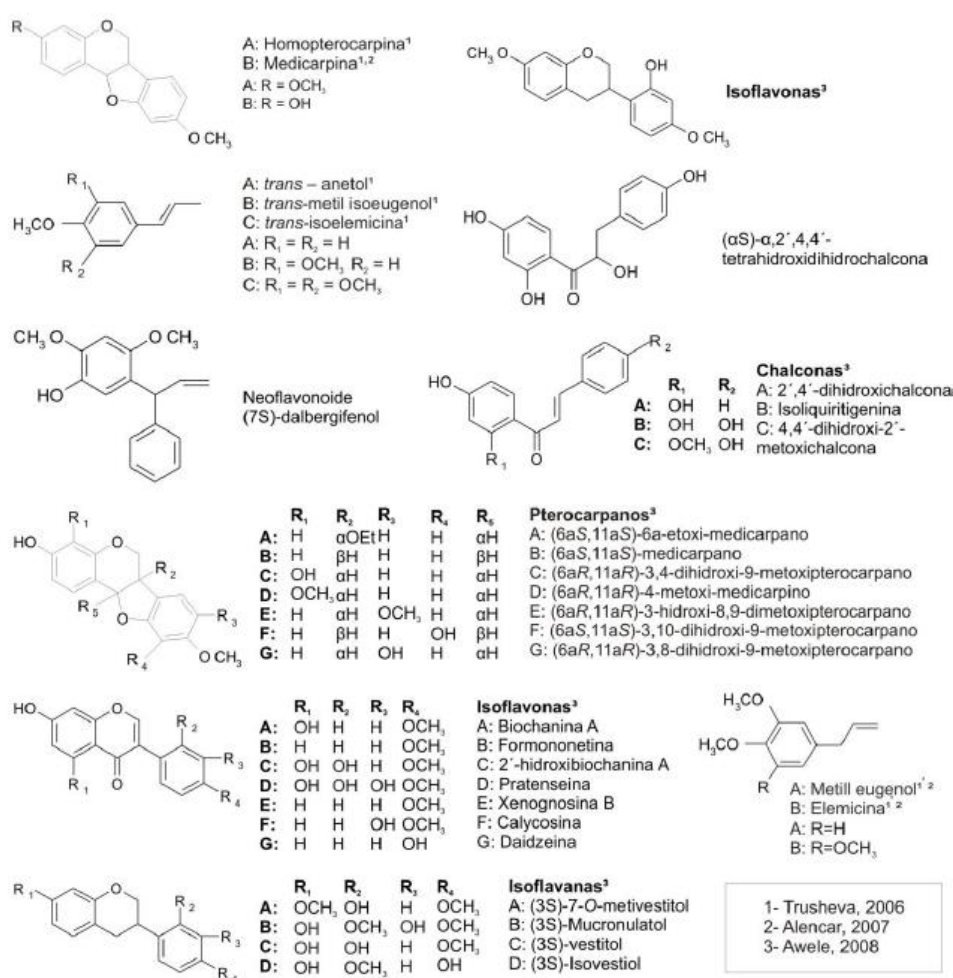


Figura 2. Compostos bioativos identificados na própolis vermelha da região Nordeste do Brasil.

A própolis vermelha apresenta substâncias biologicamente ativas que jamais foram identificadas em outro tipo de própolis, por exemplo, seus principais componentes são medicarpina, quercetina, daidzein, vestitol, neovestitol, formononetina, biochanin A, ácido felúrico e liquiritigenina, que fazem parte de grupos de substâncias como flavona, isoflavonóides, alcóois triterpênicos, derivados de fenilpropeno, chalconas e benzofenonas polipreniladas (TRUSHEVA et al., 2006; PICCINELLI et al., 2011; LÓPEZ et al., 2014).

Essas substâncias químicas apresentam diversas propriedades biológicas, a medicarpina têm ação antimicrobiana e antifúngica (ALENCAR et al., 2007; FROZZA et al., 2013); quercetina têm efeitos anti-inflamatório, antioxidante, antiviral e anticarcinogênico (ALENCAR et al., 2007), nefroprotetor e gastroprotetor (FRIÓ-HERRERA et al., 2015) e hepatoprotetor (SILVA et al., 2019); daidzein, ácido ferúlico e liquiritigenina apresentam ação

antioxidante (ALENCAR et al., 2007; FROZZA et al., 2013); formononetina e biochanin A denotam atividade antiproliferativo (PICCINELLI et al., 2011; FROZZA et al., 2013); vestitol e neovestitol exibem efeitos antimicrobiano, antioxidante e anti-inflamatório ((PICCINELLI et al., 2011; BUENO-SILVA et al., 2013).

Segundo Silva et al. (2008) avaliando a composição química e botânica da própolis vermelha, verificaram a presença de isoflavonóides medicarpin e 3-hidroxi-8,9-dimetoxipiperocarpan em altas porcentagens relativas. Trusheva et al. (2006) relataram que a propolis vermelha apresenta uma composição rica em ácidos fenólicos, triterpenoides, isoflavonóides e benzenofenonas preniladas, e um epóxido de naftoquinona foi isolado pela primeira vez a partir de uma fonte natural.

Esses compostos fitoquímicos que a própolis vermelha dispõe, possuem atividade semelhante aos ionóforos antibióticos, atuando sobre o potencial eletroquímico da membrana celular e diminuindo sua motilidade (MIRZOEVA et al., 1997). Em razão disso, constituem substitutos naturais (OZTURK et al., 2010; ÍTAVO et al., 2011) e reconhecidamente seguro seu uso, sendo relativamente não-tóxica (BURDOCK, 1998).

Alguns desses componentes químicos apresentados na Figura 2 são encontrados apenas na própolis vermelha do Nordeste brasileiro, distinguindo-o dos outros tipos de própolis catalogados.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, S. C.; ZEOULA, L. M.; FRANCO, S. L.; PERES, L. P.; ARCURI, P. B.; FORANO, E. Antimicrobial activity of Brazilian propolis extracts against rumen bacteria in vitro. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.29, n.10, p.1951-1959, 2013.

ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. L. C.; CASTRO, M. L.; CABRAL, I. S. R.; COSTA-NETO, C. M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; IKEGAKI, M. Chemical composition and biological activity of a new Brazilian propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, v.113, n.2, p.278- 283, 2007.

ÁLVAREZ-RODRÍGUEZ, J.; MONLEÓN, E.; BADIOLA, J. J.; JOY, M. Rumen fermentation and histology in light lambs as affected by forage supply and lactation length. **Research in Veterinary Science**, n.92, n.2, p.247-253, 2012.

ALVES, L. G. C.; OSÓRIO, J. C. S.; FERNANDES, A. R. M.; RICARDO, H. A.; CUNHA, C. M. Produção de carne ovina com foco no consumidor. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n.18, p.2399-2415, 2014.

APTEKMANN, K. P.; BARALDI ARTONI, S. M.; STEFANINI, M. A.; ORSI, M. A. Morphometric analysis of the intestine of domestic quails (*Coturnix coturnix japonica*) treated with different levels of dietary calcium. **Anatomia Histologia Embryologia**, v.30, n.5, p.277-280, 2001.

ÁSSIMOS, A. A. **Avaliação da concentração e dos tipos de flavonoides na própolis, utilizando métodos quimiométricos de classificação e calibração**. 2014. 103p. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ATTIA, Y. A.; BOVERA, F.; ABD-ELHAMID, A. E. H. E.; CALABRÓ, S.; MANDOUR, M. A.; AL-HARTHI, M. A.; HASSAN, S. S. Evaluation of the carryover effect of antibiotic, bee pollen and propolis on growth performance, carcass traits and splenic and hepatic histology of

growing rabbits. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.103, n.3, p.947-958, 2019.

AWALE, S.; LI, F.; ONOZUKA, H.; ESUMI, H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Constituents of Brazilian red propolis and their preferential cytotoxic activity against human pancreatic PANC-1 cancer cell line in nutrient-deprived condition. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.16, n.1, p.181-189, 2008.

BAASKE, L.; GÄBEL, G.; DENGLER, F. A checkpoint for cattle health. **Journal of Dairy Research**, v.87, n.3, p.322-329, 2020.

BALCELLS, J.; ARIS, A.; SERRANO, U.; SERADJ, A. R.; CRESPO, J.; DEVANT, M. Effects of an extract of plant flavonoids (Bioflavex) on rumen fermentation and performance in heifers fed high-concentrate diets. **Journal of Animal Science**, v.90, n.13, p.4975-4984, 2012.

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

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1-2, p.114-117, 2005.

BARBOZA, S. C. R.; OLIVEIRA, J. S.; CARVALHO, M. T.; LIMA JÚNIOR, D. M.; LIMA, H. B.; GUERRA, R. R. Ovines submitted to diets containing cassava foliage hay and spineless cactus forage: histological changes in the digestive and renal systems. **Tropical Animal Health and Production**, v.51, n.6, p.1689-1697, 2019.

BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.15, n.3, p. 285-292, 2008.

BROUDISCOU, L. P.; PAPON, Y.; BROUDISCOU, A. F. Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. **Animal Feed Science and Technology**, v.87, n.3-4, p.263-277, 2000.

BUENO, R.; ALBUQUERQUE, R.; MURAROLLI, V. D. A.; AYA, L. A. H.; RAPOSO, R. S.; BORDIN, R. A. Efeito da influência de probiótico sobre a morfologia intestinal de codornas japonesas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.49, n.2, p.111-115, 2012.

BUENO-SILVA, B.; ALENCAR, S. M.; KOO, H.; IKEGAKI, M.; SILVA, G. V. J.; NAPIMOGA, M. H.; ROSALEN, P. L. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from Brazilian red propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.19, p.4546-4550, 2013.

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

CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, n.6, p.1523-1527, 2009.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P. W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, v.90, n.6, p.2580-2595, 2007.

CASTRO, S. L. Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. **Annual Review of Biomedical Sciences**, v.3, p.49-83, 2001.

COSTA, R. G.; RAMOS, J. L. F.; MEDEIROS, A. N.; BRITO, L. H. R. Características morfológicas e volumétricas do estômago de caprinos submetidos a diferentes períodos de aleitamento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, p.118-125, 2003.

COSTA, R. G.; RIBEIRO, N. L.; CAVALCANTE, I. T. R.; ROBERTO, F. F. S.; LIMA, P. R. Carne de caprinos e ovinos do Nordeste: Diferenciação e agregação de valor. **Revista Científica de Produção Animal**, v.21, n.1, p.25-33, 2019.

COSTA, S. F.; PEREIRA, M. N.; MELO, L. Q.; RESENDE JUNIOR, J. C.; CHAVES, M. L. Alterações morfológicas induzidas por butirato, propionato e lactato sobre a mucosa ruminal e a epiderme de bezerros – I Aspectos histológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.1, p.1-9, 2008.

CUNHA, M. G. G.; CARVALHO, F. F. R.; VÉRAS, A. S. C.; BATISTA, A. M. V. Desempenho e digestibilidade aparente em ovinos confinado alimentados com dietas contendo níveis crescentes de caroço de algodão integral. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.1103-1111, 2008.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014, 1599p.

DANTAS, A. F.; PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA, A. M. A.; SANTOS, E. M.; SOUSA, B. B.; CÉZAR, M. F. Características da carcaça de ovinos Santa Inês terminados em pastejo e submetidos a diferentes níveis de suplementação. **Ciência Agrotécnica**, v.32, n.4, p.1280-1286, 2008.

DAUGSCH, A.; MORAES, C. S.; FORT, P.; PARK, Y. K. Brazilian red propolis—chemical composition and botanical origin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.5, 2008.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos**. 2018. Disponível em <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1099026>>. Acesso em 28 de abril de 2020.

EUROPEAN COMMUNITIES. Regulation EC No 1831/2003 of the European Parliament and Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. **Official Journal of the European Union**, L 268, p.29-43, 2003.

FAO – Food and Agriculture Organization. **Perspectivas agrícolas da OAA da OCDE: 2007-2016**. Disponível em: <http://www.faostat.fao.org>. Acessado em 29 de abril de 2020.

FERREIRA, L. S.; BITTAR, C. M. M.; SANTOS, V. P.; MATTOS, W. R. S.; PIRES, A. V. Efeito da adição de butirato de sódio, propionato de cálcio ou monensina sódica no concentrado inicial sobre parâmetros ruminais e de desenvolvimento do rúmen de bezerros leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2238-2246, 2009.

FILHO, C. G.; ATAÍDE JUNIOR, J. R. **Manejo básico de ovinos e caprinos**. Brasília: Sebrae, p.145, 2010.

FRIÓN-HERRERA, Y.; DÍAZ-GARCÍA, A.; RUIZ-FUENTES, J.; RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ, H.; SFORCIN, J. M. Brazilian green propolis induced apoptosis in human lung cancer A 549 cells through mitochondrial-mediated pathway. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.67, n.10, p.1448-1456, 2015.

FROZZA, C. O. S. et al. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v.52, p.137-142, 2013.

FURLAN, R. L.; MACARI, M.; FARIA FILHO, D. E. Anatomia e fisiologia do trato gastrintestinal. IN: BERCHIELLE, T. T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S. G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2011. 583p.

GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; GÓMEZ-ROMERO, M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.41, n.4, p.1220-1234, 2006.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002, 972p.

HIPOLITO, M.; MARTINS, A. M. C.R. P. F.; BACH, E. E. Aspectos bioquímicos em fígado de rãs-touro (*Rana catesbeiana* SHAW, 1802) sadias e doentes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, n.2, p.147-153, 2004.

HOOVER, L. V. Do symbiotic bacteria subvert host immunity? **Nature Reviews Microbiology**, v.7, n.5, p.367-374, 2009.

HOVDA, K. E.; GUO, C.; AUSTIN, R.; MCMARTIN, K. E. Renal toxicity of ethylene glycol results from internalization of calcium oxalate crystals by proximal tubule cells. **Toxicology Letters**, v.192, n.3, p.365-372, 2010.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa Pecuária Municipal 2017. **Tabela 3939: efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho, 2008 a 2017**. [Rio de Janeiro, 2017e]. Disponível em <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>>. Acesso em 28 de abril de 2020.

ÍTAVO, C. C. B. F.; MORAIS, M. G.; COSTA, C.; ÍTAVO, L. C. V.; FRANCO, G. L.; SILVA, J. A.; REIS, F. A. Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs in feedlot. **Animal Feed Science and Technology**, v.165, n.3-4, p.161-166, 2011.

JORIS, J. L.; VILPOUX, O. F. Transações entre produtores e frigoríficos no setor de ovinos no estado de Mato Grosso do Sul: uma abordagem pela economia dos custos de transação. **Revista Organizações Rurais & Agroindustriais**, v.15, n.2, p.220-234, 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013, 558p.

KANDASWAMI, C.; MIDDLETON, E. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. **Adv. Exp. Med. Biol.**, New York, v.366, p.351-376, 1994.

KARIRAKI, A. B.; OBIRI-DANSO, K.; FRIMPONG, E. H.; KROGFELT, K. A. Antibiotic resistance of *Campylobacter* recovered from faeces and carcasses of healthy livestock. **BioMed Research International**, v.2017, n.1, p.1-9, 2017.

KIERSZENBAUN, A. L. **Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia**. Rio de Janeiro, Editora Elsevier, 2008, 677p.

KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y.; BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal of Ethnopharmacology**, v.64, n.3, p.235-240, 1999.

LAGE, J. F.; PAULINO, P. V. R.; PEREIRA, L. G. R.; VALADARES FILHO, S. C.; OLIVEIRA, A. S.; DETMANN, E.; SOUZA, N. K. P.; LIMA, J. C. M. Glicerina bruta na dieta de cordeiros terminados em confinamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.9, p.1012-1020, 2010.

LANA, R. P. **Nutrição e alimentação animal: mitos e realidades**. 2. ed. Viçosa: UFV, v.1, 2007, 344p.

LANA, R. P.; RUSSEL, J. B. Efeitos da monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumoso ou concentrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.1, p.254-260, 2001.

LIMA, T. J.; COSTA, R. G.; MEDEIROS, G. R.; MEDEIROS, A. N.; RIBEIRO, N. L.; OLIVEIRA, J. S.; GUERRA, R. R.; CARVALHO, F. F. R. Ruminal and morphometric parameters of the rumen and intestines of sheep fed with increasing levels of spineless cactus (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck). **Tropical Animal Health and Production**, v.51, n.2, p.363-368, 2019.

LOPES, B. G. C.; LOURENÇO, C. C.; ALVES, D. A.; MACHADO, D.; LANCELLOTTI, M.; SAWAYA, A. C. H. F. Antimicrobial and cytotoxic activity of red propolis: an alert for its safe use. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, n. 3, p. 677-687, 2015.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: **Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas**. Campinas: Fundação Avícola de Ciência e Tecnologia Avícolas, p. 61-174, 2000.

MACHADO, C. S.; MOKOCHINSKI, J. B.; LIRA, T. O.; OLIVEIRA, F. C. E.; CARDOSO, M. V.; FERREIRA, R. G.; SAWAYA, A. C. H. F.; FERREIRA, A. G.; PESSOA, C.; CUESTA-RUBIO, O.; MONTEIRO, M. C.; CAMPOS, M. S.; TORRES, Y. R. Comparative study of chemical composition and biological activity of yellow, green, brown, and red Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2016, p.1-11, 2016.

MALHEIROS, M. A. C.; HÖFLER, C. E.; PATIAS, J. Cadeia produtiva da ovinocultura: uma análise sob a ótica dos produtores. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.10, n.2, p.371-394, 2017.

MCBRIDE, B. W.; KELLY, J. M. Energy cost of absorption and metabolism in the ruminant gastrointestinal tract and liver: a review. **Journal of Animal Science**, v.68, n.9, p.2997-3010, 1990.

MEDEIROS, G. R.; CARVALHO, F. F. R.; BATISTA, A. M. V.; DUTRA JÚNIOR, W. M.; SANTOS, G. R. A.; ANDRADE, D. K. B. Efeito dos níveis de concentrado sobre as características de carcaça de ovinos Morada Nova em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.4, p.718-727, 2009.

MENDONÇA, L.S.; MENDONÇA, F.M.R.; MAIA-ARAÚJO, Y.L.M.; ARAÚJO, E.D.; RAMALHO, S.A.; NARAIN, N.; JAIN, S.; ORELLANA, S.C.; PADILHA, F.F.; CARDOSO, J.C. Chemical markers and antifungal activity of red propolis from Sergipe, Brazil. **Food Science and Technology**, v.35, n.2, p.291-298, 2015.

MERTENS, H.; RABBANI, I.; SHEN, Z.; STUMPFF, F.; DEINER, C. Changes in rumen absorption processes during transition. **Animal Feed Science and Technology**, v.172, n.1-2, p.95-102, 2012.

MIRZOEVA, O. K.; GRISHANIN, R. N.; CALDER, P. C. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. **Microbiological Research**, v.152, n.3, p.239-246, 1997.

MONÇÃO, F. P.; OLIVEIRA, E. R.; MOURA, L. V.; TONISSI, R. H.; GÓES, B. Desenvolvimento da microbiota ruminal de bezerros: revisão de literatura. **Unimontes Científica**, v.15, n.1, p.76-89, 2013.

MONTANHOLI, Y.; FONTOURA, A.; SWANSON, K.; COOMBER, B.; YAMASHIRO, S.; MILLER, S. Small intestine histomorphometry of beef cattle with divergent feed efficiency. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.55, n.9, p.1-6, 2013.

NEIVA, G. S. M.; MOTA, D. L.; BATISTA, A. M. V.; RODRIGUES, C. F. S. Mucous membrane of the rumen of ovines, fed with spineless, forrage cactus or palm (Barbary fig) (*Opuntia ficus indica* Mil): Histochemical study by means of light microscopy. **International Journal of Morphology**, v.24, n.4, p.723-728, 2006.

NÓBREGA, G. H.; CÉZAR, M. F.; SOUSA, O. B.; PEREIRA FILHO, J. M.; SOUSA, W. H.; CUNHA, M. G. G.; CORDÃO, M. A.; FERREIRA, R. C.; SANTOS, J. R. S. Regime alimentar para ganho compensatório de ovinos em confinamento: desempenho produtivo e morfometria do rúmen e do intestino delgado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.5, p.1522-1530, 2014.

OLIVEIRA, J. S.; LANA, R. P.; BORGES, A. C.; QUEIROZ, A. C.; ALMEIDA, I. C. C. 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**, v.33, n.2, p.504-510, 2004.

OLIVEIRA, O. A. M.; AMARAL, A. G.; PEREIRA, K. A.; CAMPOS, J. C. D.; TAVEIRA, R. Z. Utilização de aditivos modificadores da fermentação ruminal em bovinos de corte. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.12, n.1, p. 287-311, 2019.

OZTURK, H.; PEKCAN, M.; SIRELI, M.; FIDANCI, U. R. Effects of propolis on in vitro rumen microbial fermentation. **Ankara Üniv Vet Fak Derg**, n.57, p.217-221, 2010.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; SCAMPARINI, A. R. P.; AGUIAR, C. L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: Evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. **Ciência Rural**, v.32, n.6, p.997-1003, 2002.

PENNER, G. B.; STEELE, M. A.; ASCHENBACH, J. R.; MCBRIDE, B. W. Ruminant Nutrition Symposium: Molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets. **Journal Animal Science**, v.89, n.4, p.1108-1119, 2010.

PEREIRA, L. G. R.; ARAGÃO, A. L. S.; SANTOS, R. D.; AZEVÊDO, J. A. G.; NEVES, A. L. A.; FERREIRA, A. L.; CHIZZOTTI, M. L. Desempenho produtivo de ovinos em confinamento alimentados com farelo de manga. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.3, p.675-680, 2013.

PEREIRA, M. E.; SILVEIRA, A. F.; SILVEIRA, S. O. Diferentes dietas no desenvolvimento histológico de papilas ruminais de bezerros da raça Holandesa. **Revista da FZVA**, v.9, n.1, p.143-154, 2002.

PICCINELLI, A. L.; LOTTI, C.; CAMPONE, L.; CUESTA-RUBIO, O.; FERNANDEZ, M. C.; RASTRELLI, L. Cuban and Brazilian red propolis: botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.12, p.6484-6491, 2011.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, v.51, n.1-3, p.215-236, 1997.

POMPEU, R. C. F. F.; CÂNDIDO, M. J. D.; PEREIRA, E. S.; BOMFIM, M. A. D.; CARNEIRO, M. S. S.; ROGÉRIO, M. C. P.; SOMBRA, W. A.; LOPES, M. N. Desempenho

produtivo e características de carcaça de ovinos em confinamento alimentados com rações contendo torta de mamona destoxificada em substituição ao farelo de soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.3, p.726-733, 2012.

PONTES, M. L. C.; VASCONCELOS, I. R. A.; DINIZ, M. F. F. M.; PESSÔA, H. L. F. Chemical characterization and pharmacological action of Brazilian red propolis. **Acta Brasiliensis**, v.2, n.1, p.34-39, 2018.

PRADO-CALIXTO, O. P.; MIZUBUTI, I. V.; RIBEIRO, E. L. A.; PEREIRA, E. S.; SILVA, R. T.; CORLETTTO, N. L.; PEIXOTO, E. L. T.; CARVALHO, L. N.; NIHEI, A. K.; MASSARO JÚNIOR, F. L.; SILVA, L. D. F.; GALBEIRO, S. Comportamento ingestivo e parâmetros sanguíneos em ovinos que receberam dietas contendo aditivos à base de extratos de própolis em pó. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.2, p.381-390, 2017.

RAHMAN, M. M.; ABDULLAH, R. B.; WAN KHADIJAH, W. E. A review of oxalate poisoning in domestic animals: tolerance and performance aspects. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.97, n.4, p.605-614, 2013.

RANGEL, A. H. N.; LEONEL, F. P.; SIMPLÍCIO, A. A.; MENDONÇA JÚNIOR, A. F. Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.8, n.1, p. 264-273, 2008.

RÍSPOLI, T. B.; RODRIGUES, I. L.; MARTINS NETO, R. G.; KAZAMA, R.; PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; ARCURI, P. B. Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.1, p.92-97, 2009.

SABINO, Y. N. V.; SANTANA, M. F.; OYAMA, L. B.; SANTOS, F. G.; MOREIRA, A. J. S.; HUWS, S. A.; MANTOVANI, H. C. Characterization of antibiotic resistance genes in the species of the rumen microbiota. **Nature communications**, v.10, n.1, p.1-11, 2019.

SALGADO, L. S.; ZAWADZKI, F.; SILVA, L. G.; LIMA, B. S.; RIVAROLI, D. C.; PRADO, I. N. Monensina sódica ou extrato de própolis LLOS C1++ na dieta de bovinos Nelores terminados em confinamento: frequência e tempo das atividades de comportamento ingestivo noturno. **PUBVET**, v. 4, n.35, p.944-950, 2010.

SAMUELSON, D. A. **Tratado de histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2007, 527p.

SANDERS, D. M.; CALMON, T. C. B. S.; OLIVEIRA, R. L.; PINTO, L. F. B.; ESTRELA-LIMA, A.; OLIVEIRA, R. L.; SILVA, T. M.; RIBEIRO, R. D. X. Histomorfometria do epitélio ruminal de cabritos $\frac{1}{2}$ sangue Boer submetidos a dietas com tortas oriundas da produção do biodiesel. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.2, p.433-440, 2015.

SANTELLO, G. A.; MACEDO, F. A. F.; MEXIA, A. A.; SAKAGUTI, E. S.; DIAS, F. J.; PEREIRA, M. F. Características de carcaça e análise do custo de sistemas de produção de cordeiras $\frac{1}{2}$ Dorset Santa Inês. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1852-1859, 2006.

SARKER, M. S. K.; YANG, C. J. Propolis and illite as feed additives on performance and blood profiles of post-weaning Hanwoo calves. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.9, n.21, p.2704-2709, 2010.

SHIMAZAWA, M.; CHIKAMATSU, S.; MORIMOTO, N.; MISHIMA, S.; NAGAI, H.; HARA, H. Neuroprotection by Brazilian green propolis against in vitro and in vivo ischemic neuronal damage. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2, n.2, p.201-207, 2005.

SILVA, B. B.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; IKEGAKI, M.; SOUZA, V. C.; ESTEVES, A.; ALENCAR, S. M. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.5, n.3, p.313-316, 2008.

SILVA, J. B.; PAIVA, K. A. R.; COSTA, K. M. F. M.; VIANA, G. A.; ARAÚJO JÚNIOR, H. N.; BEZERRA, L. S.; FREITAS, C. I. A.; BATISTA, J. S. Hepatoprotective and antineoplastic potencial of red propolis produced by the bees *Apis mellifera* in the semiarid of Rio Grande do Norte, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.39, n.9, p.744-756, 2019.

SILVA, L. C. R.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; SCHAMBER, C. R.; SANTOS, L. D.; VIDAL, L. V. O. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p.1175-1179, 2010.

SILVEIRA, M. A. D.; DE JONG, D.; GALVÃO, E. B. S. et al. efficacy of propolis as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: a randomized, controlled clinical trial. **MedRxiv**, v.9, n.1, p.1-21, 2021.

SOLTAN, Y. A.; MORSY, A. S.; SALLAM, S. M. A.; HASHEM, N. M.; ABDALLA, A. L. Propolis as natural feed additive in ruminants diets: Can propolis affect the ruminants performance? In: **2nd International Conference on the Modern Approaches in Livestock's Production Systems, Alexandria, Egypt**, p.12-14, 2015.

SORIO, A. **A carne ovina e o abate clandestino: A informalidade tem jeito?** Revista Cabra & Ovelha, n.78, Maio, 2013.

SORIO, A. **Carne Ovina: Perspectivas para 2012-2020.** Revista o Berro, Editora Tropical, Uberaba – MG, n.153, Março, 2012.

SOUZA MENDONÇA, S.; PEREIRA, M. L. A.; ASSIS, A. J.; AGUIAR, L. V.; CARVALHO, G. G. P. Estimção da produção de proteína microbiana em ruminantes baseada nas excreções de derivados de purinas. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.101, n.559-560, p.181-186, 2006.

STEELE, M. A.; GREENWOOD, S. L.; CROOM, J.; MCBRIDE, B. W. An increase in dietary non-structural carbohydrates alters the structure and metabolism of the rumen epithelium in lambs. **Canadian Journal of Animal Science**. v.92, n.2, p.123-130, 2012.

STRADIOTTI JÚNIOR, D.; QUEIROZ, A. C.; LANA, R. P.; PACHECO, C. G.; EIFERT, E. C.; NUNES, P. M. M. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004.

SUÁREZ, B. J.; VAN REENEN, C. G.; GERRITS, W. J. J.; STOCKHOFE, N.; VAN VUUREN, A. M.; DIJKSTRA, J. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen development. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.11, p.4376-4386, 2006.

SUN, X. Y.; OUYANG, J. M.; ZHU, W. Y.; LI, Y. B.; GAN, Q. Z. Size-dependent toxicity and interactions of calcium oxalate dihydrate crystals on Vero renal epithelial cells. **Journal of Materials Chemistry B**, v.3, n.9, p.1864-1878, 2015.

TAKAISI-KIKUNI, N. B.; SCHILCHER, H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. **Planta Medica**, v.60, n.03, p.222-227, 1994.

TRUSHEVA, B.; POPOVA, M.; BANKOVA, V.; SIMOVA, S.; MARCUCCI, M. C.; MIORIN, P. L.; PASIN, F. R.; TSVETKOVA, I. Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.3, p.1-6 2006.

URANO, F. S.; PIRES, A. V.; SUSIN, I.; MENDES, C. Q.; RODRIGUES, G. H.; ARAUJO, R. C.; MATTOS, W. R. S. Desempenho e características da carcaça de cordeiros confinados alimentados com grãos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.10, p.1525-1530, 2006.

VIANA, J. G. A. Panorama Geral da Ovinocultura no Mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, Ano 4, n.12, Porto Alegre, 2008.

VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, V. C. P. Cadeia produtiva da ovinocultura no Rio Grande do Sul: um estudo descritivo. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.2, n.1, p.9-20, 2009.

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

WANG, Y. H.; XU, M.; WANG, F. N.; YU, Z. P.; YAO, J. H.; ZAN, L. S.; YANG, F. X. Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats. **Livestock Science**, v.122, n.1, p.48-52, 2009.

WILSON, D. J.; MUTSVANGWA, T.; PENNER, G. B. Supplemental butyrate does not enhance the absorptive or barrier functions of the isolated ovine ruminal epithelia. **Journal Animal Science**, v.90, n.9, p.3153-3161, 2012.

ZAWADZKI, F.; PRADO, I. N.; MARQUES, J. A.; ZEOULA, L. M.; ROTTA, P.P.; SESTARI, B. B.; VALERO, M. V.; RIVAROLI, D. C. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.20, n.1, p.16-25, 2011.

ZITNAN, R.; VOIGT, J.; KUHLA, S.; WEGNER, J.; CHUDY, A.; SCHOEHHUSEN, U.; BRNA, M.; ZUPCANOVA, M.; HAGEMEISTER, H. Morphology of small intestinal mucosa and intestinal weight change with metabolic type of cattle. **Veterinarni Medicina**, v.53, n.10, p.525-532, 2008.

CAPÍTULO II

ARTIGO CIENTÍFICO

Extrato da própolis vermelha na dieta de ovinos confinados: alterações morfométricas do sistema digestório

Pedro Henrique de Melo Garcia¹, Juliana Silva de Oliveira¹, Dorgival Moraes de Lima Júnior², Vitor Visintin Silva de Almeida², Edijanio Galdino da Silva¹, Neila Lidiany Ribeiro³, Ricardo Romão Guerra¹

¹ Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Areia, PB 58397-000, Brasil

² Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Arapiraca, AL 57309-005, Brasil

³ Instituto Nacional do Semiárido, Campina Grande, PB 58434-700, Brasil

* Ricardo Romão Guerra

ricardo@cca.ufpb.br

RESUMO

Objetivou-se avaliar o efeito do uso de níveis crescentes de extrato da própolis vermelha (EPV) na dieta de ovinos confinados sob o desempenho e parâmetros histomorfométricos de rúmen e intestino e histopatológicos de fígado e rim. Trinta e cinco ovinos machos ($17,08 \pm 2,36$ kg de peso corporal) foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (0, 7, 14, 21 e 28 mL dia⁻¹ EPV) e sete repetições, submetidos a um período experimental de 68 dias. Decorridos 68 dias de confinamento, os animais foram abatidos e coletadas amostras de rúmen, intestino, fígado e rim para análises histomorfométricas e histopatológicas. Os dados foram submetidos à análise de variância e regressão ao nível de 5% de probabilidade. As variáveis consumo de matéria seca (CMS), ganho de peso total (GPT), espessura de epitélio (EE), porção queratinizada do epitélio (PQ), porção não queratinizada do epitélio (PNQ), altura de papila (AP), largura de papila (LP), espessura de mucosa (EM) e espessura de submucosa (ES) exibiram comportamento de curva quadrática ($P < 0,05$) com a inclusão do EPV. A variável área de absorção ruminal (AA) apresentou comportamento de curva linear. O nível máximo de 28 mL dia⁻¹ EPV resultou em aumento de 20,24% no GPT quando comparado com o grupo controle. Foi possível verificar que o uso do EPV na dieta de ovinos em confinamento obteve ponto de mínima estimado nos níveis 13 (0,65 kg de MS dia⁻¹), 11 (4,81 kg), 9 (19,99 μm) e 12 (1374,25 μm) mL dia⁻¹ EPV para as variáveis CMS, GPT, PQ e AP, respectivamente, e ponto de máxima estimado nos níveis 17 (174,38 μm), 14 (153,06

μm), 16 (429,36 μm), 33 (548,85 μm) e 9 (1382,52 μm) mL dia^{-1} EPV para EE, PNQ, LP, EM e ES, respectivamente. Diante disso, indica-se o nível de 28 mL dia^{-1} EPV como aditivo natural, a fim de proporcionar maiores áreas absorptivas de rúmen, intestino e aumento no ganho de peso total, não causando alterações histopatológicas em fígado e rins de ovinos, demonstrando ser uma alternativa viável biologicamente para substituição aos aditivos sintéticos.

Palavras-chave: Aditivo natural. Compostos fenólicos. Histologia ruminal. Morfometria.

INTRODUÇÃO

Na produção de ruminantes, há busca constante por estratégias de manipulação do ecossistema microbiano do rúmen visando melhorar a eficiência na produção, por meio do aumento da eficácia na degradação dos alimentos sem que ocorra grandes perdas pelo processo fermentativo ruminal (Morsy et al. 2013; Silva et al. 2015). Para tanto, os ionóforos são inseridos nas rações como aditivos alimentares por apresentarem capacidade de modificar o ambiente ruminal (Prado et al. 2010). Essas mudanças no ecossistema ruminal, trazem respostas positivas no desempenho produtivo dos animais, melhorando a eficiência na produção de carne e leite (Morgavi et al. 2010).

Entretanto, a partir das atuais imposições mercadológicas e sanitárias os aditivos ionóforos sofrem limitações quanto ao seu uso. A motivação advém do fato de que o uso indevido de antibióticos como promotores de crescimento podem gerar resíduos nos produtos de origem animal, resultando no desenvolvimento de cepas bacterianas resistentes (Morsy et al. 2016; Karikari et al. 2017) e na presença de genes de resistência a antibióticos em espécies da microbiota ruminal (Sabino et al. 2019).

Salienta-se ainda que o uso de antibióticos ionóforos como aditivos alimentares é proibido pela União Europeia desde o ano de 2006 (Oeztuerk e Sagmanligil, 2009; Martin et al. 2010). Tais preocupações, promovem a busca por aditivos alimentares alternativos, que vão de encontro às necessidades e tendências do mercado internacional (Aguiar et al. 2014; Morsy et al. 2015). Por essa razão, estudos vem sendo realizados para encontrar compostos naturais que possam substituir os ionóforos, para melhorar a eficiência alimentar e o desempenho dos ruminantes sem deixar resíduos em seus produtos (Valero et al. 2011; Al-Khafaji, 2016; Shedeed et al. 2019) e se adequando à tendência do mercado.

Dentre à enorme diversidade de produtos naturais existentes está a própolis vermelha brasileira (Alencar et al. 2007; Soltan et al. 2015). A mesma é produzida por colmeias de *Apis mellifera* localizadas perto de regiões litorâneas e manguezais do Nordeste brasileiro (Silva et al. 2008; Pontes et al. 2018) e tem como origem botânica a espécie de leguminosa *Dalbergia ecastaphyllum* (L), sendo diferenciada dos demais tipos de própolis catalogados devido a sua composição química complexa (Aguiar et al. 2014; Morsy et al. 2015) e local de ocorrência (Jain et al. 2014).

A própolis vermelha se destaca também por apresentar inúmeras substâncias bioativas que estão presentes em maior quantidade, como os ácidos fenólicos e flavonoides (Alencar et al. 2007; Oldoni et al. 2011), os quais possuem altas atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, antiviral, antitumoral, antifúngica, imunomoduladora, citotóxica (Alencar et al. 2007; Fischer et al. 2008; Oldoni et al. 2011; Kamiya et al. 2012), gastroprotetora (Berling et al. 2008), nefroprotetora (Frión-Herrera et al. 2015), hepatoprotetora e antineoplásico (Banskota et al. 2000; Attia et al. 2019; Silva et al. 2019d).

Estudos apontam que a própolis tem ação bacteriostática sobre bactérias gram-positivas, supostamente pela modificação do estado bioenergético da membrana bacteriana e inibição de sua mobilidade, o que remete o funcionamento dos ionóforos, podendo modificar de forma benéfica a fermentação ruminal (Stradiotti Júnior et al. 2004). Pesquisas utilizando o extrato da própolis como aditivo na alimentação de animais ruminantes, têm se demonstrado eficiente no desempenho produtivo de cordeiros em confinamento (Sarker e Yang, 2010; Ítavo et al. 2011; Zawadzki et al. 2011).

Contudo, existe uma lacuna sobre o conhecimento científico com relação ao uso e efeitos do extrato da própolis vermelha na dieta de ovinos, e também se ela promove alterações morfométricas e/ou histopatológicas em órgãos dos sistemas digestório e renal. Assim, levanta-se a hipótese de que o uso do extrato da própolis vermelha como aditivo nutricional natural, altere algumas variáveis morfológicas de rúmen e intestino de ovinos que promova o aumento da área de absorção, consequentemente a produção, sem causar danos hepáticos ou renais. Dessa maneira, objetivou-se avaliar o efeito do uso de níveis crescentes de extrato da própolis vermelha na dieta de ovinos confinados sob o desempenho e de parâmetros histomorfométricos de rúmen e intestino e histopatológicos de fígado e rim.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), sob a licença de número 37/2018. O experimento ocorreu no Setor de Ovinocultura da Universidade Federal de Alagoas – Câmpus Arapiraca, localizado no município de Arapiraca, pertencente à mesorregião do Agreste Alagoano, com latitude 9°45'09'' e longitude 36°39'40''. O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação climática de Köppen-Geiger, com temperatura média de 23,7 °C e pluviosidade média de 752 mm (INMET, 2020).

Foram utilizados 35 ovinos mestiços Santa Inês, machos não castrados, com idade média de cinco meses e peso corporal inicial médio de $17,08 \pm 2,36$ kg, submetidos a um período experimental de 68 dias, sendo 10 dias destinados à adaptação dos animais às condições experimentais e 58 dias para coletas de dados. Ao início do período de adaptação, as baias foram numeradas, os animais identificados por brincos, desverminados contra ecto e endoparasitas (Cydectin®) e vacinados contra clostridioses (Sintoxan®), e após a pesagem, foram distribuídos nos tratamentos. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em um delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e sete repetições. Os tratamentos testados consistiram em níveis crescentes de extrato da própolis vermelha (EPV), sendo: controle (sem uso do EPV), 7, 14, 21 e 28 mL de EPV/animal/dia.

Os animais foram alojados individualmente em baias cobertas com área útil de $1,2 \text{ m}^2$ (1,0 m x 1,2 m), com piso de concreto, providas de acesso a comedouro e bebedouro. Os mesmos receberam água e ração na forma de mistura completa *ad libitum*, sendo duas refeições diárias (07h00min e 16h00min) de modo a permitir sobras de 10% do total ofertado. Durante todo o período experimental, a quantidade de ração ofertada e sobras foram pesadas e registradas diariamente, para a estimativa do consumo alimentar.

A ração dos animais foi a mesma para todos os tratamentos, sendo composta de volumoso e concentrado em uma relação de 60:40, respectivamente. O concentrado foi formulado de acordo com as recomendações do NRC (2007), de modo a permitir ganho em peso médio diário de 250 g, formulado com milho moído ($18,62 \text{ kg MS}^{-1}$), farelo de soja ($19,38 \text{ kg MS}^{-1}$) e suplemento mineral para ovinos ($2,00 \text{ kg MS}^{-1}$). A fração volumosa foi composta por feno de capim Tifton-85 (*Cynodon dactylon*) na proporção de $60,00 \text{ kg MS}^{-1}$, previamente triturado.

A administração diária do EPV aos animais foi realizada após a alimentação, com intervalo de uma hora, via oral, utilizando uma pistola dosadora de fluxo contínuo de 10 mL com precisão de 1 mL e provida de bico dosador (Höppner®, EUA). Os animais do grupo controle receberam o mesmo manejo, mas com água, para remover o efeito do manejo no tratamento controle. Foi quantificado o consumo (g animal^{-1}) de compostos fenólicos e flavonoides totais pelos animais, de acordo com cada tratamento testado (Tabela 1).

Tabela 1. Composição química do extrato da própolis vermelha (EPV), consumo de compostos fenólicos (CCF) e flavonoides totais (CFT)

Composição do EPV	Quantidade (mg mL de extrato ⁻¹)	Consumo (g animal ⁻¹)	Níveis de EPV (mL dia ⁻¹)				
			Controle	7	14	21	28
Compostos fenólicos totais ¹	16,18	CCF	0,00	0,113	0,227	0,340	0,453
Flavonoides totais ²	8,49	CTF	0,00	0,059	0,119	0,178	0,238

¹Quantificado em equivalente de ácido gálico; ²Quantificado em equivalente de quercetina.

As amostras das sobras por animal foram coletadas diariamente pela manhã durante todo o experimento e registradas em planilhas. A cada coleta, as amostras foram identificadas, pesadas e armazenadas em freezer a -20 °C. Posteriormente, as amostras foram pré-secas em estufa de ventilação forçada a 55 °C por 72 horas, moídas em moinho de faca tipo Willey, passando por peneira de crivos de 1 mm e homogeneizadas para análises químicas, que foram realizadas em duplicata.

Nas amostras de alimentos e sobras foram estimadas matéria seca (MS, método 934.01; AOAC, 2005), proteína bruta (PB, método de Kjeldahl, método 984,13; AOAC, 2005), extrato etéreo (EE, método 920,39; AOAC, 2005), teor de cinzas (método 942,05; AOAC, 2005), fibra em detergente neutro (FDN, método de Van Soest, 1991) e fibra em detergente ácido (FDA, método 973,18; AOAC, 2005). O teor de carboidratos totais (CT) foi estimado por meio da equação proposta por Sniffen et al. (1992): $\text{CT} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas})$. Carboidratos não fibrosos (CNF) foram estimados usando a equação proposta por Mertens (1997): $\text{CNF} = 100 - (\% \text{PB} + \% \text{EE} + \% \text{Cinzas} + \% \text{FDN})$ (Tabela 2).

Tabela 2. Composição química dos ingredientes alimentares, concentrado e ração total com base na matéria seca (MS) oferecido aos ovinos

Item (g kg ⁻¹ de MS)	Ingredientes				
	Milho moído	Farelo de soja	Feno de Tifton-85	Concentrado	Ração Total
Matéria seca	880,50	876,20	846,40	880,40	861,79
Cinzas	18,40	66,20	57,30	81,00	66,78
Proteína bruta	105,00	548,20	70,20	356,30	184,64
Extrato etéreo	39,80	22,30	14,70	33,10	22,06
Fibra em detergente neutro	127,00	155,80	771,70	127,40	513,98
Fibra em detergente ácido	86,10	26,60	436,00	62,50	286,60
FDNcp	104,40	109,30	734,80	109,00	484,48
Carboidratos totais	836,80	363,30	857,80	529,60	726,52
Carboidratos não fibrosos	709,80	207,50	86,10	402,20	212,54
PIDN	21,50	44,10	23,50	14,90	20,06
CIDN	1,10	2,40	13,40	3,40	9,40

FDNcp = Fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e compostos nitrogenados; PIDN = Proteína insolúvel em detergente neutro; CIDN = Cinza insolúvel em detergente neutro.

As amostras brutas da própolis vermelha foram adquiridas de regiões produtoras de colmeias de abelhas *Apis mellifera* localizadas no município de Canavieiras, no estado da Bahia, sendo mantidas em ambiente escuro e refrigerados. Para a obtenção do extrato, a própolis bruta foi fracionada a tamanhos menores (30 g) e em seguida foi triturada, homogeneizada e armazenada em frascos de vidros, sendo adicionado 100 mL de solução hidroalcoólica (álcool de cereais) à 70%, permanecendo em repouso por um período de 10 dias em local escuro, com posterior filtragem em papel filtro, obtendo-se a solução do EPV (solução estoque) e armazenada em frascos escuros sem influência da luz. Realizou-se a diluição em água deionizada da solução estoque, usando-se 50% desta, conforme metodologia de Stradiotti Júnior et al. (2004).

A determinação do conteúdo total dos compostos fenólicos presentes no EPV foi realizada em triplicata pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton et al. 1999). A quantidade de compostos fenólicos foi expresso como equivalente de ácido gálico (EAG) (mg EAG.mL de extrato⁻¹), através de uma curva de calibração (Sigma Aldrich) utilizando soluções conhecidas para o padrão de ácido gálico (12 a 100 µg ácido gálico mL⁻¹ de solução) nas mesmas condições ($\lambda = 750$ nm). A absorbância foi medida com espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu 1240), com comprimento de onda de 750 nm (Tabela 1).

O teor de flavonoides totais no EPV foi realizado em triplicata pelo método de cloreto

de alumínio (Marcucci et al. 1998). A quantidade de flavonoides totais foi expresso como equivalente de quercetina (EQ) (mg EQ.mL de extrato⁻¹). A curva de calibração foi construída utilizando-se equivalente de quercetina (Sigma Aldrich) na concentração de 16 µg quercetina mL⁻¹ de solução. A absorbância foi medida em espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu 1240), com comprimento de onda de 425 nm (Tabela 1).

Os principais constituintes químicos (compostos bioativos) contidos nos ácidos fenólicos e flavonóides foram identificados por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC Shimadzu, DGU-20A5R), sendo baseado no método proposto por Park et al. (2002), com modificações. Foram utilizados padrões autênticos (Sigma Aldrich) de ácido clorogênico, ácido gálico, ácido cumárico, pirocatequina, kaempferol e quercetina para identificação e quantificação (Tabela 3).

Tabela 3. Composição de ácidos fenólicos e flavonoides indentificados no extrato da própolis vermelha (EPV)

Descrição	Compostos	Quantidade (µg mL de extrato ⁻¹)
Ácidos fenólicos	Ácido Gálico	22,559
	Ácido Clorogênico	20,139
	Ácido Cumárico	19,255
Flavonoides	Kaempferol	401,168
	Pirocatequina	27,729
	Quercetina	148,741

Decorridos 68 dias de confinamento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em uma ordem de abate e encaminhados para o frigorífico, onde foram mantidos em descanso sob jejum de sólidos por 16 horas, de acordo com as normas de bem-estar animal. Antes do abate, cada animal foi pesado individualmente para obtenção do peso corporal ao abate. No momento do abate, os animais foram insensibilizados por concussão cerebral, suspensos pelos membros posteriores através de cordas e sangrados por quatro minutos a partir de cisão nas artérias carótidas e veias jugulares (Brasil, 2000).

Sequencialmente, os animais foram esfolados manualmente com auxílio de facas comuns, seguidos da evisceração e amputações dos membros, sendo a cabeça separada pela secção na articulação atlas-occipital, e as extremidades das patas pela secção nas articulações carpo-metacarpianas e tarso-metatarsianas (Cezar e Sousa, 2007).

Realizada a esfolagem, foram removidos os componentes internos das cavidades pélvica,

abdominal e torácica. Em seguida, foram coletados fragmentos dos seguintes órgãos: rúmen (parede do saco dorsal), intestino delgado (porção média do duodeno), fígado (lobo lateral esquerdo) e rim (área cortical). As amostras foram lavadas com solução fisiológica a 0,9% e depois fixadas em formol tamponado a 10%. De cada animal foram coletados quatro fragmentos (rúmen, intestino delgado, fígado e rim) não maiores que 1 cm^3 , esses fragmentos foram sempre retirados na mesma porção topográfica em todos os animais.

Os fragmentos, após fixados, foram submetidos ao processamento histológico, que ocorreu com as etapas de desidratação, diafanização e inclusão em parafina. A desidratação foi realizada com a imersão em solução crescente de álcool etílico nas proporções de 70%, 90%, 100% I, 100% II durante uma hora cada, depois por mais uma hora na solução de álcool+xilol (50% - 50%). Para a diafanização, as amostras ficaram na solução de xilol I e II por uma hora, respectivamente. Em seguida ficaram pelo mesmo tempo na parafina I e em seguida na II até a inclusão em parafina (Barboza et al. 2019; Silva et al. 2019b).

Para a realização da microtomia, os blocos foram cortados em micrótomo (Minot da Leica® - RM2245, EUA) à uma espessura de 5 micrômetros. A coloração histológica de hematoxilina-eosina (Heleno et al. 2011) foi utilizada para caracterização histopatológica e histomorfométrica para todos os órgãos. Para quantificar o glicogênio hepático foi utilizado a coloração histoquímica de ácido periódico-Schiff (PAS). Para a quantificação das células caliciformes duodenais foi utilizado PAS + hematoxilina.

As variáveis histomorfológicas avaliadas para rúmen foram: espessura de epitélio (μm), espessura da camada muscular (μm), espessura da porção queratinizada do epitélio (μm), espessura da porção não queratinizada do epitélio (μm), altura de papila (μm), largura de papila (μm) e área de absorção (μm^2), a qual foi calculada pela multiplicação da altura da papila pela largura de papila. Para o intestino delgado (porção do duodeno) foram avaliadas: a espessura da mucosa (μm), a espessura da submucosa (μm) e o índice de células caliciformes.

Para as análises histomorfométricas do rúmen e intestino delgado, foram digitalizadas 4 fotomicrografias por animal, e em cada uma delas foram realizadas 7 mensurações de cada variável, totalizando um número amostral de 196 por tratamento (7 animais x 4 fotomicrografias x 7 mensurações), utilizando-se a objetiva de 4x. Para a mensuração do índice de células caliciformes duodenais foi utilizada a mesma quantidade de fotomicrografias digitalizadas para a histomorfometria, porém com a objetiva de 20x. Para cada animal foi contabilizado a quantidade de células caliciformes em 2000 μm lineares de epitélio intestinal, utilizando-se para

tanto, 4 áreas lineares de 500 µm, em fotomicrografias escolhidas ao acaso.

Para mensuração do escore de glicogênio hepático utilizou-se 6 fotomicrografias com a objetiva de 40x para cada animal, totalizando um número amostral de 42 (7 animais x 6 fotomicrografias) por tratamento. As fotomicrografias foram analisadas atribuindo um escore para o grau de depósito de glicogênio (cor magenta na coloração histoquímica de PAS) para cada uma. Neste caso, a intensidade da coloração magenta é proporcional ao depósito de glicogênio. Os escores foram definidos considerando a intensidade e quantidade da coloração magenta na coloração de PAS, sendo: 0 (ausência de positividade), 1 (pouca positividade), 2 (positividade moderada) e 3 (positividade intensa), seguindo de forma modificada a metodologia do Escore Semi Quantitativo de Ishak (Ishak et al. 1995). Todas as leituras foram realizadas pelo mesmo avaliador. Para a avaliação histopatológica dos fígados foram utilizadas as mesmas imagens digitalizadas, nas quais o avaliador procurou por septos fibrosos, necrose ou esteatose.

Para a avaliação histopatológica dos rins foram digitalizadas 6 fotomicrografias por animal, perfazendo um número amostral de 42 por tratamento (7 animais x 6 fotomicrografias), utilizando-se a objetiva de 40x. Em cada uma das fotomicrografias o observador procurou por alterações histopatológicas nos componentes do néfron (corpúsculo renal, túbulos contorcidos proximais, túbulos contorcidos distais e alça de Henle) para verificar possíveis lesões renais causadas pelos compostos bioativos da própolis vermelha ou da fração alcoólica utilizada, como congestão, hemorragia, cilindros hialinos ou necrose. A captura das fotomicrografias foi realizada com a utilização de microscópio de luz (Olympus BX53, Japão) acoplado à câmera fotográfica digital (Olympus DP73, Japão) e conectado a computador. As medidas histomorfométricas foram realizadas com auxílio do *software* computacional cellSens Dimension[®] (Olympus).

Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão, por meio do PROC REG do pacote estatístico SAS (SAS Institute, 2001). Quando significativo as equações foram demonstradas, e em ajuste de regressão quadrática derivou-se as equações estimando-se os valores de máximo ou mínimo dos níveis de EPV. Utilizou-se o seguinte modelo matemático para regressão quadrática:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + \beta_2 X_i^2 + e_i$$

Onde:

Y_i representa os valores observados da variável dependente;

β_0 , β_1 e β_2 são os parâmetros a serem estimados;

X_i representam os valores das variáveis independentes;

e_i são os erros experimentais relacionados com os valores observados Y_i que, em geral, são considerados independentes e normalmente distribuídos com média zero e variância constante.

RESULTADOS

As variáveis de consumo de matéria seca (CMS, kg.dia⁻¹) e ganho de peso total (GPT, kg) apresentaram comportamento de curva quadrática ($P < 0,05$) (Tabela 4). O GPT apresentou um aumento de 20,24% quando comparado o tratamento de 28 mL dia⁻¹ extrato de própolis vermelha (EPV) com o grupo controle (sem EPV). Foi observado que o ponto de mínima para o uso de EPV para CMS foi de 13 mL dia⁻¹ e para GPT foi de 11 mL dia⁻¹, estimados em 0,65 kg de MS dia⁻¹ e 4,81 kg, respectivamente.

Tabela 4. Médias do consumo de matéria seca (CMS) e ganho de peso total (GPT) de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV)

Variáveis	Níveis de EPV (mL dia ⁻¹)					EPM	Valor de P	
	Controle	7	14	21	28		Linear	Quadrática
CMS (kg)	0,71	0,66	0,63	0,68	0,72	0,02	0,585	0,046 ¹
GPT (kg)	5,78	5,56	4,56	6,14	6,95	0,25	0,037	0,010 ²

EPM = Erro padrão da média; ¹ $Y = 0,7091 - 0,01x + 0,0004x^2$ ($R^2 = 0,92$); ² $Y = 5,8798 - 0,148x + 0,0068x^2$ ($R^2 = 0,78$).

As variáveis referentes a histomorfometria de rúmen, foram influenciadas ($P < 0,05$) pela utilização do EPV, exceto para a espessura da camada muscular (ECM). O EPV até o nível de 28 mL dia⁻¹ da dieta resultou em efeito quadrático ($P < 0,05$) para as variáveis EE, PQ, PNQ, AP (Tabela 5) e LP (Figura 3). Com o aumento dos níveis de EPV houve efeito linear ($P < 0,05$) apenas para variável AA (Tabela 5).

Verifica-se que o uso do EPV para EE, PNQ e LP tiveram como ponto de máxima estimado nos níveis 17 (174,38 μm), 14 (153,06 μm) e 16 (429,36 μm) mL dia⁻¹ EPV, respectivamente. A utilização do EPV para PQ e AP apresentaram como ponto de mínima estimado em 9 (19,99 μm) e 12 (1374,25 μm) mL dia⁻¹ EPV, respectivamente.

Tabela 5. Médias das variáveis avaliadas na histomorfometria do epitélio ruminal de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV)

Variáveis	Níveis de EPV (mL dia ⁻¹)					EPM	Valor de P	
	Controle	7	14	21	28		Linear	Quadrática
EE (μm)	143,77	177,29	167,59	169,11	166,66	3,59	0,0015	<,0001 ¹
PQ (μm)	21,71	22,11	20,39	22,97	32,15	0,64	<,0001	<,0001 ²
PNQ (μm)	122,06	155,18	147,21	146,13	131,82	3,87	0,1324	<,0001 ³
ECM (μm)	1157,32	1141,71	1161,86	1169,62	1157,38	46,88	0,8531	0,3130
AP (μm)	1620,68	1098,59	1450,92	1641,70	1480,00	44,85	0,1802	0,0021 ⁴
AA (μm ²)	561791,43	426119,46	637767,26	698288,50	561960,93	132077,7	0,0002 ⁶	0,1996 ⁵

EPM = Erro padrão da média; EE = Espessura de epitélio; PQ = Porção queratinizada do epitélio; PNQ = Porção não queratinizada do epitélio; ECM = Espessura da camada muscular; AP = Altura de papila; LP = Largura de papila; AA = Área de absorção; ¹Y = 148,69 + 3,0155x - 0,0885x² (R² = 0,64); ²Y = 22,641 - 0,5817x + 0,0319x² (R² = 0,91); ³Y = 125,82 + 3,7402x - 0,1282x² (R² = 0,80); ⁴Y = 1485,9 - 19,088x + 0,8153x² (R² = 0,15); ⁵Y = 522684 + 3893x (R² = 0,19).

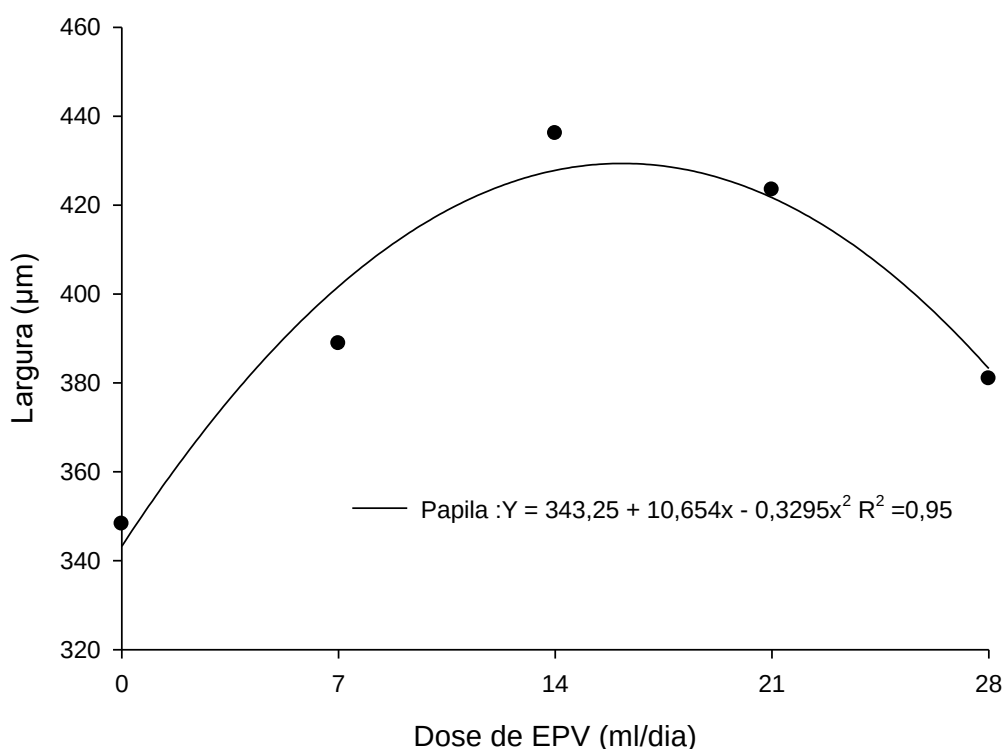


Figura 3. Largura de papila ruminal de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV)

Relativo a histomorfometria intestinal, o uso do EPV levou a um incremento quadrático ($P < 0,05$) para espessura de mucosa (EM) e espessura de submucosa (ES) (Figura 4). Constata-se que o uso do EPV para as variáveis EM e ES tiveram como ponto de máxima estimado nos níveis de 28 (545,83 μm) e 9 (1382,52 μm ,) mL dia^{-1} EPV, respectivamente.

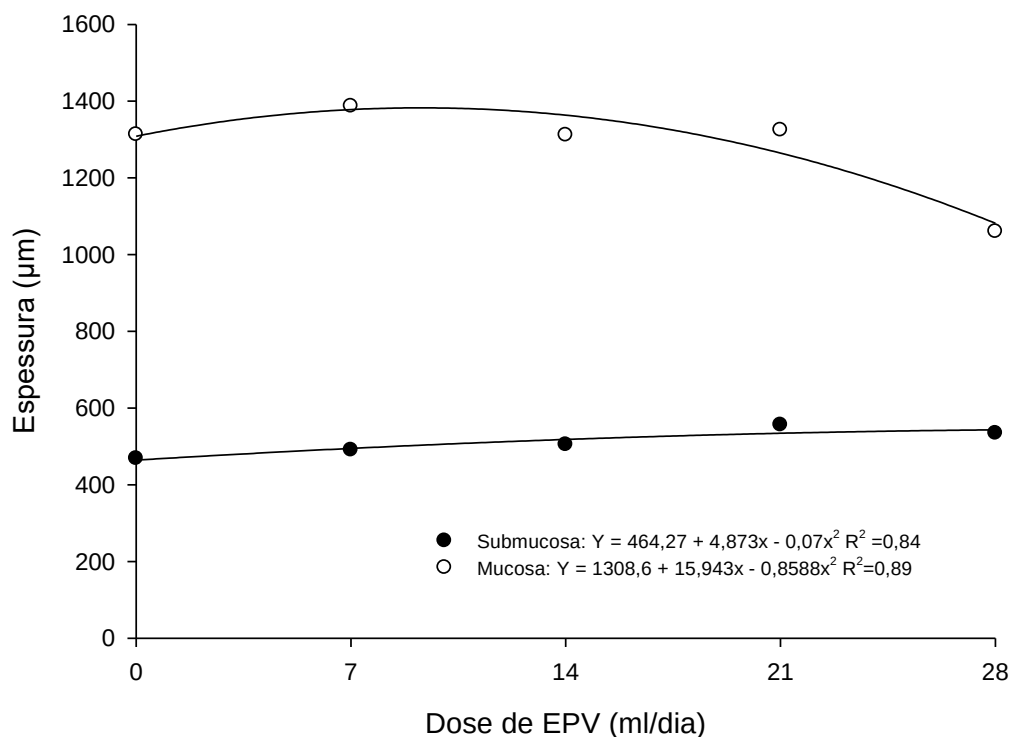


Figura 4. Espessura de mucosa e submucosa do intestino delgado de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV)

Os níveis de EPV testados não influenciaram ($P > 0,05$) o índice de glicogênio hepático (IGH) e células caliciformes duodenais (ICC) dos animais (Tabela 6).

Tabela 6. Médias dos índices de glicogênio hepático (IGH) e células caliciformes duodenais (ICC) de ovinos mestiços submetidos a níveis de extrato da própolis vermelha (EPV)

Variável	Níveis de EPV (mL dia^{-1})					EPM	Valor de P	
	Controle	7	14	21	28		Linear	Quadrática
IGH	1,47	1,47	1,40	1,64	1,62	0,08	0,0846	0,3977
ICC	23,32	25,32	23,82	25,82	25,64	0,70	0,0661	0,3364

EPM = Erro padrão da média.

Mediante as análises histopatológicas dos fígados não foram encontradas lesões (septos fibrosos, necrose ou esteatose) que pudessem indicar efeitos deletérios da própolis vermelha ou da fração alcoólica sob o parênquima hepático dos animais. O mesmo se aplica às análises histopatológicas dos rins, nas quais também não foram encontradas lesões (como congestão, hemorragia, cilindros hialinos ou necrose) que pudessem indicar efeitos deletérios da própolis vermelha ou da fração alcoólica sob o córtex renal.

DISCUSSÃO

Houve influência do EPV no consumo de matéria seca dos animais. Esse efeito quadrático constatado no CMS, em princípio pode estar relacionado a ação dos ácidos fenólicos e flavonoides presentes na própolis vermelha sobre a microbiota ruminal, para níveis acima de 13 mL dia⁻¹ EPV podem ter favorecido aumento no crescimento microbiano, promovendo elevação do CMS e absorção de nutrientes a nível de rúmen (Berchielli et al. 2011), colaborando para melhoria da fermentação ruminal e por consequência aumento no desempenho. Possivelmente o EPV atuou de forma seletiva na população de microrganismos com menor potencial de degradação.

O maior nível de EPV (28 mL dia⁻¹), proporcionou aumento de 20,24% (5,78 kg x 6,95 kg) do GPT quando comparado com o grupo controle, isso foi possível devido a um aumento das áreas absorptivas de rúmen e intestino, representadas nesse estudo respectivamente por área de absorção ruminal (AA, μm^2) e espessura de mucosa intestinal (EM, μm) quando do uso de EPV na alimentação de ovinos.

Resultados semelhantes foram obtidos por Abdlazez e Saleh (2016), os quais verificaram acréscimo no GPT com o uso do extrato de própolis em cordeiros confinados, na qual os mesmos foram submetidos à 10, 20 e 30 mL dia⁻¹ de extrato de própolis, e obtiveram ganhos de peso diário (0,183; 0,190 e 0,212 kg, respectivamente). Entretanto, Silva et al. (2019a) utilizando 15 mL de extrato de própolis marrom por kg de MS, não verificou alteração no desempenho dos cordeiros. Sendo assim, é possível afirmar que o tipo de própolis utilizada leva a diferentes resultados, mediante a diversidade de componentes ativos encontrados em cada tipo de própolis.

Os efeitos benéficos do extrato da própolis no desempenho animal, deve-se possivelmente às mudanças que ocorrem na fermentação ruminal pela seleção de bactérias

gram-positivas, com alterações na proporção molar dos AGV's e na concentração de nitrogênio amoniacal, processos chave que afetam diretamente o metabolismo energético e proteico pelo ruminante (Stradiotti Júnior et al. 2004).

Deste modo, o uso do EPV possivelmente aumentou a retenção de energia fermentada no rúmen, devido a uma maior síntese de propionato, com diminuição na produção de metano entérico e degradação da proteína ruminal, ocasionando maior escape de proteína verdadeira do rúmen para o intestino do animal (Oliveira et al. 2005). Tais eventos fisiológicos, juntamente com o aumento das áreas de absorção de rúmen e intestino resultam em um maior GPT pelos animais, como o observado com inclusão do EPV na dieta.

Sobre as variáveis morfométricas, a adição do EPV teve efeito quadrático para a espessura de epitélio, altura e largura das papilas ruminais. Tal fato pode ser explicado pela absorção de AGV's, que estimula o metabolismo epitelial do rúmen e induz o crescimento do epitélio (Baldwin et al. 2004; Wang et al. 2009), sendo o desenvolvimento da AP fortemente influenciado pelas concentrações de propionato e butirato, como demonstrado por Suárez et al. (2006), ao observarem maior desenvolvimento da mucosa do rúmen em bezerros que foram alimentados com dietas que proporcionaram maiores concentrações de propionato e butirato no rúmen. Considera-se a AP o principal parâmetro de desenvolvimento do epitélio ruminal (Wardrop 1961; Lesmeister et al. 2004).

Cerca de 50-85% dos AGV's produzidos no rúmen são absorvidos diretamente através da parede ruminal, isto é, pelo epitélio ruminal (Aschenbach et al. 2011). O epitélio tem papel fundamental na absorção ruminal dos AGV's a fim de manter a saúde e o equilíbrio energético do animal (Baaske et al. 2020).

O efeito linear encontrado para a área de absorção ruminal garantiu que os produtos da fermentação ruminal, os quais são importantes fontes de energia para os animais, fossem absorvidos e suprissem parte das exigências energéticas dos cordeiros (Lesmeister et al., 2004).

O aumento na produção dos AGV's resultantes da fermentação ruminal mediante a adição de EPV, teoricamente promoveu aumento da superfície de contato com os AGV's (aumento da AA), possibilitando desse modo maior absorção, que se reflete em maior produção (Van Soest, 1994; Costa et al. 2010; Monção et al. 2013; Barboza et al. 2019). Presumivelmente houve uma maior síntese de propionato em detrimento ao acetato e, dessa forma ocorreu melhoria no GPT dos animais.

Uma vez que o desenvolvimento da mucosa ruminal, que inclui as papilas, depende estritamente da presença dos AGV's (Oliveira et al. 2019), a maior síntese desses ácidos advindos da fermentação microbiana dos nutrientes da ração, do álcool e dos compostos fenólicos presentes no EPV devem ter contribuído para o efeito quadrático da AA. Justificando o uso do EPV como um aditivo que promove alterações morfofisiológicas, que resultam em aumento de área de absorção de AGV's no rúmen, e consequentemente em maior absorção e produção animal.

A exposição prolongada do epitélio ruminal à altas concentrações de AGV's poderiam causar alterações prejudiciais na mucosa ruminal, como hiperqueratose e paraqueratose ruminal (Heinrichs, 2005), o que reduz a capacidade de absorção de AGV's, diminuindo ainda mais o pH do rúmen (Santana Neto et al. 2014), podendo levar a acidose ruminal (Steele et al. 2009). Entretanto, esse não deve ser o motivo do aumento da EE e da PQ do rúmen encontrados no presente estudo. Tais alterações morfológicas no rúmen, devem estar vinculadas principalmente à maior quantidade de álcool e compostos fenólicos presentes no EPV, ou seja, não leva à um desequilíbrio acidótico que provocaria danos à absorção (Baaske et al. 2020).

O epitélio do rúmen, que recobre as papilas serve não apenas como estruturas de absorção dos nutrientes, mas também como barreira epitelial para impedir a invasão de microrganismos patogênicos, toxinas e/ou fatores antinutricionais dos alimentos (Baaske et al. 2020). O aumento da espessura dessas variáveis, não traz benefícios extra para o animal, mas é reflexo de alguma substância que cause abrasão mecânica (como alimentos muito abrasivos) ou toxicidade, como por exemplo, fatores antinutricionais encontrados em alguns alimentos como a palma forrageira (Lima et al. 2018; Silva et al. 2019b; Silva et al. 2019c), mamona (Dantas Junior, 2020) ou mandioca (Barboza et al. 2019), ou como nesse caso, a fração alcoólica do EPV.

A presença do álcool e dos flavonoides na composição do EPV, a microbiota ruminal têm a capacidade de converter as moléculas de álcool em ácido acético e os flavonoides degradados em AGV's através da formação de intermediários como o ácido p-hidroxifenilacético e o ácido 3,4-dihidroxifenilacético (Sharma et al. 1981). Esses componentes serão absorvidos pelo epitélio ruminal e metabolizados na forma de energia pelo animal (Berchielli et al. 2011).

Os níveis de EPV também proporcionaram efeito quadrático na porção não queratinizada do epitélio ruminal e apresentou ponto de máxima estimado no nível de 14 mL

dia⁻¹. A mesma é formada pelos estratos granulosa, espinhosa e basal, as quais são camadas metabolicamente ativas, sendo responsáveis pela absorção e metabolização dos produtos oriundos da fermentação ruminal, além de ser a região (estrato basal) responsável pela proliferação celular, ou seja, pela reposição tecidual (Silva et al. 2019c).

Logo, o efeito quadrático observado para a PNQ poderia auxiliar em uma maior absorção dos AGV's. O efeito quadrático demonstrado para a PQ, possivelmente é reflexo da diminuição da taxa de passagem nos maiores níveis de EPV, que induziu um maior fluxo da digesta sobre as papilas ruminais, aumentando o efeito abrasivo sobre elas, isso levou a uma maior taxa de turnover celular na camada externa do epitélio, fazendo com que houvesse o aumento da PQ do epitélio ruminal.

A variável ECM não sofreu alteração com a adição do EPV, provavelmente porque não houve diferença na quantidade de FDN da ração, visto que não ocasionou aumento do CMS com a inclusão do EPV, assim como a pequena alteração no consumo de FDN não foi capaz de modificar essa estrutura morfológica. A musculatura do rúmen atua na motilidade da digesta e seu desenvolvimento depende estritamente do tipo de dieta que o animal é exposto. Dietas com alta inclusão de alimentos fibrosos acelerariam o desenvolvimento (hiperplasia e hipertrofia) da musculatura ruminal (Norouzian et al. 2011), devido ao aumento da motilidade (Berchielli et al. 2011).

A adição dos níveis de EPV promoveu efeito quadrático para a espessura da mucosa intestinal, com ponto de máxima estimado no nível de 28 mL dia⁻¹ EPV, essa região concentra as vilosidades e criptas intestinais, ou seja, região de absorção de nutrientes e renovação tecidual. Esse comportamento ocorreu possivelmente devido ao aumento das vilosidades intestinais, que consequentemente resulta em maior área de contato dos nutrientes com a superfície absorptiva, levando à maior absorção e índices produtivos superiores nos animais, traduzidos pelo acréscimo do GPT.

Com o uso do EPV houve incremento da EM, que supostamente pode estar relacionado com o aumento do aporte de aminoácidos que serão integralmente digeridos e absorvidos pela mucosa intestinal. Segundo Stradiotti Júnior et al. (2004) a utilização do extrato da própolis proporciona aumento na concentração dos ácidos graxos de cadeia curta e é eficiente em inibir a atividade de desaminação de aminoácidos pela microbiota ruminal. Assim, o aumento da EM leva maior capacidade de absorção de aminoácidos oriundos do catabolismo da proteína microbiana e dietética (Souza Mendonça et al. 2006), bem como de outros nutrientes.

A maior quantidade de células caliciformes duodenais é considerada indicativo de uma boa saúde intestinal, pois a mucina produzida por elas protegem o epitélio da ação de enzimas digestivas, de infiltração de agentes patogênicos e de efeitos abrasivos da digestão (Robertis e Hib, 2001; Bueno et al. 2012). Sharma et al. (1995) demonstraram que fatores dietéticos (dieta e flora microbiana) podem afetar o número de células caliciformes, além de modular a atividade secretora das mesmas (Barcelo et al. 2000), melhorando a saúde intestinal.

O resultado encontrado no presente estudo, pode indicar que o EPV não apresenta nenhum tipo de efeito tóxico sobre o número dessas células. Sendo descrito na literatura que os ácidos fenólicos e flavonoides presentes em maior quantidade na própolis vermelha apresentam grande ação antioxidante (Frozza et al. 2013; Tiveron et al. 2016) e gastroprotetora sobre a mucosa intestinal, preservando a viabilidade normal das células (Behling et al. 2008).

O aumento dos níveis de inclusão de EPV na dieta dos animais não influenciou o armazenamento do glicogênio hepático. Esse resultado, aliado às análises histopatológicas dos fígados e rins também comprovam que o uso do EPV não ocasiona lesões hepáticas e renais, dessa maneira não prejudica ou compromete no desempenho animal.

A ausência de lesões nos fígados e rins dos animais podem ter ocorrido devido à ausência de propriedades toxicológicas da própolis vermelha, indicando que o EPV pode ser adicionado até 28 mL dia⁻¹ de EPV na dieta sem causar alterações nesses órgãos de ovinos confinados.

Vale salientar ainda, que análises histopatológicas em fígados e rins foram realizadas, não havendo nesses órgãos na qual o álcool é metabolizado, alterações características de consumo de álcool, sendo as características histológicas semelhantes às encontradas nos animais do grupo controle.

A própolis não apresenta efeitos antiproliferativos e citotóxicos sobre células normais, do mesmo modo não tem capacidade de suprimir o crescimento e a viabilidade de células renais normais, mostrando-se com enorme ação nefroprotetora (Frión-Herrera et al. 2015).

Estudos avaliando o uso do extrato etanólico da própolis indiana (Zhao et al. 2009; Bhadauria, 2012) e da própria própolis vermelha (Silva et al. 2019d), verificou-se que ambas as própolis exercem efeito hepatoprotetor em células normais. Essa ação protetora ocorre em virtude da presença do ácido gálico, kaempferol e quercetina, que são compostos bioativos encontrados em grande quantidade na composição química da própolis indiana e vermelha, o que poderia ser útil e eficaz no caso de dietas com subprodutos agropecuários que apresentam

ainda alguma concentração de fatores antinutricionais (Oliveira et al. 2012; Galo et al. 2015; Barboza et al. 2019) de metabolização hepática.

CONCLUSÃO

Recomenda-se o nível de 28 mL dia⁻¹ de EPV como aditivo natural alimentar, a fim de proporcionar maiores áreas absortivas de rúmen, intestino e aumento no ganho de peso total de ovinos confinados.

Conclui-se ainda que o EPV não causa alterações histopatológicas em fígado e rins de ovinos, mostrando ser uma alternativa viável biologicamente para substituição aos aditivos sintéticos utilizados na produção de pequenos ruminantes.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos do primeiro autor. Além disso, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba e a Universidade Federal de Alagoas – Câmpus Arapiraca, Brasil, por fornecer a infraestrutura e o pessoal necessário para este estudo.

REFERÊNCIAS

- Abdlazez, S.T., Saleh, H.H. 2016. Effect of different doses of propolis on growth performance some carcass characteristics and lipid oxidation stability of Awassi lambs. *Al-Anbar Journal of Veterinary Sciences*, 9(2), 62-71.
- Aguiar, S.C.D., Paula, E.M.D., Yoshimura, E.H., Santos, W.B.R.D., Machado, E., Valero, M.V., Zeoula, L.M. 2014. Effects of phenolic compounds in propolis on digestive and ruminal parameters in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(4), 197-206.
- Alencar, S.M.D., Oldoni, T.L.C., Castro, M.L., Cabral, I.S.R., Costa-Neto, C.M., Cury, J.A., Rosalen, P.L., Ikegaki, M. 2007. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 278-283.

- Al-Khafaji, M.W.S. 2016. Effect of Iraqi propolis on live body weight of Awassi sheep in different age stages. *Kufa Journal for Agricultural Sciences*, 8(1), 261-269.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. 2005. *Official methods of analysis*. 17th ed. AOAC, Arlington, VA.
- Araujo, C.M.D., Silva, F.G.B.D., Castro, D.P.V., Menezes, D.R., Queiroz, M.A.A., Yamamoto, S.M. 2018. Gas production and in vitro degradability of sheep diets containing propolis ethanolic extract. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 19(3), 277-286.
- Aschenbach, J.R., Penner, G.B., Stumpff, F., Gäbel, G. 2011. Ruminant nutrition symposium: role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *Journal of Animal Science*, 89(4), 1092-1107.
- Baaske, L., Gäbel, G., Dengler, F. 2020. Ruminal epithelium: a checkpoint for cattle health. *Journal of Dairy Research*, 87(3), 322-329.
- Baldwin, R.L., Mcleod, K.R., Klotz, J.L., Heitmann, R.N. 2004. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal of Dairy Science*, 87(1), 55-65.
- Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., Huertas, A.A.G., Kadota, S. 2000. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *Journal of ethnopharmacology*, 72(1-2), 239-246.
- Barboza, S.C.R., Oliveira, J.S., Carvalho, M.T., Lima Júnior, D.M., Lima, H.B.; Guerra, R.R., 2019. Ovines submitted to diets containing cassava foliage hay and spineless cactus forage: histological changes in the digestive and renal systems. *Tropical Animal Health and Production*, 51(6), 1689-1697.

- Barcelo, A., Claustre, J., Moro, J., Chayvialle, J.A., Cuber, J.C., Plaisancié, P. 2000. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut*, 46(2), 218-224.
- Behling, E.B., Sendão, M.C., Francescato, H.D.C., Antunes, L.M.G., Bianchi, M.L.P. 2008. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 15(3), 285-292.
- Berchielli, T.T., Pires, A.V., Oliveira, S.G. 2011. *Nutrição de Ruminantes*. 2. ed. Jaboticabal: Funep, 616.
- Bhadauria, M. 2012. Propolis prevents hepatorenal injury induced by chronic exposure to carbon tetrachloride. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(1), 1-12.
- Brasil, 2000. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA). Secretaria da Defesa Agropecuária (SDA). Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Divisão de Normas Técnicas. Instrução Normativa n. 3, de 17 de janeiro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue. *Lex: Diário Oficial da União* de 24 de janeiro de 2000, Seção 1,14-16. Brasília.
- Bueno, R., Albuquerque, R., Murarolli, V.D.A., Aya, L.A.H., Raposo, R.S., Bordin, R.A. 2012. Efeito da influência de probiótico sobre a morfologia intestinal de codornas japonesas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 49(2), 111-115.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2580-2595.
- Cezar, M.F., Sousa, W.D., 2007. *Carcças ovinas e caprinas: obtenção, avaliação e classificação*. Uberaba: Agropecuária Tropical, 147.

- Costa, D.A., Ferreira, G.D.G., Araújo, C.V., Colodo, J.C.N., Moreira, G.R., Figueiredo, M.R.P. 2010. Consumo e digestibilidade de dietas com níveis de torta de dendê para ovinos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, 11(3), 783-792.
- Dantas Junior, P.R. 2020. Níveis de inclusão de farelo de mamona detoxificado na ensilagem de cana de açúcar na dieta de ovinos: desempenho e parâmetros histológicos, (dissertação de mestrado não publicada, Universidade Federal da Paraíba).
- Estações Automáticas. Inmet, Instituto Nacional de Meteorologia. Disponível: <http://www.inmet.gov.br>, Acesso em: 06 de março de 2020.
- Fischer, G., Hübner, S.O., Vargas, G.D., Vidor, T. 2008. Imunomodulação pela própolis. *Arquivos do Instituto Biológico*, 75(2), 247-53.
- Fríón-Herrera, Y., Díaz-García, A., Ruiz-Fuentes, J., Rodríguez-Sánchez, H., Sforcin, J.M. 2015. Brazilian green propolis induced apoptosis in human lung cancer A549 cells through mitochondrial-mediated pathway. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 67(10), 1448-1456.
- Frozza, C.D.S., Garcia, C.S.C., Gambato, G., Souza, M.D., Salvador, M., Moura, S., Padilha, F.F., Seixas, F.K., Collares, T., Borsuk, S., Dellagostin, D.A., Henriques, J.A.P., Roesch-Ely, M. 2013. Chemical characterization, antioxidant and cytotoxic activities of Brazilian red propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 52(1), 137-142.
- Galo, A., Giuberti, G., Frisvad, J.C., Bertuzzi, T., Nielsen, K.F. 2015. Review on mycotoxin issues in ruminants: occurrence in forages, effects of mycotoxin ingestion on health status and animal performance and practical strategies to counteract their negative effects. *Toxins*, 7(8), 3057-3111.
- Heirinchs, J. 2005. Rumen development in the dairy calf, *Advances in Dairy Technology*, 17, 179–187.

- Heleno, A.R., Santos, L.M., Miglino, M.A., Peres, J.A., Guerra, R.R., 2011. Biometry, histology, and morphometry of the digestive system of wild crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). *Biotemas*, 24(4), 111-119.
- Ishak, K., Baptista, A., Bianchi, L., Callea, F., Groote, J., Gudat, F., Denk, H., Desmet, V., Korb, G., Macsween, R.N.M., Phillips, M.J., Portmann, B.G., Poulsen, H., Scheuer, P.J., Schmid, M., Thaler, H. 1995. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology*, 22(6), 696-699.
- Ítavo, C.C.B.F., Morais, M.G., Costa, C., Ítavo, L.C.V., Franco, G.L., Da Silva, J.A., Reis, F.A. 2011. Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs in feedlot. *Animal Feed Science and Technology*, 165(3-4), 161-166.
- Jain, S., Marchioro, G., Mendonça, L., Batista, M., Araujo, E. 2014. Botanical origin of the brazilian red propolis: a new approach using DNA analysis. *Journal of Apicultural Science*, 58(2), 79-85.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J. 2013. *Histologia básica*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 558.
- Kamiya, T., Nishihara, H., Hara, H., Adachi, T. 2012. Ethanol extract of Brazilian red propolis induces apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells through endoplasmic reticulum stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(44), 11065-11070.
- Karikari, A.B., Obiri-Danso, K., Frimpong, E.H., Krogfelt, K.A., 2017. Antibiotic resistance of *Campylobacter* recovered from faeces and carcasses of healthy livestock. *BioMed Research International*, 2017(1), 1-9.
- Lesmeister, K.E., Tozer, P.R., Heinrichs, A.J. 2004. Development and analysis of a rumen tissue sampling procedure. *Journal of Dairy Science*, 87(5), 1336-1344.

- Lima, T.J., Costa, R.G., Medeiros, G.R., Medeiros, A. N., Ribeiro, N. L., Oliveira, J.S., Guerra, R.R., Carvalho, F.F.R. 2018. Ruminal and morphometric parameters of the rumen and intestines of sheep fed with increasing levels of spineless cactus (*Nopalea cochenillifera* Salm-Dyck). *Tropical Animal Health and Production*, 51(2), 363-368.
- Marcucci, M.C., Woisky, R.G., Salatino, A. 1998. Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis. *Mensagem Doce*, 46(3), 234-239.
- Martin, C., Morgavi, D., Doreau, M. 2010. Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale. *Animal*, 4(3), 351-365.
- Mertens, D.R. 1997. Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1463-1481.
- Monção, F.P., Oliveira, E.R., Moura, L.V., Góes, R.H.T.B. 2013. Development of microbiota ruminal calf - literature review. *Unimontes Científica*, 15(1), 76-89.
- Morgavi, D.P., Forano, E., Martin, C., Newbold, C.J. 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7), 1024-1036.
- Morsy, A.S., Abdalla, A.L., Soltan, Y.A., Sallam, S.M., El-Azrak, K.E.D.M., Louvandini, H., Alencar, S.M. 2013. Effect of Brazilian red propolis administration on hematological, biochemical variables and parasitic response of Santa Inês ewes during and after flushing period. *Tropical Animal Health and Production*, 45(7), 1609-1618.
- Morsy, A.S., Soltan, Y.A., Sallam, S.M., Alencar, S.M., Abdalla, A.L. 2016. Impact of Brazilian red propolis extract on blood metabolites, milk production, and lamb performance of Santa Inês ewes. *Tropical Animal Health and Production*, 48(5), 1043-1050.
- Morsy, A.S., Soltan, Y.A., Sallam, S.M.A., Kreuzer, M., Alencar, S.M.D., Abdalla, A.L. 2015. Comparison of the in vitro efficiency of supplementary bee propolis extracts of different

origin in enhancing the ruminal degradability of organic matter and mitigating the formation of methane. *Animal Feed Science and Technology*, 199, 51-60.

National Research Council (NRC), 2007. Nutrient requirements of small ruminants, National Academy Press: Washington DC, 292.

Neiva, G.S.M., Mota, D.L., Batista, A.M.V., Sousa-Rodrigues, C.F. 2006. Mucous membrane of the rumen of ovines, fed with spineless, forrage cactus or palm (Barbary fig) (*Opuntia ficus indica* Mil): Hystochemical study by means of light microscopy. *International Journal of Morphology*, 24(4), 723-728.

Norouzian, M.A., Valizadeh, R., Vahmani, P. 2011. Rumen development and growth of Balouchi lambs offered alfalfa hay pre-and post-weaning. *Tropical Animal Health and Production*, 43(6), 1169-1174.

Oeztuerk, H., Sagmanligil, V. 2009. Role of live yeasts in rumen ecosystem. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, 116(7), 244-248.

Oldoni, T.L.C., Cabral, I.S.R., D'arce, M.A.B.R., Rosalen, P.L., Ikegaki, M., Nascimento, A.M., Alencar, S.M. 2011. Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. *Separation and Purification Technology*, 77(2), 208-213.

Oliveira, J.S., Zanine, A.M., Santos, E.S. 2005. Uso de aditivos na nutrição de ruminantes. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 6(11), 1-23.

Oliveira, O.A.M., Amaral, A.G., Pereira, K.A., Campos, J.C.D., Taveira, R.Z. 2019. Utilização de aditivos modificadores da fermentação ruminal em bovinos de corte. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*, 12(1), 287-311.

- Oliveira, R.L., Leão, A.G., Ribeiro, O.L., Borja, M.S., Pinheiro, A.A., Oliveira, R.L., Santana, M.C.A. 2012. Biodiesel industry by-products used for ruminant feed. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(4), 625-638.
- Park, Y.R., Alencar, S.M., Aguiar, C.L., 2002. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2502-2506.
- Pontes, M.L.C., Vasconcelos, I.R.A., Diniz, M.F.F.M., Pessôa, H.L.F. 2018. Chemical characterization and pharmacological action of Brazilian red propolis. *Acta Brasiliensis*, 2(1), 34-39.
- Prado, O.P.P., Zeoula, L.M., Moura, L.P.P., Franco, S.L., Prado, I.N., Jacobi, G. 2010. Efeito da adição de própolis e monensina sódica na digestibilidade e características ruminais em bubalinos alimentados com dieta à base de forragem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(9), 2055-2065.
- Robertis, E.M.F., Hib, J. 2001. Bases da biologia celular e molecular. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 408p.
- Sabino, Y.N.V., Santana, M.F., Oyama, L.F., Santos, F.G., Moreira, A.J.S., Huws, S.A., Mantovani, H.C., 2019. Characterization of antibiotic resistance genes in the species of the rumen microbiota. *Nature communications*, 10(1), 1-11.
- Santana Neto, J.A., Oliveira, V.S., Santos, A.C.P., Valença, R.L. 2014. Distúrbios metabólicos em ruminantes—Uma Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 8(4), 157-186.
- SAS (Statistical Analysis Systems Institute Inc.), 2001. User's Guide, Version 9.2. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

- Sharma, C.P., Kaushal, G.P., Sareen, V.K., Singh, S., Bhatia, I.S. 1981. The in vitro metabolism of flavonoids by whole rumen contents and its fractions. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, 28(1), 27-34.
- Sharma, R., Schumacher, U., Ronaasen, V., Coates, M. 1995. Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets. *Gut*, 36(2), 209-214.
- Shedeed, H.A., Farrag, B., Elwakeel, E.A., Ab El-Hamid, I.S., El-Rayes, M.A.H. 2019. Propolis supplementation improved productivity, oxidative status, and immune response of Barki ewes and lambs. *Veterinary World*, 12(6), 834-843.
- Silva, B.B., Rosalen, P.L., Cury, J.A., Ikegaki, M., Souza, V.C., Esteves, A., Alencar, S.M. 2008. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5(3), 313-316.
- Silva, F.G.B.D., Yamamoto, S.M., Silva, E.M.S.D., Queiroz, M.A.A., Gordiano, L.A., Formiga, M.A. 2015. Propolis extract and sodium monensin on ruminal fermentation and hematological parameters in sheep. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 37(3), 273-280.
- Silva, J.A., Ítavo, C.C.B.F., Ítavo, L.C.V., Graça Morais, M., Silva, P.C.G., Ferelli, K.L.S.M., Souza Arco, T.F.F. 2019a. Dietary addition of crude form or ethanol extract of brown propolis as nutritional additive on behaviour, productive performance and carcass traits of lambs in feedlot. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 28(1), 31-40.
- Silva, J.A., Ítavo, C.C.B.F., Ítavo, L.C.V., Morais, M.G., Franco, G.L., Zeoula, L.M., Heimbach, N.S. 2014. Effects of dietary brown propolis on nutrient intake and digestibility in feedlot lambs. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(7), 376-381.
- Silva, J.B., Paiva, K.A.R., Costa, K.M.F.M., Viana, G.A., Araújo Júnior, H.N., Bezerra, L.S., Freitas, C.I.A., Batista, J.S. 2019d. Hepatoprotective and antineoplastic potencial of red propolis produced by the bees *Apis mellifera* in the semiarid of Rio Grande do Norte, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 39(9), 744-756.

- Silva, K.B.; Oliveira, J.S.; Santos, E.M.; Cartaxo, F.Q.; Guerra, R.R.; Souza, A.F.N.; Muniz, A.C.S.; Cruz, G.F.L., 2019b. Ruminal and histological characteristics and nitrogen balance in lamb fed diets containing cactus as the only roughage. *Tropical Animal Health and Production*, 52(2), 637-645.
- Silva, T.G.P., Batista, A.M.V., Guim, A., Silva Junior, V.A., Carvalho, F.F.R., Barros, M.E.G., Sousa, D.R., Silva, S.M.C. 2019c. Histomorphometric changes of the fore-stomach of lambs fed with diets containing spineless cactus genotypes resistant to *Dactylopius* sp. *Tropical Animal Health and Production*, 52(3), 1299-1307.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G., Russel, J.B. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70(11), 3562-3577.
- Soltan, Y.A., Morsy A.S., Sallam S.M.A., Hashem N.M. Abdalla A.L. 2015. Propolis as natural feed additive in ruminants diets: Can propolis affect the ruminants performance? (Review article). 2nd International Conference on the Modern Approaches in Livestock's Production Systems, Alexandria, Egypt. 12–14 October, 65–76.
- Souza Mendonça, S., Pereira, M.L.A., Assis, A.J., Aguiar, L.V., Carvalho, G.G.P. 2006. Estimação da produção de proteína microbiana em ruminantes baseada nas excreções de derivados de purinas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 101(559-560), 181-186.
- Steele, M.A., AlZahal, O., Hook, S.E., Croom, J., McBride, B.W. 2009. Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow: a case report. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1), 1-6.

- Stradiotti Júnior, D., Queiroz, A.C.D., Lana, R.D.P., Pacheco, C.G., Eifert, E. D. C., Nunes, P.M.M., 2004. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 33(4), 1086-1092.
- Suárez, B.J., Van Reenen, C.G., Gerrits, W.J.J., Stockhofe, N., Van Vuuren, A.M., Dijkstra, J. 2006. Effects of supplementing concentrates differing in carbohydrate composition in veal calf diets: II. Rumen development. *Journal of Dairy Science*, 89(11), 4376-4386
- Tiveron, A.P., Rosalen, P.L., Ranchin, M., Lacerda, R.C.C., Bueno-Silva, B., Benso, B., Denny, C., Ikegari, M., Alencar, S.M. 2016. Chemical Characterization and Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Inflammatory Activities of South Brazilian Organic Propolis. *PLoS One*, 11(11), 1-18.
- Valero, M.V., Zawadzki, F., Françaço, M.C., Farias, M. S., Rotta, P.P., Prado, I.N., Zeoula, L.M. 2011. Sodium monensin or propolis extract in the diet of crossbred ($\frac{1}{2}$ Red Angus vs. $\frac{1}{2}$ Nellore) bulls finished in feedlot: chemical composition and fatty acid profile of the Longissimus muscle. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(4), 1617-1626.
- Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. 2. ed. Ithaca: Cornell University Press.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B.; Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597.
- Wang, Y.H., Xu, M., Wang, F.N., Yu, Z.P., Yao, J.H., Zan, L.S., Yang, F.X. 2009. Effect of dietary starch on rumen and small intestine morphology and digesta pH in goats. *Livestock Science*, 122(1), 48-52.
- Wardrop, I.D. 1961. Some preliminary observations on the histological development of the fore-stomachs of the lamb I. Histological changes due to age in the period from 46 days of foetal life to 77 days of post-natal life. *Journal of Agricultural Science*, 57(3), 335-341.

- Zawadzki, F., Prado, I.N., Marques, J.A., Zeoula, L.M., Rotta, P.P., Sestari, B.B., Valero, M.V., Rivaroli, D.C. 2011. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 20(1), 16-25.
- Zhao, J.Q., Wen, Y.F., Bhadauria, M., Nirala, S.K., Sharma, A., Shrivastava, S., Shukla, S., Agrawal, O.P., Mathur, R. 2009. Protective effects of propolis on inorganic mercury induced oxidative stress in mice. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47(4), 264–269.