

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ADITIVOS À BASE DE PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DE
BOVINOS: ESTUDOS *IN VITRO* E *IN VIVO*

Autor: Emerson Henri Yoshimura
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lúcia Maria Zeoula
Coorientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal.

Maringá
Estado do Paraná
Março - 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ADITIVOS À BASE DE PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO DE
BOVINOS: ESTUDOS *IN VITRO* E *IN VIVO*

Autor: Emerson Henri Yoshimura
Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lúcia Maria Zeoula
Coorientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal.

MARINGÁ
Estado do Paraná
Março - 2012

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

Y65a Yoshimura, Emerson Henri
Aditivos à base de própolis na alimentação de
bovinos : estudos *in vitro* e *in vivo* / Emerson Henri
Yoshimura. -- Maringá, 2012.
xiv, 46 f. : il., figs., tabs.

Orientador: Prof.a Dr.a Lúcia Maria Zeoula.
Co-orientador: Prof. Dr. Ulysses Cecato.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento
de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, 2012.

1. Bovinos de corte - Nutrição. 2. Própolis -
Bovinos de corte. 3. Bovinos de corte - Aditivos. 4.
Própolis e antimicrobiano. 5. Parâmetros ruminais.
I. Zeoula, Lúcia Maria, orient. II. Cecato, Ulysses,
co-orient. III. Universidade Estadual de Maringá.
Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-
Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 22.ed. 636.208557

SOI-000541



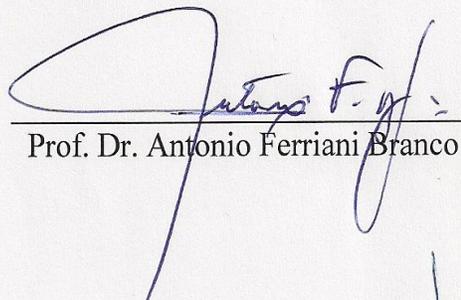
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

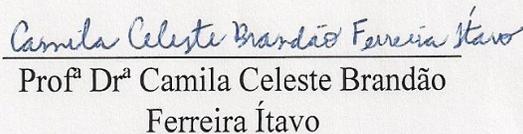
**ADITIVOS A BASE DE PRÓPOLIS NA ALIMENTAÇÃO
DE BOVINOS: ESTUDO *IN VITRO* E *IN VIVO***

Autor: Emerson Henri Yoshimura
Orientadora: Prof^a Dr^a Lúcia Maria Zeoula

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 30 de abril de 2012.


Prof. Dr. Antonio Ferriani Branco


Prof^a Dr^a Camila Celeste Brandão
Ferreira Ítavo


Prof^a Dr^a Lúcia Maria Zeoula
(Orientadora)

A
DEUS,
Pela oportunidade da vida.

Aos meus pais,
Carlos e Márcia,
Responsáveis pela minha educação,
exemplos de dedicação e esforço!

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção e força concebidas durante todas as minhas conquistas até hoje e que me acompanharão em todas as realizações da minha vida;

À minha família, por todo apoio;

À Universidade Estadual de Maringá e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade de realização do curso;

À orientadora, Professora Dra. Lúcia Maria Zeoula, por me acolher em seu grupo de pesquisa, pela orientação, pelo incentivo, pelas sugestões, pela disposição e muita paciência, durante a realização deste trabalho;

Às professoras, Selma Lucy Franco e Lucimar Peres de Moura Pontara, pela parceria e contribuição no trabalho;

Aos professores Ulysses Cecato, Luiz Paulo Rigolon, Elias Nunes Martins, Sandra Galbeiro e Luiz Juliano Geron, pelos ensinamentos e toda a contribuição oferecida neste trabalho;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UEM, pelos ensinamentos e contribuição na minha formação;

Ao professor, Dr. Paulo Emílio Fernandes Prohmann, pelo apoio, pela confiança depositada, pela orientação, por ter disponibilizado o local para realização do trabalho a campo;

Ao Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, por conceder sua estrutura, área, animais e funcionários da sua Fazenda Escola, essenciais para realização do trabalho a campo;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo, fundamental para a realização deste estudo;

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, José Carlos da Silva e Ezupério Salim da Silva, pela enorme colaboração na execução deste trabalho;

Aos funcionários do CESUMAR, Natalício Piola, Ana Paula Piola, Edileuza Silva, Cícero Silva, Manoel Lima, pela enorme contribuição na execução do trabalho a campo;

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Densilon dos Santos Vicentin e Rose Mary Pepinelli;

Aos técnicos Hermôgenes Augusto de Carmargo Neto, Cleuza Volpato, Creuza Azevedo e Roberto Carlos, pela grande ajuda na condução das análises laboratoriais;

Aos amigos e companheiros de trabalho, Fábio José Maia, Eduardo Marostegan de Paula e Rafael Barreiros Samensari, profissionais exemplares, dedicados e competentes, pela ajuda em todas as fases deste trabalho;

Aos amigos do grupo de trabalho, Nadine Woruby Santos, Sílvia Aguiar, Érica Machado, Fabiano Simioni, Flávia Daniel, Bruno Monteiro, Lucélia Pereira, Matheus Teixeira, Paulo Roberto, Vinícius Okamura, Humberto Lipori, Pedro Braga, Nathalia Nissimura, Jéssica Esperandio, pela grande ajuda na realização deste trabalho;

Aos amigos e alunos do CESUMAR, Aline Bravo, Lisiane Zaniboni e Erni Bublitz, pela enorme ajuda na condução do experimento a campo;

Aos amigos da Pós Graduação, Julio Barreto, Paulo Levi, Silvana Teixeira, Alexandre Krutzmann, Tamara Três, Daiane Grieser, Fernanda Amarante, Igor Quirrenbach, Bruno Shigueo;

Aos amigos, Bruno Valenciano, Nelson Tsukuda, João Marujo, Fabrício Sartori Bruna Zanette, Daniela Cristina, amigos desde a graduação;

À companheira, Welen Bastos, por todo apoio e incentivo na etapa final deste trabalho;

Aos grandes amigos, Fernando Brant, Diogo Andrade, Alysson Marques, Bárbara Bárbara, Nidyanara Castanheira, Kawana Uehara e Dafne Uehara, presentes em todos os momentos.

BIOGRAFIA

EMERSON HENRI YOSHIMURA, filho de Carlos Hiroshi Yoshimura e Márcia Satomi Takada Yoshimura, nasceu na cidade e Estado de São Paulo, no dia 8 de outubro de 1986.

Em julho de 2009, concluiu o curso de Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Norte do Paraná, no *Campus* Luiz Meneghel na cidade de Bandeirantes-PR.

Em março de 2010, iniciou os estudos no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de nutrição de ruminantes.

Em 30 de março de 2012, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
I - INTRODUÇÃO GERAL	1
LITERATURA CITADA	8
II - OBJETIVOS GERAIS	11
III - Aditivos à base de própolis na digestibilidade <i>in vitro</i> de rações com 30 e 60% de concentrado	12
Resumo	12
Introdução	13
Material e Métodos	14
Resultados e Discussão	19
Conclusões	25
Literatura Citada	25
IV– Aditivos à Base de Própolis no Desempenho de Novilhas da raça Nelore em Pastejo	28
Resumo	28

Introdução	29
Material e Métodos	30
Resultados e Discussão	35
Conclusões	44
Literatura Citada.....	44

LISTA DE TABELAS

Páginas

III – Aditivos à base de própolis na digestibilidade *in vitro* de rações com 30 e 60% de concentrado

TABELA 1. Concentração média de flavonoides totais quantificados em apigenina e ácidos fenólicos em ácido p-cumárico (mg/g) nos extratos secos de própolis	15
TABELA 2. Composição química dos alimentos (g/kg de MS).....	16
TABELA 3. Composição percentual e química das rações experimentais (g/kg de MS)	17
TABELA 4. Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%), concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL), proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, propionato e butirato no líquido ruminal (mol/100 mol), razão acetato:propionato (A:P) e concentração total de AGCC (mM) proveniente da fermentação de ração com razão volumoso:concentrado 70:30 com aditivos à base de própolis e monensina sódica.....	22
TABELA 5. Digestibilidade <i>in vitro</i> da matéria seca (%), concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL), proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, propionato e butirato no líquido ruminal (mol/100 mol), razão acetato:propionato (A:P) e concentração total de AGCC (mM) proveniente da fermentação de ração com razão volumoso:concentrado 40:60 com aditivos à base de própolis e monensina sódica.....	24

**IV – Aditivos à Base de Própolis no Desempenho de Novilhas da raça
Nelore em Pastejo**

TABELA 1. Composição química do solo referente à área experimental	31
TABELA 2. Composição percentual dos suplementos experimentais.....	32
TABELA 3. Massa de forragem (MF), acúmulo de massa de forragem (AF), taxa de acúmulo diário (TAD), oferta de forragem (OF) e taxa de lotação (TL) entre tratamentos nos períodos experimentais	37
TABELA 4. Massa de forragem da planta inteira (PI), lâmina foliar verde (LF), bainha + colmo verde (BCV), material morto (MM) e a relação lâmina foliar/bainha + colmo verde (LF/BCV), entre tratamentos nos períodos experimentais.....	39
TABELA 5. Composição bromatológica dos componentes estruturais de Tifton 85 nos períodos experimentais	40
TABELA 6. Composição bromatológica (g/kg MS) e fracionamento de carboidratos (g/kg CT) nas amostras obtidas pelo pastejo simulado de Tifton 85 nos períodos experimentais.....	41
TABELA 7. Desempenho de novilhas em pastagem de Tifton 85 suplementadas com aditivos à base de própolis ou monensina sódica	42

LISTA DE FIGURAS

Páginas

**IV– Aditivos à Base de Própolis no Desempenho de Novilhas da raça
Nelore em Pastejo**

- FIGURA 1. Proporção dos componentes estruturais (% MS) entre os tratamentos nos períodos experimentais: lâmina foliar (LF); bainha + colmo verde (BCV) e material morto (MM). 38

RESUMO

Objetivou-se avaliar doze produtos à base de própolis e a monensina sódica acrescidos a rações com razão volumoso:concentrado, 70:30 e 40:60 com base em parâmetro de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), concentração de N-amoniaco (N-NH₃) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC). Os produtos a base de própolis foram preparados em quatro concentrações de própolis e três extrações alcoólicas, diferindo nas concentrações de compostos fenólicos. Posteriormente, avaliou-se um dos produtos à base de própolis LLOS C1++ (três vezes a dose inicial) e a monensina sódica sobre o desempenho de novilhas Nelore em pastejo de Tifton 85, no período de janeiro a março de 2011. O ensaio de DIVMS foi conduzido de acordo com a técnica de um estágio por um período de 24 horas de fermentação ruminal. O delineamento foi inteiramente casualizado e os dados analisados por meio de contrastes ortogonais. Na ração 70:30, a extração dos produtos à base de própolis com teor alcoólico 2 apresentou melhor DIVMS, e as concentrações C (45,3%) e D (45,6%) foram superiores às concentrações A (41,9%) e B (42,7%). A concentração de própolis A apresentou menor concentração de N-NH₃, e as concentrações C e D reduziram a proporção de acetato, razão A:P e aumentaram a proporção de propionato. Na ração 40:60, o teor alcoólico 1 (139,3 mM) apresentou maior produção total de AGCC, comparado ao álcool 2 (119,8 mM) e álcool 3 (108,7 mM), porém não houve efeito entre os teores alcoólicos e entre as concentrações de própolis para a DIVMS, N-NH₃, acetato, propionato, butirato e razão A:P. Na segunda etapa, foram utilizados três piquetes de 2,9 hectares, sendo adotado o método de pastejo sob lotação contínua com carga variável. Foram utilizadas 54 novilhas Nelore, peso inicial médio de 304,6 ± 13,5 kg e distribuídas num delineamento experimental inteiramente casualizado. Os animais foram submetidos aos seguintes tratamentos: controle (sem aditivo); própolis

(LLOSC1++) 33,24 mg/animal de flavonoides totais em apigenina; e monensina sódica 100 mg/animal. Os aditivos e o suplemento mineral (50 g/animal) foram veiculados juntamente com 200 g de milho moído, sendo fornecidos diariamente às 17 horas. O uso dos aditivos à base de própolis proporcionou maior ganho médio diário, em relação ao controle no primeiro (0,812 vs 0,562kg/dia) e segundo (0,569 vs 0,477 kg/dia) período e não diferiu da monensina.

Palavras-chave: aditivo, desempenho, flavonoides, ionóforo, parâmetros ruminais

ABSTRACT

This study was carried out with the objective of evaluating twelve products based on propolis and sodium monensin added to rations with roughage ratio: concentrate 70:30 and 40:60 based on parameters of in vitro dry matter digestibility (IVDMD), ammonia-N concentration (N-NH₃) and short chain fatty acids (SCFA). The products based on propolis were prepared at four concentrations of propolis and three ethanol extractions, differing on phenolic compounds concentrations. In a second step, the products based on propolis LLOSC1++ (three time the initial dose) and sodium monensin were evaluated on performance of Nelore heifers on Tifton 85 grazing, in the period from January to March 2011. The IVDMD assay was conducted according to the technique of one stage during 24 hours of ruminal fermentation. The design was completely randomized and the data were analyzed by means of orthogonal contrasts. In the 70:30 diet, the extraction of propolis-based products containing ethanol content 2 showed better IVDMD, and the concentrations C (45.3%) and D (45.6%) were higher than the concentrations A (41.9%) and B (42.7%). The propolis concentration A showed the lowest concentration of N-NH₃, and C and D concentrations reduced the proportion of acetate, A:P ratio and increased propionate proportion. In the 40:60 diet, the ethanol content 1 (139.3 mM) had a higher total SCFA production compared to ethanol 2 (119.8 mM) and ethanol 3 (108.7 mM), but there was no effect between the alcoholic contents and between the propolis concentrations for IVDMD, N-NH₃, acetate, propionate, butyrate and the A:P ratio. In a second step, three paddocks of 2.9 acres each were used and the grazing under continuous stocking with variable load method was adopted. 54 Nelore heifers were used with initial average weight of 304.6 ± 13.5 kg and distributed in a completely randomized design. The animals were subjected to the following

treatments: control (no additive); propolis (LLOSC1++) 33,24 mg/animal of total flavonoids in apigenin, and 100 mg/animal of sodium monensin. The additives and mineral supplement (50 g/animal) were served with 200g of ground corn supplied daily at 17 hours. The use of additives based on propolis showed higher average daily gain compared to control in the first (0.812 *vs* 0.562 kg/day) and second (0.569 *vs* 0.477 kg/day) period and did not differ from monensin.

Key Words: additive, flavonoids, ionophore, performance, ruminal parameters

I – INTRODUÇÃO

Os aditivos alimentares são qualquer substância adicionada intencionalmente à ração animal, que normalmente não se consome como tal, nem se usa normalmente como ingrediente característico, tenha ou não valor nutritivo, com objetivo de influir positivamente na melhoria do desempenho dos animais.

Os ionóforos são antibióticos usados como aditivos alimentares, dentre eles a monensina, lasalocida, salinomocina e laidomicina propionato são aprovados para uso em dietas de ruminantes (Nagajara et al., 1997). A maior eficiência de produção em bovinos em crescimento e terminação pelo uso dos ionóforos ocorre pela melhora na eficiência do metabolismo energético e protéico no rúmen e evita desordens alimentares, especialmente acidose láctica e timpanismo (Bergan & Bates, 1984).

A monensina sódica, aditivo ionóforo mais utilizado, é constituída por moléculas de baixo peso, que ligam íons de minerais (K^+) e direcionam seus movimentos através das membranas celulares que reduzem o crescimento de bactérias Gram-positivas (que não possuem membrana externa protetora) e são as principais produtoras de acetato, afetando a passagem de nutrientes através da membrana dos microrganismos ruminais. Isto que modifica a fermentação ruminal pela alteração das proporções dos ácidos graxos de cadeia curta, reduzindo a razão acetato:propionato (Lana et al., 2002).

A produção de acetato pelas bactérias celulolíticas gera quantidades significativas de H_2 que, juntamente com o CO_2 são utilizados por bactéria metanogênicas para a formação de metano (CH_4). Devido a isso, é interessante a diminuição da produção de acetato e aumento de propionato, com redução da razão acetato:propionato no rúmen. A formação de metano é indesejável do ponto de vista

nutricional, pois diminui a energia metabólica que poderia ser utilizada pelo animal, e também do ponto de vista ambiental, pois este é eliminado para o meio ambiente.

Em estudos *in vivo*, o uso de ionóforo pode melhorar a digestibilidade da fibra pela influência negativa sobre o consumo de alimentos, já que este reduz a ingestão, e, por consequência, afeta a taxa de passagem do material sólido do rúmen para os outros compartimentos gástricos. Desse modo, a partícula fibrosa permanece um maior tempo no ambiente ruminal, prolongando-se assim o tempo de fermentação (Schelling, 1984). Outra contribuição indireta do ionóforo sobre a digestibilidade da fibra é que esse diminui a concentração de lactato no rúmen, limitando assim, a queda do pH, propiciando melhores condições para o desenvolvimento de bactérias celulolíticas (Russel & Strobel, 1988).

Segundo revisão de Spears (1990) sobre os efeitos da administração de ionóforos na digestão e absorção de nutrientes, observa-se que a adição de monensina gera um aumento médio de 2,0% na digestibilidade aparente de energia. Há relatos que a digestibilidade da fibra em bovinos, alimentados com alto teor de concentrado foi aumentada (Horton et al., 1980; Wedegaertner & Johnson, 1983).

No desempenho de animais confinados, segundo Goodrich et al. (1984), os resultados de 228 ensaios indicaram que o aumento na eficiência alimentar é de 6,4%. Em vacas leiteiras, diminui os impactos do balanço energético negativo e aumenta a eficiência na produção de leite (Mcguffey et al., 2001).

Nos sistemas de produção a pasto, a monensina promove aumento do ganho de peso diário e aumenta a eficiência alimentar (Nagajara et al., 1997). Os resultados positivos com utilização da monensina datam a mais três décadas, nos estudos de Potter et al. (1976) que, ao trabalharem com bovinos de corte alimentados com forragens, encontraram aumento de 17% no ganho de peso e de 20% na eficiência alimentar com suplementação diária de 200 mg de monensina. Segundo revisão de Goodrich et al. (1984), animais em pastagens e suplementados com monensina ganharam 13,5% mais peso que animais controle, que não receberam monensina.

Outros autores observaram que bovinos suplementados com monensina e lasalocida em pastagem não apresentaram efeito positivo no ganho de peso, porém houve melhor eficiência de utilização da pastagem com aumento da carga animal (Lana & Russel, 2001). Efeito indireto da melhora da conversão alimentar.

Entretanto, a utilização dos ionóforos como aditivos alimentares tem encontrado restrições, principalmente pela União Européia, que através do REGULAMENTO n°

1831/2003, em vigor desde janeiro de 2006, proíbe a utilização de antibióticos coccidiostáticos como aditivos alimentares. Este princípio baseia-se numa “postura preventiva” contra uma possível relação entre a resistência aos antibióticos de microrganismos patogênicos aos humanos, com o uso de ionóforos em dietas, além da possível ocorrência de resíduos nos produtos de origem animal, mesmo na ausência de comprovação científica para estas suposições.

A OMS (Organização Mundial da Saúde) também considera o uso de antibióticos na produção animal um risco crescente para a saúde humana. Perante tais restrições, tem crescido o interesse pela utilização de outros aditivos, surgindo então oportunidades para pesquisa de aditivos que ofereçam resultados semelhantes aos dos ionóforos, entretanto sem riscos à saúde humana.

A própolis tem sido objeto de muitos estudos, devido às diversas propriedades biológicas: antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antioxidante, imunomodulatória, antiinflamatória e hepatoprotetora, entre outras (Banskota et al., 2001). Na área zootécnica, são recentes as pesquisas sobre a aplicabilidade de produtos à base de própolis na alimentação de ruminantes, portanto, necessita-se de mais pesquisas para esclarecer os mecanismos de atuação no ambiente ruminal e sobre desempenho animal.

A própolis é coletada por abelhas a partir de diversas partes das plantas como brotos, botões florais, casca e exsudatos resinosos. Durante a coleta, as abelhas misturam a cera e a própolis coletada juntamente com a enzima 13 – glicosidase presente em sua saliva, acarretando a hidrólise dos flavonóides glicosilados, até suas respectivas agliconas (Park et al., 1997). Entre os compostos encontrados na própolis, estão as ceras, resinas, bálsamos, óleos essenciais, aminoácidos, açúcares, e há prevalência de flavonóides e derivados do ácido cinâmico. A própolis é rica em elementos inorgânicos, como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês, e alguns deles estão envolvidos em sistemas enzimáticos fundamentais, os quais podem ser associados às atividades biológicas (Sheller et al., 1989).

A atividade biológica da própolis está associada principalmente a compostos fenólicos como os flavonóides e derivados do ácido hidroxicinâmico. Os flavonóides são grupos de compostos de polifenólicos aromáticos conjugados, que divergem em estrutura e características químicas. São potentes antioxidantes, quelantes de metais e combatem os radicais livres (Harbone & Willians, 2000). Os fatores como a ecologia vegetal da região onde foi coletada e até mesmo a variabilidade genética das rainhas, influenciam na composição química da própolis (Park et al., 1998).

O mecanismo de ação da própolis parece ser complexo e, portanto, uma simples analogia não pode ser feita ao modo de ação dos antibióticos clássicos (Santos et al., 2002). A própolis possui atividade antibacteriana mais intensa contra bactérias Gram-positivas e limitada contra Gram-negativas (Antunes et al., 1996; Marcucci et al., 2001; Lu et al., 2005). Comparações entre extratos etanólicos de própolis obtidos de diferentes amostras e compostos isolados mostraram que a presença de flavonóides e derivados do ácido caféico está associada à atividade bactericida (Bosio et al., 2000). A própolis tem mostrado também importante ação bactericida sobre microorganismos que se mostravam resistentes a antibióticos comerciais (Marcucci et al., 1995; Bosio et al., 2000).

Stradiotti et al. (2004a) avaliaram *in vitro* a eficiência do extrato de própolis (30g de própolis bruta triturada para cada 100 mL de solução alcoólica hidratada a 70%) em inibir a produção de gases oriundos da fermentação ruminal de diferentes alimentos e verificaram que o extrato de própolis, quando comparado ao tratamento controle, reduziu a produção final total e a produção final de gases para carboidratos fibrosos. Os autores observaram, ainda, que a taxa de digestão específica para carboidratos fibrosos e carboidratos não-fibrosos foi superior quando se utilizou o extrato de própolis, podendo-se inferir que a própolis estimulou o crescimento microbiano. Segundo os autores, a redução da produção total de gases pode ser atribuída ao efeito da própolis em aumentar a concentração molar de propionato, com consequente diminuição da razão acetato:propionato.

Os mesmos autores avaliaram parâmetros ruminais em experimento *in vivo*, (Stradiotti et al., 2004b), e, utilizando o extrato etanólico de própolis 70% (30,0% de concentração e 50,0% de diluição), não observaram efeito no consumo de matéria seca, pH ruminal, concentrações de amônia e proteína microbiana e nas proporções molares de ácidos graxos voláteis (acético, propiônico e butírico) no líquido ruminal. Entretanto, o extrato de própolis aumentou a concentração de AGV totais e inibiu a atividade específica de produção de amônia pelos microrganismos ruminais, indicando que apesar de não ter reduzido o nível ruminal de amônia, existe o potencial de este efeito ocorrer em outras situações, como em dietas contendo alta razão de proteína degradável/carboidrato fermentescível.

Broudiscou et al. (2000) testaram o efeito de treze extratos secos de plantas com alto teor de flavonóides e própolis, sobre a fermentação e metanogênese em cultura

contínua de microrganismos ruminais, e observaram que a própolis aumentou a produção de propionato em 10,3% e diminuiu a população de protozoários.

O extrato etanólico de própolis (concentração de 30%, diluição 50%, teor alcoólico 70%) e a monensina foram avaliados sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* de proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio por Oliveira et al. (2004). Os autores observaram que a própolis foi eficiente em reduzir a produção de amônia das diferentes fontes de nitrogênio, assim como foi mais eficiente que a monensina em reduzir a atividade de desaminação.

Em experimento subsequente, os autores analisaram o efeito da própolis e da monensina sobre a atividade de fermentação de aminoácidos *in vitro* pelos microrganismos ruminais, Oliveira et al. (2006) observaram que a própolis apresentou-se mais eficiente que a monensina em reduzir a produção de amônia de culturas de microrganismos ruminais em meio contendo caseína hidrolisada. A produção de amônia normalizou-se assim que o ionóforo monensina foi removido do meio de cultura, provavelmente em razão do restabelecimento da população de bactérias produtoras de amônia, comprovando que esse antibiótico apenas inibe estes microrganismos. No tratamento com própolis, a produção de amônia manteve-se em níveis baixos mesmo após sua remoção do meio de cultura, sugerindo que a população proteolítica haveria sido eliminada pela própolis.

Em trabalhos com vacas leiteiras, Freitas et al. (2009) observaram que a adição de extrato etanólico de própolis aumentou a produção de leite e teores de proteína, não apresentando efeito na ingestão de matéria seca, teor de gordura e contagem de células somáticas. Entretanto, Stelzer et al. (2009) não observaram efeito na adição de própolis nas rações no nível 30% p/v (30 g de própolis bruta moída a cada 100 mL de álcool a 70% em água) sobre consumo, digestibilidade e desempenho de vacas produzindo acima de 20 kg de leite/dia.

Lana et al. (2005) estudaram a associação entre extrato de própolis e óleo de soja na alimentação de cabras e verificaram que a própolis aumentou os teores de gordura, proteína e sólidos totais no leite e o pH e reduziu a razão acetato:propionato no líquido ruminal. Porém, extratos etanólicos, ou a própolis bruta, em doses crescentes, não modificaram a ingestão de nutrientes e parâmetros ruminais de cabras leiteiras (Lana et al., 2007).

O desempenho de cordeiros confinados em terminação foi avaliado por Ítavo et al. (2011), e, neste estudo, foram testadas as adições de própolis verde (67,0 mg de

flavonoide/animal/dia), própolis marrom (20,2 mg de flavonoide/animal/dia) ou monensina (30 mg/animal/dia) na dieta com razão volumoso:concentrado 50:50. Embora o maior ganho de peso tenha sido para o grupo controle, a melhor conversão alimentar e eficiência alimentar foi para os animais tratados com própolis marrom e monensina, devido à redução na ingestão de matéria seca observada nestes tratamentos.

Em estudos recentes, Yaghoubi et al. (2010), avaliaram doses crescentes de flavonoides totais (0, 17, 35, 70 e 140 $\mu\text{g/mL}$ do fluido de cultura) provenientes de extrato de própolis e incubaram em meios de cultura, com diferentes razões volumoso:concentrado (100, 50 e 20% de volumoso). As doses de flavonoides, independentemente da razão volumoso/concentrado, reduziram linearmente a produção de gases, número de protozoários, digestão da fibra em detergente ácido e pH do meio. E ainda, as duas maiores doses de flavonoides (70 e 140 $\mu\text{g/mL}$) reduziram a concentração de amônia.

Devido às dificuldades no fornecimento da própolis na forma líquida, o grupo de pesquisa composto por professores dos departamentos de Zootecnia e de Farmacia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM) desenvolveram os produtos à base de extrato de própolis em forma sólida (pó) para ser utilizado na ração de ruminantes. Esses produtos a base de extrato de própolis receberam o nome fictício de LLOS (primeira letra inicial do nome dos pesquisadores), foram desenvolvidos no Laboratório de Desenvolvimento de Fitoterápicos e Apiterápicos/UEM e tem pedido de patrimônio intelectual registrado (PI nº0605768-3).

Assim, Prado et al. (2010a) testou a adições de diferentes produtos à base de extratos de própolis LLOS, em três diluições alcoólicas (1, 2 e 3) e quatro concentrações de própolis (LLOSA, LLOSB, LLOSC e LLOSD) e monensina sódica em dietas com razão volumoso:concentrado 50:50, e observaram que o maior valor de digestibilidade *in vitro* foi para a dieta com adição do LLOS C1 (57,4%), e os menores valores foram para a dieta com monensina (54,0%) seguido da dieta testemunha (53,0%). Na sequência dos estudos, observou em dietas exclusivamente de volumoso (feno de Tifton) com adição dos mesmos aditivos, anteriormente relacionados, que os maiores valores de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foram para a adição de LLOS B3 (49,1%), LLOS C1 (45,6%) e menor valor, para dietas testemunha e adição de monensina (39,3%).

A ação antimicrobiana da própolis também tem sido relacionada aos protozoários do rúmen, como observado por Broudiscou et al. (2000) que relataram a

diminuição desses, para o tratamento com extrato de própolis em cultura contínua. Ríspoli et al. (2009) observaram que o extrato de própolis LLOS C1 reduziu os protistas ciliados do rúmen de bubalinos alimentados com dieta 50:50% (volumoso: concentrado).

Prado et al. (2010b) avaliaram a inclusão dos produtos LLOS B3 e LLOS C1, em duas concentrações de própolis (B e C) e duas extrações alcoólicas (1 e 3) e a monensina sódica em dieta à base de forragem para bovinos e constataram que não houve efeito no consumo, exceto para nutrientes digestíveis totais (NDT), cujo maior consumo foi para o controle em relação aos aditivos. Os aditivos reduziram a digestibilidade total da matéria seca (MS), proteína bruta (PB) e NDT. O produto LLOS B3 proporcionou menor pH e maiores produção de acetato e AGV totais em relação ao controle e monensina, não diferindo do LLOS C1. Não houve diferença na concentração de amônia ruminal, entretanto, a adição da própolis diminuiu a digestibilidade ruminal de PB e aumentou o fluxo de proteína para o intestino.

Na sequência dos estudos, Prado et al. (2010c) analisaram os mesmos aditivos utilizados no experimento citado anteriormente na alimentação de bubalinos com dieta à base de forragem e não verificaram efeito, porém a adição do LLOS C1 propiciou maior coeficiente de digestibilidade total em relação ao controle para MS, FDN, CHT e NDT e os aditivos à base de própolis e a monensina aumentaram o fluxo e a digestibilidade intestinal de PB.

Pontara et al. (2007) avaliaram a utilização dos produtos LLOS A2 e LLOS C1 à base de própolis e do ionóforo lasalocida sódica no desempenho de bezerras lactentes e observaram que não houve efeito da substituição do ionóforo pelos diferentes produtos à base de própolis sobre o desempenho, conversão alimentar e digestibilidade das rações, sugerindo que os produtos à base de própolis podem substituir o uso do ionóforo lasalocida sódica em bezerras.

Ao testar doses dos produtos LLOS, quando se utilizou o produto LLOS C1 e o LLOS C1+ (dobro dose inicial) na dieta de bovinos confinados, não se observaram alterações no desempenho, digestibilidade, produção microbiana (Aguiar, 2009). Entretanto, maior digestibilidade do extrato etéreo foi observada em um estudo semelhante ao anterior, quando o produto LLOS C1+ foi adicionado à dieta de bovinos confinados (Valero, 2010).

Em experimento com bovinos confinados, Zawadzki et al. (2011) verificaram melhora de 20,14 e 20,5% da conversão alimentar com a dieta com adição do produto

LLOSC1++ (três vezes a dose do LLOSC1), quando comparada ao tratamento controle e monensina, respectivamente. O ganho médio diário e peso vivo final foram superiores em relação aos outros tratamentos, assim como o peso de carcaça quente, sendo que controle e monensina apresentaram inferioridade de 4,72% e 4,82%, respectivamente, em relação à dieta que continha o produto à base de própolis.

Diante dos fatos supracitados, a própolis pode atuar como um aditivo antimicrobiano alimentar, contribuindo para melhoria na eficiência na cadeia produtiva da carne com melhoria do desempenho animal, da qualidade do seu produto e redução do impacto ambiental dos sistemas de produção.

LITERATURA CITADA

- AGUIAR, S.C. **Produtos à base de própolis (LLOS) na dieta de bovinos mestiços não castrados em confinamento**. 2009. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.
- ANTUNES, R. M. P.; CATAO, R. M. R.; CEVALLOS, B.S.O. Antimicrobial activity of propolis. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.77, p.15-18, 1996.
- BANSKOTA, A.H., TEZUKA, Y., KADOTA, Sh. Recent progress in pharmacological research of propolis. **Phytotherapy Research** 15, p. 561–571, 2001.
- BERGAN, W. G., BATES, D. B. Ionophores: their effect on production efficiency and mode of action **Journal of Animal Science**, v.58, n.6, p.1465-1483, 1984.
- BOSIO, K.; AVANZINI. C.; D’AVOLIO A.; et al. *In vitro* activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. **Letters in Applied Microbiology**, v.31, n.3, p.174-177, 2000.
- 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.
- FREITAS, J. A.; ANTONANGELO, R. P.; RIBEIRO, J. L.; JOSLIN, M.; NOGUEIRA, S. R. P.; SOUZA, J. C. Extrato etanólico de própolis na alimentação de vacas leiteiras. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.2, p.333-343, 2009.
- GOODRICH, R.D.; GARRETT, J.E.; GAST, D.R.; et al. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, v.58, n.6, p.1484-1498, 1984.
- HARBONE, J.B. & WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v.55, n.6, p.481-504, 2000.
- HORTON, G.M.J.; BASSENDOWSKI, K.A.; KELLER, E.H. Digestion and metabolism in lambs and steers fed monensin with different levels of barley. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 50, p. 997-1008, 1980.
- ÍTAVO, C. C. B. F., MORAIS, M. G., COSTA, C., et al. Addition of propolis or monensin in the diet: Behavior and productivity of lambs in feedlot. **Animal Feed Science and Technology**, v.165, p. 161–166, 2011.
- LANA, R. P.; CAMARDELLI, M. M. L.; QUEIROZ, A. C. et al. Óleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34,n.2, p.650-658, 2005.

- LANA, R. P.; CAMARDELLI, M. M. L.; RODRIGUES, M. T. et al. Óleo se soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras: consumo de matéria seca e de nutrientes parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n. 1,p. 191-197, 2007.
- LANA, R.P.; OLIVEIRA, J.S.; BORGES, A.C. et al. Efeito da monensina e lasalocida sobre a atividade de fermentação de aminoácidos *in vitro* pelos microrganismos ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n.2, p.724-730, 2002.
- LANA, R. P.; RUSSELL, J. B. Efeito da monensina sobre a fermentação e sensibilidade de bactérias ruminais de bovinos sob dietas ricas em volumosos ou concentrado. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 1, p. 254-260, 2001.
- LU, L.; CHEN, Y.; CHOU, C.; Antibacterial activity of propolis against *Sthaphylococcus aureus*. **International Journal of Food Microbiology**. v.102, p.213-220, 2005. REZENDE, G.P.S.R.; PIMENTA, F.C.; COSTA, L.R.R.S.; Antimicrobial activity of two Brazilian commercial propolis extracts. **Brazilian Journal Of Oral Sciences**. v.5, p.967-970, 2006.
- MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, p. 83-99, 1995.
- McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Jornal of Dairy Science**, Lancaster, v.84, suppl. E, p. E194-E203, 2001.
- NAGAJARA, T. G., NEWBOLD, C. J., VAN NEVEL, C. J. et al. Manipulation of ruminal fermentation. Hobson, P. N., Stewart, C. S. (Ed.) **The Rumen Microbial ecosystem**. Blackie Academic & professional: London, 1997. p. 523-632.
- OLIVEIRA, J.S.; LANA, R.P.; BORGES, A.C. et al. Efeito da Monensina e Extrato de própolis sobre a produção de amônia e degradabilidade *in vitro* da proteína bruta de diferentes fontes de nitrogênio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.2, p.504-510, 2004.
- OLIVEIRA, S. J.; QUEIROZ, S. A.; LANA, P. R. Efeito da monensina e da própolis sobre a atividade de fermentação de aminoácidos *in vitro* pelos microrganismos ruminais. **Revista brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p. 275-281, 2006.
- PARK, Y. K.; KOO, M. H.; IKEGAKI, M. *et al.* Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. **Arquivos de biologia e tecnologia**, v. 40, p. 97-106, 1997.
- PONTARA, P. P. M.; CASIMIRO, T. R.; ZEOULA, L. M. et al. Utilização do produto LLOS à base de própolis no desempenho de bezerras lactentes. In: **44ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia** – Unesp, Jaboticabal – SP, 2007.
- POTTER, E. L.; COOLEY, C.O.; RICHARDSON, L.F. *et al.* Effect of monensin on performance of cattle fed forage. **Journal of Animal Science**, v. 43, n. 3, p. 665-669, 1976.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; MOURA, L.P. et al. Adição de própolis ou monensina sódica sobre digestibilidade *in vitro* da matéria seca em dietas 50:50% volumoso:concentrado e 100% volumoso. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. , v.11, p.1023 - 1032, 2010a.
- PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; PONTARA, L. P. M.; FRANCO, S. L.; PRADO, I. N.; CARDOSO, H. C. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dieta à base de forragem com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p. 1336-1345, 2010b.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; MOURA, L.P.P. et al. Efeito da adição de própolis e monensina sódica na digestibilidade e características ruminais em bubalinos

- alimentados com dieta à base de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.9, p.2055-2065, 2010c.
- REGULAMENTO (CE) N.º1831/2003 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO 31 CONSELHO de 22 de setembro de 2003 relativo aos aditivos destinados à alimentação 32 animal **Jornal Oficial da União Européia L 268/29**, 18.10.2003.
- RÍSPOLI, T. B.; RODRIGUES, I. L.; MARTINS NETO, R. G. et al. 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.
- RUSSEL, J. B., STROBEL, H. J. Effects of additives on in vitro ruminal fermentation: a comparison of monensin and bacitracin, another gram-positive antibiotic. **J. Anim. Sci.**, v. 66, p. 552-558, 1988.
- SANTOS, F. A.; BASTOS, E. M. A.; UZEDA, M.; et al. Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. **J Ethnopharmacol**, v.80, p.1-7, 2002.
- SHELLER, S.;GAZDA, G.; KROL. W. et al. The ability of ethanoic extract of propolis to protect mice against gamma irradiation. **Zeitschrift fur Naturforsch**, v.44, p. 1049-1052, 1989.
- SHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. *J. Anim. Sci.*, v. 58, p. 1518-1527, 1984.
- STELZER, F. S.; LANA, R. P.; CAMPOS, J. M. S.; MANCIO, A. B.; PEREIRA, J.C.; LIMA, J. G. Desempenho de vacas leiteiras recebendo concentrado em diferentes níveis, associado ou não a própolis. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.7, p.1381-1389, 2009.
- STRADIOTTI JÚNIOR, D.; QUEIRÓZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1086-1092,2004b.
- STRADIOTTI JÚNIOR, D.; QUEIRÓZ, A.C.; LANA, R. P. et al. Ação do extrato de própolis sobre a fermentação *in vitro* de diferentes alimentos pela técnica de produção de gases. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1093-1099, 2004a.
- SPEARS, J.W. Ionophores and nutrient digestion and absorption in ruminants. **Journal of Nutrition**, v.120, n.3, p.632-638, 1990.
- VALERO, M.V. **Monensina ou própolis na dieta de bovinos mestiços terminados em confinamento: Desempenho, digestibilidade, produção microbiana, características de carcaça e do músculo Longissimus**.2010. 61p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- YAGHOUBI, S.M.J.; GHORBANI, G.R.; RAHMANI, A. et al. Flavonoids manipulation of rumen fermentation: An alternative for monensina? **Agriculture Segement**, v.1, n.1, p.1508, 2010.
- ZAWADZKI, F.; PRADO, I.N.; MARQUES, J.A. et al. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. **Journal of Animal and Feed Science**, v.20, n.1, p.16-25. 2011.
- WEDEGAERTNER, T.C.; JOHNSON, D.E. Monensin effects on digestibility, methanogenesis and heat increment of a cracked corn-silage diet fed to steers. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 57, p.168-177, 1983.

II – OBJETIVOS GERAIS

Avaliar *in vitro* aditivos a base de própolis com base em parâmetros de produção de ácidos graxos de cadeia curta, nitrogênio amoniacal e digestibilidade de dietas com diferentes razões volumoso:concentrado.

Verificar o desempenho de bovinos em pastejo suplementados com aditivos à base de própolis.

III - Aditivos à base de própolis na digestibilidade *in vitro* de rações com 30 e 60% de concentrado

RESUMO - Objetivou-se avaliar produtos à base de própolis e monensina sódica, sobre a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), concentração de N-amoniaco e ácidos graxos de cadeia curta proveniente da fermentação de rações com razão volumoso:concentrado 70:30 e 40:60. Os aditivos à base de própolis foram preparados em quatro concentrações de própolis e três extrações alcoólicas, gerando 12 produtos com diferentes concentrações de flavonoides. O ensaio de DIVMS foi conduzido de acordo com a técnica de um estágio por um período de 24 horas de fermentação ruminal. O delineamento foi inteiramente casualizado e os dados por meio de contrastes ortogonais. Na ração 70:30, a extração dos produtos à base de própolis com teor alcoólico 2 apresentou melhor DIVMS e as concentrações C (45,3%) e D (45,6%) foram superiores às concentrações A (41,9%) e B (42,7%). A concentração de própolis A apresentou menor concentração de N-NH₃, e as concentrações C e D reduziram a proporção de acetato, razão A:P e aumentaram a proporção de propionato. Na ração 40:60, o teor alcoólico 1 (139,3 mM) apresentou maior produção total de AGCC, comparado ao álcool 2 (119,8 mM) e álcool 3 (108,7 mM), porém não houve efeito entre os teores alcoólicos e entre as concentrações de própolis para a DIVMS, N-NH₃, acetato, propionato, butirato e razão A:P.

Palavras-chave: ácidos graxos de cadeia curta, dieta, flavonoides, ionóforo, parâmetros ruminais

Introdução

A utilização dos ionóforos já é consagrada na nutrição de ruminantes, dentre eles a monensina sódica é certamente a mais estudada e empregada. A sua utilização tem como objetivo aumentar o desempenho dos animais pela melhora na eficiência energética, principalmente, em função do aumento da produção do ácido propiônico, da redução da razão acetato:propionato, produção de metano e ácido láctico, e também redução nas perdas de aminoácidos que seriam potencialmente fermentados no rúmen (Mcguffey et al., 2001).

Apesar de sua eficácia ser comprovada por inúmeros experimentos, a monensina nos últimos anos tem sofrido sérias restrições, principalmente pela União Européia. Alguns autores como Barton (2000), consideram seu uso controverso, devido ao seu potencial de seleção para organismos resistentes e seu subsequente risco à saúde humana. Desta forma, em busca de alternativas naturais, a própolis tem sido foco de muitos estudos na nutrição animal em função de suas propriedades biológicas, dentre elas destaca-se a antimicrobiana (Kikuni & Schilcher, 1994).

A composição química da própolis é influenciada por diversos fatores, como pelas características existentes ao redor da colmeia, época de colheita, espécie da abelha e também pelos processos de extração dos compostos, exercendo influência direta sobre a composição do extrato final. O rendimento e teor de fenóis totais foram maiores com uso de 70%, ou mais de etanol no solvente (Cunha et al., 2004). Em outro estudo, Muli & Maingi (2007) verificaram que o extrato obtido com 70% de etanol teve melhor efeito antimicrobiano.

Entretanto, geralmente os extratos de própolis utilizados não possuem padronização quanto à concentração de flavonoides. Desta forma, em um projeto interdisciplinar da Universidade Estadual de Maringá, foram desenvolvidos os produtos à base de extratos hidroalcoólicos de própolis, denominados LLOS, que estão com pedido de patente sob o número PI 0605768-3. Esses produtos são extraídos em teores de álcool e concentrações de própolis diferentes, e possuem concentrações conhecidas de flavonoides totais.

A partir de estudos *in vitro*, Prado et al. (2010a) testaram produtos à base de extratos de própolis LLOS, secos em liofilizador produzidos com três diluições alcoólicas (1, 2 e 3) e quatro concentrações de própolis (A, B, C e D). Nas rações com

ração 50% de concentrado o produto LLOS C1 apresentou maior digestibilidade *in vitro* e o LLOS B3 e LLOS C1 nas rações com 100% de volumoso.

O experimento foi conduzido com objetivo de avaliar os efeitos dos produtos à base de própolis LLOS, obtidos por processo de secagem em *spray dryer* fundamentados em parâmetros de digestibilidade *in vitro* da matéria seca de rações com diferentes razões volumoso:concentrado, produção de nitrogênio amoniacal, ácidos graxos de cadeia curta.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição e Alimentação Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia, Laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia e Farmacologia, e na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), todos pertencentes à Universidade Estadual de Maringá.

Os extratos secos de própolis foram obtidos de concentrações crescentes de própolis entre 5,0 a 30,0 g e diluições alcoólicas entre 60,0 e 93,8% (v/v) por extração turbo, por 15 minutos. Os extratos foram filtrados a vácuo e submetidos à desalcoholização em um evaporador rotativo (Burchi, modelo RT 210) até o limite de 15% de álcool. Em seguida, foram submetidos a um processo de secagem por *spray dryer* (nebulizador Labmaq, modelo MSD 1.0 com capacidade de 1 L/hora). Após a secagem, foram armazenados e mantidos sob temperatura de congelamento (-22°C). Os extratos de própolis foram obtidos por meio três níveis crescentes de extração alcoólica (1, 2 e 3), quatro concentrações crescentes de própolis (A, B, C e D), com um total de doze diferentes extratos de própolis seco, chamados: A1, A2, A3, B1, B2, B3, C1, C2, C3, D1, D2 e D3.

A quantificação dos flavonoides totais (Tabela 1) foi realizada utilizando curvas de calibração obtidas do padrão de apigenina; para os ácidos fenólicos totais, foram utilizados os padrões do ácido p-cumárico e o Artepillin C. O padrão apigenina (aproximadamente 95%, número de lote 47H2505, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, EUA) foi dissolvido em 5 mL de metanol, resultando nas seguintes concentrações: 15,55, 20,73, 31,10, 41,46, 93,30 e 124,4 mg/mL. Para a análise, foi utilizado um sistema HPLC Alliance-PDA, que consistia de um módulo de separação Waters e2695 (Waters Co., Mildford, MA) equipado com um desgaseificador a vácuo, uma bomba quaternária, um amostrador automático, e um detector Waters 2996 arranjo de diodos de 512

fotodiodos e uma resolução óptica de 1,2 nm. Os dados foram coletados e integrados com software Waters Empower2.

O padrão Artepillin C ("Artepillin C a partir de própolis", 98%, número de lote STN0051, Wako Pure Chemical Industries, Osaka, Japão) foi dissolvido em 5,0 mL de metanol, obtendo-se as seguintes concentrações: 10,96, 13,70, 18,26, 27,40, 36,53 e 54,80 mg/mL. O padrão de ácido p-cumárico (número de lote 00.003.833-KEC, ChromaDex, EUA) foi dissolvido em 5 mL de metanol, resultando nas seguintes concentrações: 12,91, 15,06, 22,60, 18,08, 30,13 e 90,40 mg/mL. As soluções padrões obtidas foram filtradas por meio de uma membrana Durapore PVDF-HV. Para cada concentração padrão, houve cinco repetições.

Tabela 1. Concentração média de flavonoides totais quantificados em apigenina e ácidos fenólicos em ácido p-cumárico (mg/g) nos extratos secos de própolis

Produtos	Compostos Fenólicos	
	Flavonóides totais	Ácidos fenólicos
LLOS A1	100,18	32,89
LLOS A2	122,81	41,64
LLOS A3	129,17	48,60
LLOS B1	109,17	38,96
LLOS B2	67,33	32,30
LLOS B3	60,35	21,85
LLOS C1	79,16	41,97
LLOS C2	88,16	30,94
LLOS C3	44,52	25,75
LLOS D1	31,54	36,56
LLOS D2	57,73	44,83
LLOS D3	54,95	36,97

Foram utilizados dois bovinos mestiços, castrados, canulados no rúmen com peso corporal médio de 500 kg, como doadores de líquido ruminal para as incubações in vitro. Os animais permaneceram em baias individuais cobertas, com piso de concreto e livre acesso à água. Os animais foram submetidos a duas dietas experimentais semelhante à utilizada na incubação in vitro: a primeira, com 70% de volumoso e 30% de concentrado, e, a segunda, com 40% de volumoso e 60% de concentrado. A alimentação foi realizada duas vezes ao dia (08:00 e 16:00 h) *ad libitum*, com controle de consumo diário para manter 10% de sobras. Previamente ao início das coletas, os animais foram adaptados durante 14 dias.

Os alimentos utilizados foram feno de Tifton 85 *Cynodon dactylon* (L.) Pers, milho e farelo de soja (Tabela 2). A ração com 30% de concentrado teve como objetivo

simular o ambiente ruminal de um animal suplementado a pasto, enquanto a de 60% de concentrado um bovino confinado. As rações, com 30 e 60% de concentrado (Tabela 3), foram formuladas com base no NRC (1996), considerando um bovino macho castrado da raça Nelore, para ganho de peso vivo de 0,700 e 1,150 kg/dia, respectivamente.

Para avaliar a composição química (Tabela 2) dos alimentos, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de crivo de 1 mm e foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB) e extrato etéreo (EE) segundo a AOAC (1990). O teor fibra em detergente neutro (FDN) e da fibra em detergente ácido (FDA) foi determinada conforme método de Van Soest et al. (1991), adaptado ao determinador de fibra Tecnal TE-149 (Piracicaba, São Paulo, BR).

Tabela 2. Composição química dos alimentos (g/kg de MS)¹

Alimentos	MO	PB	FDN	FDA	EE	MM
Feno de Tifton 85 (%)	934,1	60,0	799,7	469,5	12,2	65,9
Milho (%)	984,6	89,4	95,5	34,3	42,1	15,4
Farelo de soja (%)	934,0	513,1	150,0	100,0	16,0	66,0

¹MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral; NDT: nutrientes digestíveis totais.

Os aditivos à base de própolis e a monensina sódica (Rumensin® 100, Elanco) foram incorporados nas rações experimentais (Tabela 3) previamente à incubação *in vitro*. Para a dosagem adicionada nos tubos de ensaio, foi considerado um bovino com peso vivo médio de 400 kg e volume ruminal de 60 litros e, proporcionalmente, os aditivos foram adicionados (1,6 mg dos produtos) para um volume de 50 mL dos tubos de ensaio.

O ensaio de digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) foi conduzido de acordo com a técnica de um estágio por um período de 24 horas de fermentação ruminal, adaptada de Smith et al. (2010). As rações foram analisadas com três repetições de campo em triplicata para cada repetição. Em cada incubação, foram adicionados três tubos brancos (sem amostras) e três tubos com forragem índice, para avaliar a interferência de efeitos durante o processo de fermentação ruminal.

Foram coletados quatro litros de líquido ruminal (dois litros/animal). Uma composta de quantidades iguais de cada doador. Foi filtrado em quatro camadas de

gazes e acondicionado em uma garrafa térmica adicionado de CO₂. Após, transportado para o laboratório onde ocorreu a incubação.

A saliva artificial foi preparada inicialmente com a solução tampão de McDougall (NaHCO₃, Na₂HPO₄ 7H₂O, KCl, NaCl, MgSO₄ 7H₂O, CaCl₂) e mais duas soluções, sendo uma de uréia (5,5 g 100 mL⁻¹ de H₂O destilada) e outra de glicose (5,5 g 100 mL⁻¹ H₂O destilada). No dia que antecedeu à incubação in vitro, foram adicionados a cada 300 mL da solução de McDougall, 5 mL da solução tampão de uréia e 5 mL da solução tampão de glicose, permanecendo em uma estufa a 39°C até a sua utilização.

Tabela 3. Composição percentual e química das rações experimentais (g/kg de MS)

Alimentos	Volumoso:Concentrado	
	70:30	40:60
Feno de Tifton 85	700,0	400,0
Milho	211,2	510,0
Farelo de soja	64,8	70,0
Uréia	15,0	10,0
Sal mineral	9,0	10,0
TOTAL	1000,0	1000,0
Nutrientes		
Matéria orgânica	923,1	942,9
Proteína Bruta	136,3	133,6
Fibra em detergente neutro	596,2	394,7
Fibra em detergente ácido	342,9	213,8
Extrato etéreo	15,5	20,8
Matéria mineral	61,9	47,1

Nos tubos, foram adicionados 0,5 g da ração experimental, e no momento da incubação, foram adicionados 37,5 mL de solução de saliva artificial de McDougall (McDougall, 1948) e 12,5 mL de líquido ruminal (Smith et al., 2010). Em seguida, era acrescentado CO₂ sobre a superfície dos tubos e fechados imediatamente com rolhas de borracha equipadas com válvula de Bünsen. Após este procedimento, os tubos permaneceram em banho-maria por 24 horas de incubação a 39°C, com agitação constante.

Após 24 horas de incubação, a fermentação foi interrompida, colocando os tubos em gelo moído durante 10 minutos. O conteúdo dos tubos foram filtrados em papel filtro quantitativo (faixa preta), o líquido ruminal filtrado foi armazenado para posterior análise, e os filtros com os resíduos colocados em estufa, a 105°C, onde permaneceram

por 24 horas. Após este período, os filtros foram colocados em um dessecador para posterior pesagem.

A digestibilidade *in vitro* da matéria seca foi determinada pela seguinte fórmula:

$$\text{DIVMS} = \frac{\text{peso amostra (g MS)} - [\text{peso resíduo (g MS)} - \text{peso branco (g MS)}]}{\text{peso amostra (g MS)}} \times 100$$

Uma alíquota (10 mL) do líquido ruminal filtrado foi acidificada com 0,1 mL de ácido sulfúrico 1:1 para determinação da concentração de N-amoniaco (N-NH₃). As concentrações de N-NH₃ nas amostras do líquido ruminal filtrado foram determinadas mediante destilação com hidróxido de potássio KOH 2 mol/L, conforme técnica descrita por Preston (1995).

Os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), acetato, propionato e butirato foram determinados a partir de uma alíquota (7,5 mL) do líquido ruminal filtrado acidificada com 2,5 mL de ácido metafosfórico a 25%. O líquido ruminal foi centrifugado a 3.000 rpm (a 4°C) durante 15 minutos, o sobrenadante foi retirado e armazenado congelado (-22°C) até o momento da análise. As amostras foram analisadas de acordo com as recomendações de Palmquist & Conrad (1971) em cromatógrafo gasoso (Finningan 9001 GC), foi utilizado como gás de arraste o nitrogênio (25 mL/minuto), oxigênio como gás comburente (175 mL/minuto) e hidrogênio como gás combustível (15 mL/minuto), e equipado com coluna de vidro de 02 metros de comprimento x 1/8" de diâmetro, empacotada com 80/120 Carbowax B-DA/4% Carbowax 20M. Calibrado para injeções de 1 micro-litro de amostra, e, para a calibração do integrador, foi utilizado uma mistura de AGCC com concentração conhecida como padrão externo.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições de campo realizados em três dias separados. Os dados foram interpretados utilizando-se a metodologia de modelos mistos por meio do método de quadrados mínimos. O modelo considerou o efeito do tratamento, e os testes de hipótese para todas as variáveis testadas foram realizadas por meio de treze contrastes ortogonais entre os teores alcoólico usados na extração dos compostos ativos (1 x 2; 1 x 3; 2 x 3; independente da concentração de própolis) entre as concentrações de própolis (A x B; A x C; A x D; B x C; B x D; C x D; independente do teor alcoólico), entre as concentrações C nos diferentes alcoóis x controle, entre as concentrações C nos diferentes alcoóis x monensina; entre as concentrações D nos diferentes alcoóis x controle, entre as concentrações D nos diferentes alcoóis x monensina. Desta forma os contrastes ficaram assim dispostos: 1 = A1, B1, C1, D1 x A2, B2, C2, D2; 2 = A1, B1, C1, D1 x A3, B3,

C3, D3; 3 = A2, B2, C2, D2 x A3, B3, C3, D3; 4 = A1, A2, A3 x B1, B2, B3; 5 = A1, A2, A3 x C1, C2, C3; 6 = A1, A2, A3 x D1, D2, D3; 7 = B1, B2, B3 x C1, C2, C3; 8 = B1, B2, B3 x D1, D2, D3; 9 = C1, C2, C3 x D1, D2, D3; 10 = D1, D2, D3 x controle; 11 = D1, D2, D3 x monensina; 12 = C1, C2, C3 x controle; 13 = C1, C2, C3 x monensina.

Resultados e Discussão

A inclusão dos aditivos à base de própolis influenciou ($P < 0,05$) a digestibilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) e os parâmetros ruminais nas rações com razão volumoso:concentrado 70:30 (Tabela 4) e 40:60 (Tabela 5).

O teor alcoólico usado na extração dos compostos ativos teve efeito na DIVMS da ração com razão volumoso:concentrado 70:30. O teor alcoólico 2 propiciou maior ($P < 0,01$) DIVMS (45,39%) em relação ao álcool 3 (42,37%). A diferença entre os teores alcoólicos nos valores de DIVMS pode estar relacionada ao conjunto de diferentes substâncias extraídas quando se altera o teor alcoólico, neste caso o álcool intermediário 2 apresentou melhor resultado no parâmetro de DIVMS. Segundo Porte & Rocha (2001), a variação no teor alcoólico na extração dos produtos ativos da própolis altera o grupo de flavonoides extraídos e, conseqüentemente, a sua ação. Para os referidos autores, o teor alcoólico 70% extrai flavonoides bactericidas, enquanto que a 60% extrai flavonoides bacteriostáticos, como seus principais componentes.

As maiores concentração de própolis, C e D, na ração 70:30 proporcionaram DIVMS superiores ($P < 0,01$), quando comparado as menores concentrações (A e B) e a monensina, porém não diferiu ($P > 0,05$) do controle (Tabela 4). A maior DIVMS para estas concentrações podem estar relacionada às menores concentrações de flavonoides e ácidos fenólicos totais presentes nestes produtos (Tabela 1), pois uma alta concentração pode inibir cepas de bactérias fibrolíticas e conseqüentemente reduzir a DIVMS de rações com alta proporção de volumoso. Segundo Antunes et al. (1996), a ação antibacteriana da própolis ocorreria principalmente contra bactérias Gram-positivas.

A monensina pode reduzir a digestibilidade em rações com alto teor de volumoso, principalmente pelo seu efeito em inibir as bactérias Gram-positivas, e, neste trabalho, houve uma redução de 16,4%. Este resultado está de acordo com outros estudos, Beleze et al. (2007), que observaram redução de 26, 27, 23 e 20%, respectivamente, na DIVMS com adição de monensina sódica em dietas com baixos

teores de concentrado de 0, 5, 10 e 20%. Russel & Strobel (1988), em trabalho *in vitro* descrevem que, quando a monensina era adicionada a uma mistura microbiana, ocorria uma diminuição da digestão da celulose.

A concentração de N-NH₃ no líquido ruminal está acima do limite mínimo recomendado para que o crescimento microbiano não seja limitado que é de 5 mg/dL de N-NH₃ (Satter & Slyter, 1974) obtidos em estudos *in vitro*. Porém, é interessante que se reduza a concentração de N-NH₃ no fluido ruminal, pois uma maior proporção de proteína verdadeira pode escapar do rúmen, gerando um aumento na digestibilidade total do N e na proporção de N retido. Na ração com 70:30 a concentração de N-NH₃ reduziu (P<0,05) com a concentração de própolis A (6,09 mg/dL), quando comparado com as concentrações B, C e D, com valores de 7,22, 7,42 e 7,16 mg/dL, respectivamente. Este efeito pode estar relacionado com a ação da própolis sobre as bactérias proteolíticas e hiper-produtoras de amônia.

Para a concentração total dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) na ração 70:30 o álcool 2 (P<0,01) e o álcool 3 (P<0,05) apresentaram maior quantidade que o álcool 1, com valores de 83,0, 78,6 e 68,5 mM, respectivamente.

Não houve efeito (P>0,05) entre os teores alcoólicos e entre as concentrações de própolis na produção de acetato, propionato, butirato e razão acetato:propionato (A:P) em rações com 70:30 (Tabela 4). As concentrações C e D, em comparação ao controle, reduziram (P<0,01) a proporção de acetato (68,5 e 68,6 vs 73,1 mol/100 mol) e razão A:P (3,13 e 3,13 vs 3,66), mas foram superiores (P<0,01) à monensina que obteve valor de 64,3 mol/100 mol e menor razão A:P de 2,30. Para a proporção de propionato, as concentrações C e D foram superiores (P<0,01) ao controle, mas inferiores (P<0,01) à monensina, com valores de 21,9, 22,0, 20,0 e 28,0 mol/100 mol, respectivamente. Na proporção de butirato, também as concentrações C e D apresentaram valores superiores (P<0,01) ao controle e à monensina.

Para o animal, energeticamente, a produção do propionato é mais vantajosa, porque além de não ter perda de carbono, ainda incorpora hidrogênio do meio à molécula de propionato (Van Soest, 1994), conseqüentemente reduzindo a produção de metano. Segundo Nagaraja et al. (1997), o aumento da proporção molar de propionato, concomitantemente com a redução da proporção molar de acetato e razão A:P, são as alterações mais consistentes documentadas na literatura, uma vez que as bactérias produtoras de propionato e utilizadoras de lactato são favorecidas, e as produtoras de acetato, butirato, lactato e amônia são desfavorecidas. Estas alterações nos parâmetros

ruminais, segundo Goodrich et al. (1984), são responsáveis pelo aumento no ganho de peso diário, diminuição de consumo de alimento e aumento da eficiência alimentar. As concentrações de própolis C e D apresentaram comportamento semelhante aos ionóforos em relação à produção dos AGCC, porém em menor magnitude.

Em outros estudos, Stradiotti et al. (2004) avaliaram *in vitro* a eficiência do extrato de própolis em inibir a produção de gases oriundos da fermentação ruminal, e observaram em rações com 100% de volumoso menor produção de gases final para carboidratos fibrosos, e este efeito foi atribuído à ação da própolis em aumentar a concentração molar de propionato, com consequente diminuição da razão acetato:propionato. Foi observado também que o extrato etanólico de própolis a 70% melhora a digestão específica de carboidratos fibrosos e não fibrosos, podendo-se inferir que a própolis estimulou o crescimento microbiano.

Na ração com razão volumoso:concentrado 40:60, não houve efeito ($P>0,05$) no valor de DIVMS entre os teores alcoólicos e entre as concentrações dos produtos à base de própolis, com valor médio de 67,5%. As concentrações de própolis C e D não diferiram ($P>0,05$) do controle, mas foram inferiores ($P<0,01$) à monensina (Tabela 5).

Na mesma linha de pesquisa, Prado et al. (2010a) avaliaram produtos à base de própolis (LLOS) semelhantes ao deste trabalho, com os mesmos teores alcoólicos (1, 2 e 3) e as mesmas concentrações de própolis (A, B, C e D), porém secos em liofilizador. Diferente do observado no presente trabalho, os autores observaram maiores DIVMS para os produtos à base de própolis e menores para a adição de monensina e controle para as rações com 100% de volumoso. E nas rações com 50% de concentrado, os autores verificaram que a adição dos produtos à base de própolis não diferiu da monensina e os aditivos LLOS C1 (57,37%), LLOS D1 (56,41%), LLOS A1 (54,71%) e LLOS C3 (56,04%) apresentaram maiores DIVMS em relação ao controle (52,97%). As diferenças alistadas somente para a ação dos produtos a base de própolis entre o presente trabalho e de Prado et al. (2010a) podem ser explicadas, em parte, pelo processo de secagem, *spray dryer vs* liofilização (Pedro et al., 2010; Rojas, 2011), uma vez que o calor pode alterar a concentração dos compostos fenólicos e, consequentemente, a resistência das bactérias ruminais a estes compostos. E também pode estar relacionada a composição da própolis, que, apesar de ter sido coletada na mesma região, foi em épocas distantes.

Tabela 4. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%), concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL), proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, propionato e butirato no líquido ruminal (mol/100 mol), razão acetato:propionato (A:P) e concentração total de AGCC (mM) proveniente da fermentação de ração com razão volumoso:concentrado 70:30 com aditivos à base de própolis e monensina sódica

Parâmetro	Tratamentos														CV%
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	CON	MON	
DIVMS	42,7	43,8	39,4	41,0	44,8	42,4	44,7	47,0	44,1	47,1	46,0	43,6	45,3	37,8	7,1
N-NH ₃	5,58	6,64	6,05	6,46	7,99	7,22	7,69	7,16	7,40	6,87	7,52	7,17	7,22	7,63	15,8
Acetato	68,9	68,7	69,3	68,7	68,2	68,4	68,6	68,4	68,5	68,9	68,5	68,8	69,0	64,3	2,6
Propionato	21,7	22,0	21,5	21,9	22,1	22,3	21,9	22,2	21,5	22,1	21,8	22,0	21,8	28,0	7,8
Butirato	9,4	9,3	9,2	9,4	9,7	9,3	9,5	9,4	10,0	9,1	9,7	9,2	9,2	7,7	10,6
A:P	3,18	3,13	3,22	3,14	3,09	3,06	3,13	3,08	3,18	3,12	3,14	3,12	3,16	2,30	9,0
AGCC	75,2	64,4	83,0	70,0	74,4	76,6	65,2	89,0	79,6	63,6	84,2	75,6	66,2	68,8	17,4
	Contrastes														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
DIVMS	-	-	**	-	**	**	**	**	-	**	-	**	-		
N-NH ₃	-	-	-	*	*	*	-	-	-	-	-	-	-		
Acetato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	**	**	**		
Propionato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	**	**	**		
Butirato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	**	**	**		
A:P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	**	**	**		
AGCC	**	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; N-NH₃ = nitrogênio amoniacal; A:P = razão acetato:propionato; AGCC = concentração total dos ácidos graxos de cadeia curta; CON = controle; MON = monensina sódica; CV = coeficiente de variação. Contraste 1 = A1, B1, C1, D1 x A2, B2, C2, D2; 2 = A1, B1, C1, D1 x A3, B3, C3, D3; 3 = A2, B2, C2, D2 x A3, B3, C3, D3; 4 = A1, A2, A3 x B1, B2, B3; 5 = A1, A2, A3 x C1, C2, C3; 6 = A1, A2, A3 x D1, D2, D3; 7 = B1, B2, B3 x C1, C2, C3; 8 = B1, B2, B3 x D1, D2, D3; 9 = C1, C2, C3 x D1, D2, D3; 10 = D1, D2, D3 x monensina; 11 = D1, D2, D3 x controle; 12 = C1, C2, C3 x monensina; 13 = C1, C2, C3 x controle; ** = P<0,01; * = P<0,05, - = não significativo.

A maior DIVMS observada no tratamento monensina (73,9%) para a dieta 40:60 de volumoso:concentrado está próximo dos valores observados por Smith et al. (2010), e estes autores relataram valor de DIVMS de 70,6% em rações com alto teor de concentrado adicionado de monensina. Corroborando com os resultados encontrados, Ponce et al. (2012) observaram maior DIVMS para o tratamento com ionóforo, em relação ao controle (60,4 vs 51,3%) após 12 horas de incubação de rações com 74,9% de concentrado. Wang et al. (2004), em ensaios *in vitro*, ao incubar rações com alto teor de concentrado com doses de 0, 2,5 ou 15 µg/mL de monensina, observaram aumento da DIVMS com aumento nas concentrações de monensina.

A concentração de N-NH₃ na ração 40:60 não foi influenciada pelo teor alcoólico e pela concentração dos aditivos à base de própolis. Entretanto, ao comparar com a monensina, esta apresentou valores superiores ($P < 0,01$) às concentrações C e D de própolis. Na literatura, os ionóforos estão relacionados com a redução da concentração de N-NH₃, devido a sensibilidade das bactérias proteolíticas e fermentadoras de aminoácidos aos ionóforos (Russell, 1995), resultando na melhoria da utilização de proteína pelo ruminante (Scheling, 1984).

Na ração 40:60, a proporção de acetato, propionato, butirato e a razão A:P não foram alteradas pelo teor alcoólico e concentração de própolis. No entanto, as concentrações C e D apresentaram valor superior ($P < 0,01$) para a proporção de acetato, maior razão A:P e valor inferior ($P < 0,01$) para a proporção de propionato em relação a monensina. Desta forma, os produtos a base de própolis não foram efetivos quanto a adição de monensina em dietas com 40:60 que garante melhor metabolismo energético.

Para a concentração total de AGCC, somente verificou-se diferença ($P < 0,01$) entre os teores alcoólicos. O álcool 1 (139,3 mM) independente da concentração de própolis apresentou valor superior comparado ao álcool 2 (119,8 mM) e álcool 3 (108,7 mM).

Em estudos *in vivo*, também tem sido observado efeito da adição de produtos a base de própolis LLOS sobre a produção de ácidos graxos no rúmen. Prado et al. (2010b) estudaram os efeitos do LLOSC1 e LLOSB3 para bovinos em dieta com 20% de concentrado, em relação ao tratamento controle, os autores observaram aumento na concentração total de AGCC e acetato. Entretanto, Simioni (2011) ao avaliar doses dos aditivos à base de própolis em bovinos confinados recebendo ração com 53% de concentrado, não observou diferença na concentração de acetato, propionato e butirato, apenas aumentos na concentração de butirato.

Tabela 5. Digestibilidade *in vitro* da matéria seca (%), concentração de nitrogênio amoniacal (mg/dL), proporção molar de ácidos graxos de cadeia curta – acetato, propionato e butirato no líquido ruminal (mol/100 mol), razão acetato:propionato (A:P) e concentração total de AGCC (mM) proveniente da fermentação de ração com razão volumoso:concentrado 40:60 com aditivos à base de própolis e monensina sódica

Parâmetro	Tratamentos														CV%
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	CON	MON	
DIVMS	66,1	68,4	67,6	67,1	68,7	66	67,8	65,3	69,1	69,8	68,0	66,6	67,7	73,9	3,3
N-NH3	7,77	11,88	9,59	9,06	8,71	8,89	9,41	9,00	9,41	8,42	8,18	8,94	8,12	7,95	14,2
Acetato	59,9	60,1	59,4	60,0	59,7	59,4	60,0	59,6	59,4	60,4	59,6	59,8	60,0	56,4	1,7
Propionato	28,7	28,7	29,4	28,9	28,9	29,5	28,6	29,1	29,3	28,2	29,1	29,1	28,6	33,2	4,5
Butirato	11,4	11,2	11,2	11,1	11,4	11,1	11,4	11,3	11,3	11,4	11,3	11,1	11,4	10,4	6,0
A:P	2,09	2,09	2,02	2,07	2,07	2,01	2,11	2,05	2,03	2,15	2,05	2,05	2,10	1,70	5,5
AGCC	135,3	119,0	106,3	138,3	121,9	100,5	126,9	119,2	120,4	136,7	119,2	107,4	120,0	124,9	18,7
	Contrastes														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
DIVMS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	**	-		
N-NH3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	**	-		
Acetato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	**	-		
Propionato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	**	-		
Butirato	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
A:P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-	**	-		
AGCC	*	**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

DIVMS = digestibilidade *in vitro* da matéria seca; N-NH3 = nitrogênio amoniacal; A:P = razão acetato:propionato; AGCC = concentração total dos ácidos graxos de cadeia curta; CON = controle; MON = monensina sódica; CV = coeficiente de variação. Contraste 1 = A1, B1, C1, D1 x A2, B2, C2, D2; 2 = A1, B1, C1, D1 x A3, B3, C3, D3; 3 = A2, B2, C2, D2 x A3, B3, C3, D3; 4 = A1, A2, A3 x B1, B2, B3; 5 = A1, A2, A3 x C1, C2, C3; 6 = A1, A2, A3 x D1, D2, D3; 7 = B1, B2, B3 x C1, C2, C3; 8 = B1, B2, B3 x D1, D2, D3; 9 = C1, C2, C3 x D1, D2, D3; 10 = D1, D2, D3 x monensina; 11 = D1, D2, D3 x controle; 12 = C1, C2, C3 x monensina; 13 = C1, C2, C3 x controle; ** = P<0,01; * = P<0,05, - = não significativo.

Conclusões

Nas rações com maior proporção de volumoso, a adição de produtos à base de própolis tem efeito na digestibilidade *in vitro* da matéria seca e altera a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta, com maior produção de propionato, menor de acetato e redução na razão acetato:propionato. Porém, nas dietas com maior proporção de concentrado não há alterações significativas nestes parâmetros avaliados.

Há efeito do teor alcoólico e da concentração de própolis usadas na produção dos produtos à base de própolis, e os estudos *in vitro* demonstram que nas menores concentrações de flavonoides extraídos os resultados são mais efetivos nas dietas com maiores concentrações de forragens. No entanto, há necessidade de mais pesquisas para elucidar os efeitos dos compostos ativos da própolis sobre a fermentação ruminal.

Literatura Citada

- BELEZE, J. R. F., ZEOULA, L. M., JACOBI, G. Aditivos vs teores de concentrado na ração de bubalinos e bovinos: digestibilidade *in vitro* da matéria seca. **Acta Sci. Anim. Sci.** v. 29, n. 4, p. 417-424, 2007.
- ANTUNES, R.M.P.; CATAO, R.M.R.; CEVALLOS, B.S.O. Antimicrobial activity of propolis. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.77, p.15-18, 1996.
- AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.
- BARTON, M.D. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 13, p. 279-299, 2000.
- CUNHA, I.B.S.; SAWAYA, A.C.H.F.; CAETANO, F.M. et al. Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, n.6, p.964-970, 2004.
- GOODRICH, R.D.; GARRET, J.E.; GHAST, D.R; KIRICH, M.A.; LARSON, D.A.; MEISKE, J.C. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, Albany, v. 58, p. 1484-1498, 1984.
- KIKUNI, N.B., SCHILCHER, H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. **Planta Medicinal**, v.60, n.3, p.222-227, 1994.
- MCDUGALL, E. I. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. **Biochem. J.** 43:99-109, 1948.
- McGUFFEY, R.K.; RICHARDSON, L.F.; WILKINSON, J.I.D. Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 84, suppl. E, p. E194- E203, 2001.

- MULI, E.M., MAINGI, J.M. Antibacterial activity of *Apis mellifera* L. propolis collected in three regions of Kenya. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropiczoical Diseases**, v.13, n.3, p. 655-663, 2007.
- NAGARAJA, T.G.; NEWBOLD, C.J.; Van NEVEL, C.J. et al. Manipulation of ruminal fermentation. In: HOBSON, P.N.; STEWART, C.S. (Eds.) **The rumen microbial ecosystem**. 2.ed., Blackie Academic & Professional, 1997. p.523-632.
- NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 7th ed. National Academy Press, Washington, DC, 1996.
- PALMQUIST, D.L.; CONRAD, H. Origin of plasma fatty acids in lactating cows fed high fat diets. **Journal of Dairy Science**, v. 54, p.1025-1033, 1971.
- PEDRO, M. A. M.; TELIS-ROMERO, J.; TELIS, V. R. N. Effect of drying method on the sorption isotherms and isosteric heat of passion fruit pulp powder. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n.4, p.993-1000, out-dez. 2010.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; MOURA, L.P. et al. Adição de própolis ou monensina sódica sobre digestibilidade *in vitro* da matéria seca em dietas 50:50% volumoso:concentrado e 100% volumoso. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, p.1023 - 1032, 2010a.
- PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; PONTARA, L. P. M.; FRANCO, S. L.; PRADO, I. N.; CARDOSO, H. C. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dieta à base de forragem com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p. 1336-1345, 2010b.
- PRESTON, T.R. **Biological and chemical analytical methods**. In: PRESTON, T.R. Tropical animal feeding: a manual for research workers. Rome: FAO, p.191- 64, 1995.
- PONCE, C. H., SMITH, D. R., BRANINE, M. E., et al. Effects of type of ionophore and carrier on in vitro ruminal dry matter disappearance, gas production, and fermentation end products of a concentrate substrate. **Animal Feed Science Technology**. 171, 223–229, 2012.
- PORTE, A.; ROCHA, P. B. Características químicas da própolis e sua atividade contra microrganismos orais. **Augustus**, vol. 06, n.12, p. 9 – 12, 2001.
- ROJAS, D. F. C. **Extratos secos padronizados de *Bidens pilosa* L.: Desenvolvimento tecnológico e avaliação da atividade biológica**. 2011. 31p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- RUSSELL, J.B. Strategies that ruminal bacteria use handle excess carbohydrate. **Journal of Animal Science**,76:1995, 1998.
- RUSSEL, J. B., STROBEL, H. J. Minireview. Effect of ionóforos on ruminal fermentation. **Applied and Environmental Microbiology**, p. 1-6, 1989.
- SATTER, L D., SLYTER, L. L. Slyter. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. **British Journal Nutrition** v.32, p.199-208, 1974.
- SHELLING, G. T. Monensin mode of action in the rumen. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 58, n. 6, p. 1518-1527, 1984.

- SIMIONI, F. L. **Própolis como aditivo alimentar para bovinos de corte**. 2011. 91p. Tese (Doutorado em zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.
- SMITH, D. R., DILORENZO, N., LEIBOVICH, J., et al. Effects of sulfur and monensin concentrations on in vitro dry matter disappearance, hydrogen sulfide production, and volatile fatty acid concentrations in batch culture ruminal fermentations. **Jornal of Animal Science**. 88, 1503–1512, 2010.
- STRADIOTTI JÚNIOR, D.; QUEIRÓZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1086-1092,2004.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: CornellUniversity Press, p. 476, 1994.
- VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B.A. Symposium: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, 74: 3583, 1991.
- WANG, Y., ALEXANDER, T.W., MCALLISTER, T.A., et al. In vitro effects of monensin and Tween 80 on ruminal fermentation of barley grain:barley silage-based diets for beef cattle. **Animal Feed Science Technology**. 116, 197–209, 2004.

IV – Aditivos à Base de Própolis no Desempenho de Novilhas da raça Nelore em Pastejo

RESUMO - Avaliou-se o efeito dos aditivos a base de própolis e monensina sódica sobre o desempenho de novilhas em pastejo de Tifton 85, como também a produtividade e qualidade forrageira, no período de janeiro a março de 2011. Foram utilizadas 54 novilhas Nelore, peso inicial médio de $304,6 \pm 13,5$ kg e distribuídas num delineamento experimental inteiramente casualizado, em três tratamentos e 18 repetições/tratamento: controle (sem aditivo); própolis (33,24 mg/animal de flavonoides totais em apigenina); e controle positivo: monensina sódica (100 mg/animal). Foram utilizados três piquetes homogêneos de 2,9 hectares/cada, sendo adotado o método de pastejo sob lotação contínua com carga variável. Os aditivos e o suplemento mineral (50 g/animal) foram veiculados juntamente com 200 g de milho moído, sendo fornecidos diariamente às 17 horas e observou-se um período de adaptação de 28 dias. Foram utilizados três piquetes de 2,9 hectares, sendo adotado o método de pastejo sob lotação contínua com carga variável. O uso de aditivos não interferiu no desempenho de novilhas em pastejo, sendo que o ganho médio diário foi de 0,572 kg, 0,525 kg, 0,503 kg para própolis, monensina e controle, respectivamente. No entanto, houve interação entre tratamento e período, de modo que os aditivos à base de própolis proporcionaram maior ganho de peso em relação ao controle negativo no primeiro (0,812 vs 0,562 kg/dia) e segundo período (0,569 vs 0,447 kg/dia), mas sem diferença do controle positivo (monensina sódica).

Palavras-chave: bovinos, flavonoides, ganho médio diário, ionóforo, verão

Introdução

Os aditivos alimentares, como os ionóforos, são substâncias adicionadas na alimentação com objetivo de manipular a fermentação ruminal para aumentar a eficiência de utilização das dietas. Dentre os ionóforos, a monensina sódica certamente é a mais estudada e empregada. Os resultados positivos com uso da monensina são decorrentes do aumento do ganho de peso e melhor eficiência na utilização das pastagens.

Entretanto a utilização dos ionóforos tem encontrado restrições, principalmente pela União Européia. Este princípio baseia-se numa “postura preventiva” contra uma possível relação entre a resistência aos antibióticos de microrganismos patogênicos aos humanos com o uso de ionóforos em rações, além da possível ocorrência de resíduos nos produtos de origem animal, mesmo na ausência de comprovação científica para estas suposições. Desta forma, muitos estudos têm sido direcionados na busca por produtos alternativos com função semelhante.

A própolis tem sido objeto de muitos estudos, devido suas diversas propriedades biológicas: antimicrobiana, antiviral, antifúngica, antioxidante, imunomodulatória, anti-inflamatória e hepatoprotetora, entre outras (Bankova et al., 2001). Na área zootécnica são restritas as informações sobre a aplicabilidade de produtos a base de própolis na alimentação de ruminantes. Há relatos de aumento na produção de propionato e redução na população de protozoários (Broudiscou et al., 2000).

Com utilização de extratos secos de própolis, observa-se que o produto LLOS C1 apresentou maior DIVMS (Prado et al., 2010a), reduziu a população de protozoários ciliados (Ríspoli et al., 2009) e aumentou da energia digestível (Prado et al., 2010b) para bubalinos. E quando sua dose foi triplicada (LLOSC1++) melhorou o ganho médio diário em 26% e a eficiência alimentar em 25% em relação à dieta controle de bovinos confinados (Zawadzki et al., 2011).

Na literatura, não há informações sobre os efeitos dos aditivos à base de própolis no desempenho de bovinos em pastejo. No entanto, nos estudos Prado et al., (2010a) e em estudos recentes, a própolis têm demonstrado melhor resposta em dietas com maior proporção de volumoso, avaliados em parâmetros de DIVMS e ácidos graxos de cadeia curta.

Desta forma, o experimento foi conduzido com objetivo de avaliar os efeitos dos aditivos a base de própolis e monensina sódica no desempenho de bovinos em pastejo e avaliar as características produtivas de Tifton 85 no verão.

Material e Métodos

O experimento a campo foi realizado na Fazenda Escola do Centro Universitário de Maringá – CESUMAR, situada no município de Maringá, região noroeste do Estado do Paraná, no período das águas de dezembro de 2010 a março de 2011. As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Análises de alimentos e Nutrição Animal - Departamento de Zootecnia e no Laboratório de solos - Departamento de Agronomia ambos da Universidade Estadual de Maringá.

O clima é caracterizado como Cfa – clima subtropical úmido mesotérmico, durante o período experimental a temperatura média foi de 25,3° C, com mínima de 20,6° C e máxima de 30,0° C. A precipitação pluviométrica média foi de 240,1 mm, com o menor valor observado em janeiro (182,0 mm) e maior em fevereiro de 312,9 mm.

O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho Eutrófico, composto por 15,4% de areia grossa, 3,8% de areia fina, 10,6% de silte e 70,2% de argila (Tabela 1). A adubação com fósforo e potássio foi realizada em novembro de 2010, em cobertura, na forma de superfosfato triplo e cloreto de potássio respectivamente, em uma aplicação, na dosagem de 70 kg/ha de P₂O₅ e 60 kg/ha de K₂O. A adubação nitrogenada (150 kg de N/ha) foi fracionada em duas aplicações, na forma de uréia, em novembro e dezembro 2010.

Estabeleceu-se que cada período experimental compunha-se de 28 dias, quando foram realizadas as avaliações de desempenho e caracterização da forragem.

Foram utilizadas 54 novilhas da raça Nelore, com 24 meses de idade, peso médio inicial de 305,6 ± 11,7 kg. Todos os animais foram everminados no início do experimento com medicamento a base de doramectina (Dectomax®, Pfizer), identificadas por meio de ferro candente e também por brincos com cores diferentes por tratamento. Para formação dos lotes as novilhas foram distribuídas de acordo com o peso e alocadas ao acaso nos diferentes tratamentos.

Tabela 1. Composição química do solo referente à área experimental

Piquete	1 (CON)	2 (PRO)	3 (MON)
		pH	
CaCl ₂	5,05	4,65	4,75
H ₂ O	5,80	5,30	5,30
		cmol _c dm ⁻³	
Al ³⁺	0,00	0,10	0,10
H ⁺ + Al ³⁺	4,62	5,34	5,35
Ca ²⁺	5,13	3,38	4,43
Mg ²⁺	2,00	1,27	1,37
K ⁺	0,66	0,60	0,56
SB	7,79	5,26	6,36
CTC	12,41	10,6	11,71
		mg dm ⁻³	
P	5,70	6,20	6,00
C	19,76	19,02	19,02
S-SO ₄ ²⁻	6,14	6,54	6,94

Fonte: Laboratório de Solos, Departamento de Agronomia - UEM, 2010.

A área experimental foi constituída por três piquetes de Tifton 85 *Cynodon dactylon* (L.) Pers e dividida com cerca eletrificada de dois fios, estabelecida há dois anos e com área total de 8,7 hectares (2,9 ha/piquete). Os piquetes eram providos de bebedouro de água e comedouro de plástico (0,5m/animal) para o fornecimento do suplemento.

Previamente ao início do experimento os animais foram alocados por 28 dias nos piquetes para adaptação à pastagem e aos tratamentos: controle negativo – sem aditivos (CON); própolis (PRO) e controle positivo - monensina sódica (MON).

O produto à base de própolis fornecido apresentava concentração de própolis entre 5 a 30 g e diluição alcoólica entre 60.0 a 93.8% (v/v) e foi preparado de acordo com a metodologia desenvolvida por Franco & Bueno (1999) e constituído em um extrato seco de própolis, registrado no Instituto Nacional de Propriedade Industrial sob n° 0605768-3. Sua preparação consiste na extração hidroalcoólica da própolis bruta, a fim de liberar suas substâncias ativas (flavonoides e ácidos fenólicos). Subsequentemente, o conteúdo alcoólico é evaporado com o auxílio de um rotaevaporador e o extrato é seco em um *spray dryer*. A quantificação de flavonoides foi obtida por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e 33,24 mg/animal/dia de flavonoides totais em apigenina foi fornecido.

A quantidade de monensina sódica fornecida foi de 100 mg/animal/dia (Rumensin® 200, Elanco). Os aditivos e o suplemento mineral foram veiculados juntamente com milho moído, sendo esta mistura (250 g/animal) fornecida diariamente às 17 horas. A composição do suplemento é apresentada na Tabela 2.

A pesagem dos animais foi realizada, sempre em jejum prévio de 9 horas, no início do experimento (03/01/2011) e ao final de cada período experimental, correspondente a 28 dias (31/01/2011), 56 dias (28/02/2011) e 85 dias (29/03/2011). O ganho de peso vivo (GPV) foi obtido pela diferença entre o peso ao final de cada período e o peso inicial dos animais. O ganho médio diário (GMD) foi calculado pela divisão do GPV pelo número de dias de cada período (28, 56 e 85 dias). O ganho de peso vivo por hectare (GPV/ha) foi obtido multiplicando o número de animais/dia/ha pelo GMD dos animais, multiplicado pelo número de dias de cada período.

Tabela 2. Composição dos suplementos experimentais (g/kg)

Ingredientes (g/kg)	CON	PRO	MON
Milho moído	800,0	780,0	780,0
Minerais ¹	200,0	200,0	200,0
Própolis	-	20,0	-
Monensina sódica ²	-	-	20,0

¹Suplemento mineral (P40, Fortmix): Ca: 110 g.kg⁻¹, P: 40 g.kg⁻¹, Na: 140 g.kg⁻¹, S: 8 g.kg⁻¹, Mg: 750 mg.kg⁻¹, Co: 45 mg.kg⁻¹, I: 45 mg.kg⁻¹, Co: 825 mg.kg⁻¹, Se: 13 mg.kg⁻¹, Zn: 2200 mg.kg⁻¹, F: 400 mg.kg⁻¹; ²Rumensin® 200 (Elanco);

CON: tratamento controle; PRO: própolis; MON: monensina sódica.

O método de pastejo adotado foi o de lotação contínua com carga variável, foram utilizados 18 animais “testers” por piquete, mais animais reguladores (Mott & Lucas, 1952). Os tratamentos permaneceram fixos nos piquetes em todo experimento. Animais reguladores foram utilizados para ajustar a carga animal e garantir oferta de forragem homogênea entre tratamentos.

A determinação da disponibilidade da forragem ou resíduo de matéria seca (RMS) foi realizada nos três piquetes utilizando o método de dupla amostragem (Wilm et al., 1944) nas seguintes datas: 27/12/10, 24/01/11, 20/02/11 e 21/03/11. Em cada piquete foram cortadas, ao nível do solo, doze amostras de 0,56 m², pesadas e secas em estufa com ventilação forçada a 55° C, por 72 horas. Antes do corte, foi estimada visualmente a produção de matéria seca da amostra. Além das amostras cortadas, foram realizadas mais 48 avaliações visuais. Utilizando-se os valores das amostras cortadas e

estimadas visualmente foi calculado a produção de matéria seca em kg/ha pela equação proposta por Gardner (1986).

A estimativa da taxa de acúmulo diário de matéria seca (TAD) foi realizada por meio da técnica de Klingman et al. (1943). Foram utilizadas cinco gaiolas de exclusão de pastejo por piquete, e aplicou-se a equação proposta por Campbell (1966):

$$TAD_j = \frac{G_i - F_{i-1}}{n}$$

Em que,

TAD_j = taxa de acúmulo diário de matéria seca no período j, em kg MS/ha/dia;

G_i = matéria seca/ha dentro das gaiolas no instante i, em kg MS/ha;

F_{i-1} = matéria seca/ha fora das gaiolas no instante i – 1, em kg MS/ha;

n = número de dias do período j.

A taxa de acúmulo de MS (TA), nos diferentes períodos experimentais foi calculada pelo produto da TAD pelo número de dias do período.

A oferta de forragem (OF) em matéria seca total e matéria seca de lâminas verdes foram determinadas de acordo com a fórmula:

$$OF = \frac{RMSd + TAD}{PV} \times 100$$

Em que,

OF = oferta de forragem, em kg MS/100 kg PV/dia;

RMSd = resíduo de matéria seca diário, em kg MS/ha/dia;

TAD = taxa de acúmulo diário, em kg MS/ha/dia;

PV = peso vivo dos animais, em kg/ha.

O cálculo da taxa de lotação foi efetuado considerando a unidade experimental (UA) como sendo 450 kg de PV, com a seguinte fórmula:

$$TL = \frac{UAt}{\text{Área}}$$

Em que,

TL = taxa de lotação, em UA/ha;

UAt = unidade animal total;

Área = área experimental total, em ha.

As amostras obtidas na dupla amostragem foram compostas proporcionalmente, formando três amostras (repetições) por piquete e por período. Após foram separadas em seus componentes estruturais: lâmina foliar (LF); bainha + colmo verde (BCV); e material morto (MM), dos quais se obteve o peso seco e percentual individual. Foi

determinada a produção dos componentes estruturais por área, multiplicando o percentual individual pela disponibilidade de forragem em cada período de coleta.

O método do pastejo simulado com coleta manual foi utilizado para avaliação da qualidade da forragem consumida pelos animais, realizado por três avaliadores que formaram uma amostra composta por piquete por período.

Para avaliar a composição bromatológica as amostras foram moídas em moinho tipo Willey com peneira de crivo de 1 mm e foram determinados os teores de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO) e cinzas (CZ) segundo a AOAC (1990). Nas frações lâmina foliar verde, bainha + colmo verde e amostras de pastejo simulado foram determinados os teores de proteína bruta (PB) pelo método da AOAC (1990) e a fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada conforme método de Van Soest et al. (1991) adaptado ao determinador de fibra Tecnal TE-149 (Piracicaba, São Paulo, BR).

Nas amostras de pastejo simulado foram determinados os teores de fibra em detergente ácido (FDA) conforme método de Van Soest et al. (1991) adaptado ao determinador de fibra Tecnal TE-149 (Piracicaba, São Paulo, BR), de extrato etéreo (EE) segundo a AOAC (1990), de lignina permanganato de potássio (LPer) de acordo com Van Soest & Wine (1967) e valor da proteína insolúvel em detergente neutro (PIDN) conforme descrito em Licitra et al. (1996).

O teor de nutrientes digestíveis totais (NDT) da pastagem foi estimado por meio da equação descrita por Cappelle et al. (2001), para forragens verdes:

$$\text{NDT} = 83,79 - 0,4171 \times \text{FDN}.$$

Os valores de carboidratos totais (CHT) foram calculados pela equação:

$$\text{CHT} = \text{MO} - (\text{EE} + \text{PB}).$$

Também foi determinado o fracionamento dos carboidratos segundo Sniffen et al. (1992).

A fração C foi determinada pela fórmula:

$$C = (100 \times \text{FDN} (\% \text{MS}) \times 0,01 \times \text{LIGNINA} (\% \text{FDN}) \times 2,4 / \text{CHT} (\% \text{MS})).$$

A fração B2 foi obtida pela equação:

$$B2 = 100 \times ((\text{FDN} (\% \text{MS}) - \text{PIDN} (\% \text{PB}) \times 0,01 \times \text{PB} (\% \text{MS})) - \text{FDN} (\% \text{MS}) \times 0,01 \times \text{LIGNINA} (\% \text{FDN}) \times 2,4) / \text{CHT} (\% \text{MS}), \text{ onde PIDN é proteína insolúvel em detergente neutro.}$$

A fração A + B1 foi determinada pela diferença entre $100 - (C + B2)$.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, e os dados foram submetidos à análise de variância considerando nível de significância de 5% e as médias foram comparadas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os dados de ganho médio diário foram analisados com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + P_j + TP_{ij} + e_{ijk}$$

Em que:

Y_{ijk} = observação referente ao indivíduo k no tratamento i no período j ;

μ = constante geral;

T_i = efeito do tratamento i variando de 1 a 3;

P_j = efeito do período j variando de 1 a 3;

TP_{ij} = efeito da interação entre tratamento i no período j ;

e_{ijk} = erro aleatório associado a cada observação.

Os dados de produção de forragem foram analisados seguindo o modelo estatístico abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + e_{ij}$$

Em que:

Y_{ijk} = observação referente à variável j no período i ;

μ = constante geral;

P_j = efeito do período j variando de 1 a 3;

e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

Resultados e Discussão

No período de adaptação do pasto e suplemento, 28 dias antes ao início do experimento, as novilhas foram alocadas com baixa carga animal por hectare, a fim de garantir boa disponibilidade de forragem aos animais e eliminar a possibilidade de ganho compensatório no período experimental. Desta forma, a massa de forragem neste período (Tabela 3) foi superior aos demais períodos ($P < 0,01$), com valor de 3.592 kg de MS/ha. A estrutura da pastagem é importante no desempenho dos animais, uma vez que determina a facilidade de apreensão pelo animal. Nesse sentido observa-se que quando há baixa disponibilidade de massa de forragem, os animais ruminantes necessitam de períodos mais longos em pastejo (Pompeu et al., 2009).

A oferta de forragem (Tabela 3) também foi superior no primeiro período em relação ($P < 0,01$) aos demais períodos, com valor de 8,41 kg MS/100 kg de PV. No segundo período, a oferta de forragem reduziu para 7,40 kg MS/100 kg de PV, devido aumento no peso vivo dos animais e, conseqüentemente, no consumo. No terceiro período, em virtude das boas condições climáticas observadas neste período, mesmo com a elevação no peso vivo, a oferta de forragem permaneceu em 7,20 kg MS/100 kg de PV.

A oferta de forragem em um sistema de produção a pasto é fator determinante no consumo. Nussio et al. (1998), apontam que o consumo mínimo de pastagem é estimado em torno de 2% do peso vivo (2 kg MS/100 kg de PV) devido à seleção, mas poderá ser reduzido se houver restrição física e/ou a qualidade da forragem for baixa. Considerando esta estimativa, o menor valor observado na oferta de forragem no mês de março (7,07 kg MS/100 kg de PV) é ainda 3,5 vezes maior que o consumo estimado. De acordo com Hodgson (1990), a disponibilidade de forragem deve ser de três a quatro vezes superior a ingestão de matéria seca para maximização do consumo.

No segundo período, foi possível observar uma redução na massa de forragem, para 3.134 kg de MS/ha e não diferindo do período subseqüente. Esses valores são acima aos preconizados por Corsi & Martha Júnior (1998) para gramíneas do gênero *Cynodon*, que devem apresentar resíduo de aproximadamente 2.500 kg de MS/ha quando bem manejadas. Porém, a massa de forragem de lâmina foliar verde e bainha + colmo verde totalizam valores inferiores a 2.500 kg de MS/ha, devido à elevada proporção de material morto (Tabela 4) na pastagem.

Houve redução ($P < 0,01$) no acúmulo e massa de forragem (Tabela 6) com o avanço nos períodos experimentais. Segundo Pilau et al. (2005), a redução na massa de forragem da pastagem acarreta em menor capacidade fotossintética, devido menor área foliar e interceptação de luz, conseqüentemente menor produção de forragem. No primeiro período, foi observado o maior acúmulo de forragem com produção de 1.714 kg MS/ha (56,12 kg MS/ha/dia). No segundo e terceiro período houve uma redução no acúmulo de forragem com produção de 1.433 a 1.387 kg MS/ha (52,01 a 49,45 kg MS/ha/dia), respectivamente.

Os componentes estruturais da pastagem, lâmina foliar, bainha + colmo verde e material morto, são importantes para caracterizar a forragem disponível aos animais em pastejo (Teixeira et al., 2011). Na Figura 1, pode-se observar a percentagem destes componentes da forragem, no verão. A lâmina foliar apresentou variação de 139,2 a

171,3 g/kg, enquanto bainha + colmo verde atingiu proporções mais elevadas (392,9 a 460,0 g/kg). O material morto apresentou maiores proporções nas avaliações. As menores proporções de lâminas foliares observadas devem-se ao fato da retirada constante das mesmas pelos animais, uma vez que estes tendem a selecionar mais folhas e evitar o consumo de material morto (Carvalho et al., 2001).

Tabela 3. Massa de forragem (MF), acúmulo de massa de forragem (AF), taxa de acúmulo diário (TAD), oferta de forragem (OF) e taxa de lotação (TL) nos períodos experimentais

Meses	kg MS/ha		kg MS/ha/dia	%*	UA/ha
	MF	AF	TAD	OF	TL
1° Período ¹					
Controle	3.311	1.652	63,00	8,41	5,31
Própolis	3.691	1.679	63,76	8,40	5,47
Monensina	3.774	1.812	68,62	8,43	5,78
Média	3.592 a	1.714 a	65,12 a	8,41 a	5,52
2° Período ²					
Controle	3.069	1.331	48,36	7,38	4,99
Própolis	3.123	1.399	50,77	7,42	5,41
Monensina	3.212	1.568	56,90	7,42	5,70
Média	3.134 b	1.433 b	52,01 b	7,40 b	5,36
3° Período ³					
Controle	2.904	1.395	49,64	7,28	4,93
Própolis	3.045	1.374	48,94	7,31	5,03
Monensina	2.990	1.393	49,76	7,02	5,20
Média	2.979 b	1.387 b	49,45 b	7,20 b	5,05
EPM	51,40	28,73	1,03	0,03	0,08
P	0,006	0,007	0,001	0,001	0,162

¹(27/12 a 24/01); ²(24/01 a 20/02); ³(20/02 a 21/03); * ou kg MS/100 kg de PV/dia; EPM: erro-padrão da média.

Médias, na coluna, seguidas de diferentes letras diferem (P<0,05) pelo teste Tukey.

A massa de lâmina foliar verde foi maior (P<0,05) no primeiro período (568,48 kg de MS/ha) em relação ao segundo período (444,85 kg de MS/ha), mas não diferiu do terceiro (489,36 kg de MS/ha). A massa de bainha + colmo verde e o material morto apresentaram comportamento semelhantes, reduziram (P<0,05) no terceiro período em relação ao primeiro período. A razão lâmina foliar/bainha + colmo verde foi influenciada (P<0,05) pelos períodos avaliados, apresentando o maior valor (0,41) no terceiro período, consequência da menor massa de bainha + colmo verde e material morto neste período (Tabela 4).

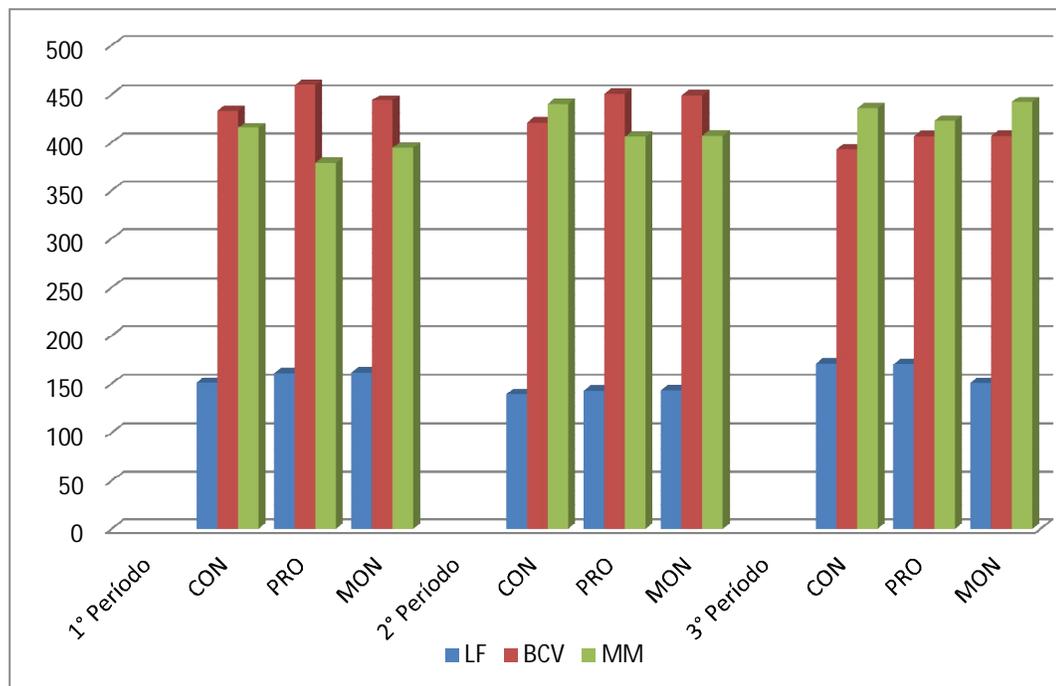


Figura 1. Proporção dos componentes estruturais (g/kg de MS) entre os tratamentos nos períodos experimentais: lâmina foliar (LF); bainha + colmo verde (BCV) e material morto (MM).

O teor de matéria seca na lâmina foliar, bainha + colmo verde e material morto diferiram ($P < 0,01$) entre os meses avaliados, todos apresentaram comportamento semelhante (Tabela 8), aumentando o teor de matéria seca na medida em que avançou os períodos experimentais. A matéria orgânica apresentou pequena variação, aproximadamente 20 g/kg, tanto na lâmina foliar como na bainha + colmo verde, porém com diferenças ($P < 0,01$) nos períodos avaliados. Na lâmina foliar a matéria orgânica, apresentou o menor valor no terceiro período (906,1 g/kg), já na bainha + colmo verde houve um aumento crescente com o decorrer dos períodos experimentais. No material morto a matéria orgânica também apresentou efeito ($P < 0,01$) nos períodos avaliados com o maior valor no terceiro período (Tabela 5).

O teor médio de proteína bruta encontrado na lâmina foliar e bainha + colmo verde foi de 174,4 e 77,4 g/kg (Tabela 8), respectivamente, valores considerados adequados para o crescimento das bactérias ruminais. Pois segundo Milford & Minson (1965), valores de PB das forragens abaixo de 70 g/kg passam a limitar o consumo de forragens, sendo que isto ocorre pela diminuição da taxa de passagem do alimento pelo trato digestivo do animal devido à redução da atividade microbiana no rúmen.

Tabela 4. Massa de forragem da planta inteira (PI), lâmina foliar verde (LF), bainha + colmo verde (BCV), material morto (MM) e a relação lâmina foliar/bainha + colmo verde (LF/BCV), no período experimental

Meses	Componente da Planta (Kg de MS/ha)				
	PI	LF	BCV	MM	LF/BCV
1° Período ¹					
Controle	3.311	500,60	1434,47	1374,37	0,34
Própolis	3.691	594,42	1698,43	1398,66	0,34
Monensina	3.774	610,41	1675,11	1488,80	0,35
Média	3.592 a	568,48 a	1602,67 a	1420,61 a	0,35 b
2° Período ²					
Controle	3.069	427,50	1291,23	1350,32	0,33
Própolis	3.123	446,52	1408,02	1268,74	0,32
Monensina	3.212	460,54	1443,65	1308,14	0,32
Média	3.134 b	444,85 b	1380,97 ab	1309,07 ab	0,33 b
3° Período ³					
Controle	2.904	497,58	1141,12	1265,36	0,44
Própolis	3.045	519,29	1238,72	1287,11	0,42
Monensina	2.990	451,22	1217,17	1321,72	0,37
Média	2.979 b	489,36 ab	1199,00 b	1291,40 b	0,41 a
EPM	51,40	13,61	33,52	15,03	0,01
P	0,006	0,026	0,007	0,025	0,006

¹(27/12 a 24/01); ²(24/01 a 20/02); ³(20/02 a 21/03); EPM: erro-padrão da média.

Médias, na coluna, seguidas de diferentes letras diferem ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Com relação aos teores de fibra em detergente neutro encontrados na lâmina foliar (Tabela 5) observa-se diferença ($P < 0,01$) nos períodos avaliados. Na lâmina foliar, reduziu de 696,2 g/kg do primeiro período para 672,4 e 659,6 g/kg no segundo e terceiro período, respectivamente. Na bainha + colmo verde não houve diferença ($P > 0,05$) entre os períodos com média de 742,6 g/kg. Estes valores estão próximos aos obtidos por Poli et al. (2008) para capim Tifton 85 na mesma época de avaliação, os autores relataram valores de fibra em detergente neutro variando de 665,1 a 712,0 g/kg.

Os teores de FDN encontrado neste trabalho estão de acordo com Van Soest (1994), que o teor de FDN das forragens aumenta durante seu crescimento e é maior no colmo do que nas folhas. Os teores de nutrientes digestíveis totais na lâmina foliar e foram influenciados ($P < 0,01$) pelos períodos experimentais (Tabela 5). Na lâmina foliar o menor valor observado foi de 547,5 g/kg no primeiro período, já na bainha + colmo verde não houve diferença ($P > 0,05$) com média de 528,2 g/kg. Prohmann et al. (2004) ao trabalhar no mesmo período de avaliação em gramíneas do gênero *Cynodon* observaram médias de NDT para lâminas foliares e bainha + colmo verde de 647 e 558 g/kg, respectivamente.

Tabela 5. Composição bromatológica dos componentes estruturais de Tifton 85 nos períodos experimentais

Análise	Componentes estruturais (g/kg)			Média	EPM	P
	1º Período ¹	2º Período ²	3º Período ³			
Lâmina foliar						
MS	341,3 b	388,6 ab	395,8 a	375,2	6,75	0,032
MO	920,2 a	915,8 a	906,1 b	914,0	0,87	0,001
PB	171,9	174,8	176,4	174,4	3,01	ns
FDN	696,2 a	672,4 b	659,6 b	676,0	2,91	0,005
NDT	547,5 b	557,4 a	562,8 a	555,9	1,21	0,005
Bainha + colmo verde						
MS	246,6 b	278,9 ab	286,7 a	370,8	4,91	0,034
MO	911,0 b	915,3 ab	920,1 a	915,5	0,84	0,012
PB	83,8	79,0	69,4	77,4	2,46	0,128
FDN	742,5	734,2	751,1	742,6	2,64	0,103
NDT	528,2	531,7	524,6	528,2	1,10	0,104
Material morto						
MS	558,8 b	658,1 a	694,8 a	637,2	13,04	0,013
MO	911,8 b	921,7 b	936,8 a	923,4	1,65	0,002

¹(27/12 a 24/01); ²(24/01 a 20/02); ³(20/02 a 21/03); MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; NDT: nutrientes digestíveis totais; EPM: erro-padrão da média. Médias, na linha, seguidas de diferentes letras diferem (P<0,05) pelo teste Tukey.

Nas amostras de forragem obtidas pelo pastejo simulado, os teores de matéria orgânica, fibra em detergente neutro, lignina, extrato etéreo, nutrientes digestíveis totais, carboidratos totais, carboidratos não fibrosos e fração A + B1 (Tabela 6) não diferiram (P>0,05) entre os períodos de avaliação, com teores médios de 914,3, 660,6, 43,4, 15,8, 652,4, 737,3, 172,1 e 233,7 g/kg, respectivamente. A concentração de proteína bruta (Tabela 6) aumentou de 153,3 g/kg para 166,8 g/kg no segundo período e manteve-se no terceiro período (163,3 g/kg), estes valores estão próximos aos teores de proteína bruta observados na lâmina foliar, devido a característica seletiva dos animais de ingerir mais folhas.

Os carboidratos fibrosos formam as frações B2, particularmente sua fração potencialmente degradável, como fonte de energia para os animais a pasto. A fração B2 (Tabela 6) com média de 625,1 g/kg não sofreu alteração (P>0,01) no decorrer dos meses avaliados. A fração C dos carboidratos totais pode ser considerada indisponível tanto em nível de rúmen como de intestinos (Sniffen et al., 1992) e no presente estudo, não houve diferença (P>0,05) entre os períodos com valor médio de 141,3 g/kg.

Tabela 6. Composição bromatológica (g/kg MS) e fracionamento de carboidratos (g/kg CT) nas amostras obtidas pelo pastejo simulado de Tifton 85 nos períodos experimentais

Análise	Períodos experimentais			Média	EPM	P
	1º Período ¹	2º Período ²	3º Período ³			
MO	914,9	916,0	912,0	914,3	0,88	0,237
PB	153,3 b	166,8 a	163,6 ab	161,2	1,39	0,017
FDN	665,7	657,7	658,5	660,6	2,32	0,083
FDA	341,5 a	322,4 b	322,1 b	328,7	1,62	0,004
LPer	46,6	42,0	41,6	43,4	0,80	0,078
EE	17,4	15,6	14,3	15,8	0,83	0,376
NDT	560,2	563,6	563,2	562,4	1,90	ns
CT	744,2	733,6	734,0	737,3	2,43	0,211
CNF	165,6	177,1	173,5	172,1	3,73	ns
Fracionamento de carboidratos (g/kg CT)						
Fração A + B1	222,7	241,7	236,5	233,7	5,67	0,420
Fração B2	626,9	620,9	627,4	625,1	4,99	ns
Fração C	150,4	137,4	136,1	141,3	2,32	0,083

¹(27/12 a 24/01); ²(24/01 a 20/02); ³(20/02 a 21/03); MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN: fibra em detergente neutro; FDA: fibra em detergente ácido; LPer: lignina em permanganato; EE: extrato etéreo; NDT: nutrientes digestíveis totais; CT: carboidratos totais; CNF: carboidratos não fibrosos; EPM: erro-padrão da média.

Médias, na linha, seguidas de diferentes letras diferem ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

Houve interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos e os períodos avaliados para as características de desempenho animal. De forma que no primeiro (28 dias) e no segundo período (56 dias) os aditivos à base de própolis proporcionaram maior desempenho em relação ao controle negativo e não diferiu do controle positivo (monensina sódica). No terceiro período (85 dias) não houve ($P > 0,05$) efeito dos aditivos no desempenho animal.

Houve efeito ($P < 0,01$) da suplementação nos primeiros vinte oito dias de avaliação (1º período), para o ganho de peso vivo e ganho médio diário das novilhas Nelore mantidas em piquetes de Tifton 85. Os maiores ganho líquido e ganho médio diário ($P < 0,01$) foram para os animais suplementados com própolis e monensina que não diferiam entre si e foram superiores àqueles do suplemento controle negativo (Tabela 7). O uso dos aditivos a base de própolis (LLOSC1++) e monensina sódica proporcionaram 44 e 26% a mais de ganho em relação ao controle (sem aditivos), respectivamente. O período de adaptação de 28 dias anterior a este primeiro período descarta a possibilidade de ganho compensatório e a homogeneidade entre os piquetes (características produtivas da forragem observadas nas tabelas 6 e 7) permite inferir que as diferenças observadas foram devido aos suplementos avaliados.

Tabela 7. Desempenho de novilhas em pastagem de Tifton 85 suplementadas com aditivos à base de própolis ou monensina sódica

Parâmetros	Tratamento			Média	EPM	P
	CON	PRO	MON			
Peso inicial (kg)	304,89	307,39	304,56	305,61	2,02	ns
Peso final (kg)	347,57	356,06	349,22	350,98	2,48	0,348
Ganho de peso vivo (kg)						
0 - 28 dias	15,72 b	22,72 a	19,83 a	19,43	0,67	0,001
0 - 56 dias	26,72 b	31,89 a	29,39 ab	29,33	0,83	0,050
0 - 85 dias	42,78	48,67	44,67	45,37	1,24	0,154
Ganho médio diário (kg/dia)						
0 - 28 dias	0,562 b	0,812 a	0,708 a	0,694	0,02	0,001
0 - 56 dias	0,477 b	0,569 a	0,524 ab	0,524	0,01	0,050
0 - 85 dias	0,503	0,573	0,525	0,534	0,01	0,154
Ganho de peso vivo por área (kg/ha)						
0 - 28 dias	107,6	171,7	172,3	150,5	-	-
0 - 56 dias	182,7	215,1	215,7	204,5	-	-
0 - 85 dias	282,4	340,4	334,0	318,9	-	-

Médias seguidas de diferentes letras na linha, diferem ($P < 0,05$) pelo teste Tukey.

No primeiro período, foi observado ganho médio diário superior ($P < 0,05$) em relação ao segundo e terceiro período, estes elevados valores são decorrentes da maior massa (3.592 kg MS/ha), taxa de acúmulo diário (65,12 kg de MS/ha/dia) e oferta de forragem (8,41%) no primeiro período (Tabela 3). Como observado no presente trabalho, Teixeira et al. (2011), constataram que as características produtivas da forragem como: massa de forragem, oferta de lâmina foliar tem influência significativa na resposta animal.

No segundo período, apesar da qualidade satisfatória na lâmina foliar e no pastejo simulado, houve redução no ganho médio diário em todos os tratamentos devido redução nas características produtivas da forragem (Tabela 3). Neste período, os aditivos à base de própolis apresentaram maior ($P = 0,05$) ganho de peso vivo e ganho médio diário em relação ao controle negativo e não diferiu do controle positivo (monensina sódica), que não diferiram entre si. (Tabela 7).

No terceiro período (85 dias) o uso do aditivo à base de própolis proporcionou um aumento de 14% no ganho líquido e no GMD (Tabela 7), enquanto o controle positivo aumentou em apenas 5% , porém ambos sem diferença significativa em relação ao tratamento controle negativo. O GMD dos três períodos de 0,534 kg/dia está próximo dos valores encontrados na literatura, Vieira et al. (2006) observaram GMD de 0,550 kg/dia em novilhas da raça Nelore no mesmo período avaliado. O efeito positivo da

monensina observado apenas no primeiro período pode estar associado às melhores condições em que as pastagens se encontravam. Estes dados corroboram com os resultados de Goodrich et al. (1984), que registraram maior resposta no ganho de peso à monensina quando há maior consumo de energia metabolizável comparado ao menor consumo.

O efeito do aditivo à base de própolis apenas no primeiro e segundo período pode estar relacionado ao desenvolvimento de resistência ou adaptação das bactérias ruminais aos aditivos após este período (56 dias). Na literatura, há relatos de resistência de microrganismos ruminais aos ionóforos *in vitro* (Domescik & Martin, 1999; Newbold et al., 1993) e também *in vivo* após 28 dias de fornecimento (Weiss & Amiet, 1990), período semelhante que os ionóforos apresentaram efeito positivo neste trabalho.

Os resultados obtidos com bovinos em sistema de pastejo e, com utilização de ionóforos na dieta, têm sido positivos. Horn et al. (1981) avaliaram o desempenho de animais em pastejo recebendo monensina diariamente em dois experimentos, no primeiro experimento a monensina aumentou o ganho de peso em 70 g/animal/dia e no segundo 90 g/animal/dia. Nos estudos de Paulino et al. (1993), o uso de ionóforos em suplementos múltiplos, houve um aumento de 80 gramas no ganho médio diário de novilhos em crescimento.

Para o ganho de peso vivo por hectare no primeiro período (28 dias) o aditivo à base de própolis foi 59,5% superior em relação ao controle negativo, e foi tão eficiente quanto o controle positivo com valores muito próximos. No segundo período (56 dias) o comportamento dos aditivos foi semelhante, porém com superioridade de 17,7% comparado com o tratamento sem aditivos. No terceiro período (85 dias), os aditivos à base de própolis apresentaram 20,5% e o controle positivo 18,2% a mais de ganho que o controle negativo.

O ganho de peso por área total observado neste trabalho (318,9 kg/ha) está abaixo dos valores encontrados por Prohmann et al. (2004) de 458,5 kg/ha. Porém estes autores trabalharam com novilhos mestiços suplementados de 0 a 0,6% do peso vivo com casca de soja em pastagens de *Coastcross* (*Cynodon dactylon* (L.) Pers em um mesmo período de avaliação (84 dias). No entanto, em ambos os casos estes valores são elevados quando comparados com a produtividade média nacional, de 100 kg de peso vivo/ha/ano (Corrêa & Santos, 2003).

Conclusões

O aditivo à base de própolis promoveu melhor desempenho de bovinos em pastejo em um período de até 56 dias.

Literatura Citada

- AGUIAR, S.C. **Produtos à base de própolis (LLOS) na dieta de bovinos mestiços não castrados em confinamento**. 2009. 58p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.
- AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 15.ed. Washington: AOAC, 1990.
- BANKOVA, V.S.; De CASTRO S.L.; MARCUCCI, C.; et al. Propolis: Recent advances in research on chemistry and plant origin. **Apidology**, v.31, n.1, p.3-15, 1994.
- 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.
- CAMPBELL, A.G. Grazed pastures parameters: Pasture dry matter production and availability in a stocking rate and grazing management experiment with dairy cows. **Journal of Agricultural Science**, v. 67, n. 2, p. 211-216, 1966.
- CAPPELLE, E.R.; VALADARES FILHO, S.C.; SILVA, J.F.C. et al. Estimativas do Valor energético a partir de características químicas e bromatológicas dos alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.30, p.1837-1856, 2001.
- CARVALHO, P. C. F.; RIBEIRO FILHO, H.M.N.; POLI, C.H.E.C. et al. Importância da estrutura da pastagem na ingestão e seleção de dietas pelo animal em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2001, p. 853-871.
- CORREA, L. A.; SANTOS, P. M. **Criação de bovinos de corte na região sudeste**. Embrapa Pecuária Sudeste, 2003. ISSN 1679-1495 Versão Eletrônica. Disponível em:<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/BovinoCorte/BovinoCorteRegiaoSudeste/index.htm>>. Acessado em: 27 dez. 2010.
- CORSI, M.; MARTHA JR., G. B. Manejo de pastagens para produção de carne e leite. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 15., 1998, Piracicaba. **Palestras...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p.296, 1998.
- DOMESCIK, E. J.; MARTIN, S. A. Effects of laidlomycin propionate and monensin on the in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 8, p. 2305-2312, 1999.
- FRANCO, S. L.; BUENO, J. H. F. Otimização de processo extrativo de própolis. **Infarma**, v.11, n.11/12, p. 48-51, 1999.

- GARDNER, A. L. **Técnicas de pesquisa em pastagens e aplicabilidade de resultados em sistemas de produção**. Brasília: IICA/EMBRAPA-CNPGL, 1986. 197p (Série publicações miscelâneas, 634).
- GOODRICH, R.D.; GARRETT, J.E.; GAST, D.R.; et al. Influence of monensin on the performance of cattle. **Journal of Animal Science**, v.58, n.6, p.1484-1498, 1984.
- HODGSON, J. Grazing management. **Science into practice**. London: Longman Scientific & Technical, 1990. p. 203.
- HORN, G. W., T. L. MADER, S. L. ARMBRUSTER, R. R. FRAHM. Effect of monensin on ruminal fermentation, forage intake and weight gains on wheat pasture stocker cattle. **Journal of Animal Science**, p. 52:447, 1981.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – **IBGE**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/default.shtm>, Acesso em: 01/12/2011
- KLINGMAN, D. L.; MILES, S.R.; MOTT, G.O. The cage method for determining consumption and yield of pasture herbage. **Jornal of Agronomy**, v. 35, p. 739-746, 1943.
- LICITRA, G.; HERNANDEZ, T.M.; van SOEST, P.J. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**, v.57, p.347-358, 1996.
- MILFORD, R.; MINSON, D.J. Intake of tropical pasture species. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE PASTAGENS, 9. São Paulo, 1965. **Anais...** São Paulo: Departamento de Produção Animal, 1965, V.1. p.815-822.
- MOTT, G.O.; LUCAS, H.L. The design, conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: INTERNACIONAL GRASSLAND CONGRESS, 1952, Pennsylvania. **Proceedings...** Pennsylvania: State College Press, 1952. p.1380-1385.
- NEWBOLD, C. J.; WALLACE, R. J.; WALKER, N. D. The effect of tetranasin and monensin on fermentation, microbial numbers and the development of ionophore-resistant bacteria in the rumen. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 75, n. 2, p. 129-134, 1993.
- NUSSIO, L.G.; MANZANO, R.P.; PEDREIRA, C.G.S. valor alimentício em plantas do gênero *Cynodon*. In: 150 SIMPÓSIO SOBRE O MANEJO DAS PASTAGENS. Manejo de pastagens de Tifton, Coastcross e Estrela. 1998, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ. p.203-242. 1998.
- PAULINO, M. F.; LEITE, R. D. A.; RUAS, J. R. M. Efeitos de diferentes níveis de monensina sobre o desenvolvimento de novilhas zebuínas em pastoreio. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 30., 1993. Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: SBZ. 1993. p. 537.
- PILAU, A.; ROCHA, M. G.; RESTLE, J.; et al. Produção de forragem e produção animal em pastagem com duas disponibilidades de forragem associadas ou não à suplementação energética. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.4, p.1130-1137, 2005.

- POLI, C. H. E. C.; MONTEIRO, A. L. G.; BARROS, C. S.; et al. Produção de ovinos de corte em quatro sistemas de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.666-673, 2008.
- POMPEU, R. C. F. F.; ROGÉRIO, M. C. P.; CÂNDIDO, M. J. D.; et al. Comportamento de ovinos em capimtanância sob lotação rotativa com quatro níveis de suplementação concentrada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.2, p.374-383, 2009.
- PRADO, O.P.P.; ZEOULA, L.M.; MOURA, L.P. et al. Adição de própolis ou monensina sódica sobre digestibilidade *in vitro* da matéria seca em dietas 50:50% volumoso:concentrado e 100% volumoso. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.11, p.1023 - 1032, 2010a.
- PRADO, O. P. P.; ZEOULA, L. M.; PONTARA, L. P. M.; FRANCO, S. L.; PRADO, I. N.; CARDOSO, H. C. Digestibilidade e parâmetros ruminais de dieta à base de forragem com adição de própolis e monensina sódica para bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p. 1336-1345, 2010b.
- PROHMANN, P.E.F.; BRANCO, A.F.; JOBIM, C.C., et al.. Suplementação de bovinos em pastagem de *Coastcross (Cynodon dactylon (L.) Pers)* no verão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.3, p.792 – 800, 2004.
- RÍSPOLI, T.B.; RODRIGUES, I.L.; MARTINS NETO, R.G. et al., Protozoários ciliados do rúmen de bovinos e bubalinos alimentados com dietas suplementadas com monensina ou própolis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.1, p92-97, 2009.
- SIMIONI, F. L. **Própolis como aditivo alimentar para bovinos de corte**. 2011. 91p. Tese (Doutorado em zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J.; FOX, D. G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.70, n.11, p.3562-3577, 1992.
- TEIXEIRA, S.; BRANCO, A.F.; GRANZOTTO, F. et al. Fontes de fósforo em suplementos minerais para bovinos de corte em pastagem de *Cynodon nlemfuensis Vanderyst*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.1, p.190-199, 2011.
- VALERO, M.V. **Monensina ou própolis na dieta de bovinos mestiços terminados em confinamento: Desempenho, digestibilidade, produção microbiana, características de carcaça e do músculo *Longissimus***. 2010. 61f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. Ithaca: Cornell, 1994. 476p.
- Van SOEST, P.J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B.A. Symposium: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, 74: 3583, 1991.
- VAN SOEST, P.J.; WINE, R.H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant-cell constituents. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.50, p.50-55, 1967.

- VIEIRA, A.; LOBATO, J.F.P.; CORRÊA, E.S. et al. Desenvolvimento e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore criadas a pasto nos cerrados do Centro-Oeste brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p.186-192, 2006.
- WILM, HG.; COSTELLO, O.F.; KLIMPPLE, G.E. Estimating forage yield by the double sampling method. **Journal of American Society of Agronomy**, v.36, n.1, p.194-203, 1944.
- WEISS, W. P.; AMIET, B. A. Effect of lasalocida on performance of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 1, p. 153-162, 1990.
- ZAWADZKI, F.; PRADO, I.N.; MARQUES, J.A. et al. Sodium monensin or propolis extract in the diets of feedlot-finished bulls: effects on animal performance and carcass characteristics. **Journal of Animal and Feed Science**, v.20, n.1, p.16-25. 2011.