NUTRItime

REVISTA ELETRÔNICA

www.nutritime.com.br

ISSN-1983-9006

Revista Eletrônica Nutritime, Artigo 108
v. 7, n°02 p.1180-1188, Março/Abril 2010

Artigo Número 108

USO DA PRÓPOLIS NA NUTRIÇÃO DE RUMINANTES

João Gonsalves Neto[1], Marcio dos Santos Pedreira[1]

[1] Zootecnistas, D.Sc Zootecnia, Departamento de Tecnologia Rural e Animal da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, Itapetinga – BA jgnzoot@bol.com.br, mspedreira@gmail.com.br

INTRODUÇÃO

A própolis é uma substância resinosa, coletada pelas abelhas *Apis mellifera*, de diversas partes da planta como broto, botões florais e exsudatos resinosos. A sua composição química é bastante complexa e variada, estando intimamente relacionada com a ecologia da flora de cada região visitada pelas abelhas. De modo geral, contém 50-60% de resinas e bálsamos, 30-40% de ceras, 5-10% óleos essenciais, 5% de grãos de pólen, além de microelementos como alumínio, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B1, B2, B6, C e E (GHISLBERTI, 1979).

A própolis apresenta cheiro característico com coloração variável do verde-amarelado ao preto, solúvel em álcool, éter, benzeno, acetona e outros. Fatores como a ecologia vegetal da região onde a própolis foi coletada e até mesmo a variabilidade genética das rainhas, influenciam na composição química da própolis. As abelhas utilizam a própolis para assegurar as condições ambientais necessárias à sobrevivência do enxame dentro da colméia (OLIVEIRA et al, 2005).

A própolis é conhecida, principalmente por suas propriedades antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, imunomodulatoria, hipotensiva, cicatrizante, anestésica, anticâncer, anti-HIV e anticarcinogênica (PARK, 2001).

A atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição das bactérias gram-positivas (PARK et al., 2000). Foi constatada inibição do crescimento de bactérias Gram-positivas, responsáveis pela incidência de mastite em bovinos leiteiros (PINTO, 2000).

Nos anos de 2000-2001, se deram, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, os primeiros trabalhos buscando avaliar a própolis como possível agente bacteriostático sobre a microbiota ruminal. Até o momento, tinha-se somente o conhecimento de três trabalhos testando-a como agente antimicrobiano em ruminantes, mas relacionados com bactérias responsáveis pela incidência de mastite em vacas leiteiras.

Os micro-organismos ruminais são de fundamental importância para os animais ruminantes, pela transformação dos carboidratos estruturais, principais constituintes das gramíneas, em ácidos graxos voláteis, que são fontes de energia disponíveis para absorção pelo sistema digestivo. Os micro-organismos ruminais contribuem ainda com o suprimento de proteínas e vitaminas aos animais, após a digestão e absorção das mesmas no intestino delgado. Daí a importância de se saber cada vez mais sobre a sua atividade dentro do rúmen (OLIVEIRA, et al 2004).

As bactérias celuloliticas têm como principal fonte de nitrogênio (N) a amônia, que resulta do processo fermentativo da proteína. No entanto, quando a concentração de amônia está em excesso no fluido ruminal, essa não é utilizada eficientemente para síntese microbiana (SATTER & SLYTER, 1974), o que resultará no aumento da excreção de N, aumentando o custo energético de produção de uréia (RUSSELL et al., 1992).

Os intermediários da produção de amônia são os aminoácidos e peptídeos, que são provenientes da quebra da proteína solúvel do alimento através de enzimas microbianas ruminais, sendo os mesmos incorporados à proteína microbiana ou desaminados. Porém, ao se ter uma quebra excessiva de peptídeos, os mesmos não são assimilados totalmente, ocorrendo uma perda desses na forma de amônia. Uma forma de reduzir essa perda de nitrogênio pelo animal seria

através da administração dos inibidores bacterianos, como monensina e própolis (BARBOSA et al.; STRADIOTTI Jr. et al., 2001).

Estudos têm demonstrado que a própolis atua sobre a inibição de bactérias gram-positivas, sendo esperado que sua adição em cultivo de micro-organismos ruminais iniba o crescimento de bactérias proteolíticas da mesma forma que o ionóforo monensina (OLIVEIRA, 2004).

O objetivo desta revisão foi o de abordar o uso da própolis como aditivo na nutrição de ruminantes e seus efeitos sobre a população microbiana ruminal.

REVISÃO DE LITERATURA

Nas ultimas três décadas, a pecuária bovina brasileira tem sofrido um estreitamento na relação beneficio custo, em parte, resultado da competitividade de outros mercados. Diante dessa realidade, fica a certeza de não haver mais espaço para improvisações e descuidos na bovinocultura. Entre as exigências impostas pelos mercados importadores dos produtos de origem bovina, a observância de que os animais tenham sido alimentados com rações isentas de antibióticos aditivos e promotores de crescimento é considerada de suma importância. Logo a busca e utilização de aditivos naturais que possam suprir, ao menos em equivalência, o uso destes antibióticos no quesito produtividade, constituem em importante diferencial de qualidade, por isentarem os produtos de qualquer toxicidade, favorecendo o ganho em competitividade para esses produtos (STRADIOTTI Jr. et al. 2004)

A própolis é um produto natural proveniente de substancias (resinas) coletadas das plantas, pelas abelhas, e misturadas com suas secreções. As abelhas modificam a composição original da resina da planta misturando-as com secreções das glândulas hipofaringeais, especialmente β-glicosidades. Desta forma, os flavonóides heterosídeos, principais compostos de ação bacteriana da própolis, são hidrolisados para a forma de agliconas livres, o que aumenta a ação farmacológica destes compostos (BONHEVI et al., 1994; PARK e IKEGAKI, 1998).

Objeto de estudo em diversos paises, a própolis subproduto da apicultura, tem demonstrado importantes propriedades terapêuticas, como atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias e cicatrizantes (GHISALBERTI, 1979).

Segundo Mirzoeva et al. (1997), a própolis e alguns de seus componentes possuem efeitos sobre a permeabilidade da membrana citoplasmática bacteriana aos íons, causando a dissipação do potencial de membrana, o que a caracteriza como substância ionofora.

A ação dos ionóforos no rúmen ocorre por mudanças na população microbiana, selecionando as bactérias Gram-negativas, produtoras de ácido succínico ou que fermentam ácido láctico e inibindo as Gram-positivas, produtoras de ácidos acético, butirico e láctico e H2.

As bactérias ruminais Gram-positivas são mais resistentes aos ionóforos que as Gram-positivas, em virtude do seu envoltório celular ser constituído por uma parede celular e uma membrana externa de proteção formada por proteínas, lipoproteínas e lipopolissacarideos, a qual contém porinas (canais de proteínas) com tamanho limite de aproximadamente, 600 Dalton. A maioria dos ionóforos é maior que 600 Dalton e, consequentemente, não passam através das porinas, tornando as células impermeáveis aos ionóforos. Por outro lado, as bactérias Gram-positivas possuem apenas uma camada espessa de peptioglicano, que, por ser porosa, não impede a

ação da monensina (MORAIS et al, 2006).

Sendo assim a atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição de bactérias classificadas como gram-positivas. Se a própolis atua sobre bactérias gram-positivas ruminais, espera-se que sua adição à ração e em cultivos de micro-organismos in vitro iniba o crescimento de bactérias proteolíticas a desaminação e a proteólise (HINO e RUSSELL, 1986; RUSSEL e MARTIN, 1984).

Segundo Stradiotti Jr. et al (2004) em relação à produção de ácidos graxos voláteis, espera-se que ocorra aumento na produção de propionato, com consequente redução na relação acetato:propionato no rúmen. A maior proporção de propionato é benéfica, por disponibilizar no rúmen, menores quantidades de carbono e hidrogênio que seriam utilizados para a produção de metano. A menor produção de metano é sinônimo de aumento na eficiência energética, com consequente melhor desempenho animal.

De acordo com Lana et al. (1998), a produção de metano pelas bactérias ruminais e intestinais pode corresponder a uma perda energética de até 13% em relação à energia do alimento ingerido. Essa redução implica ainda na diminuição da poluição ambiental, em virtude do gás metano ser um dos responsáveis pela destruição da camada de ozônio.

Stradiotti Jr. et al (2004) realizaram um estudo para determinar a ação da própolis sobre a desamaminação *in vitro* de aminoácidos e a fermentação ruminal em bovinos recebendo dieta contendo 35% de concentrado.

Na obtenção do extrato de própolis, foram utilizados 30 g de própolis bruta triturada para cada 100 ml de solução alcoólica (99,5 ou 70,0%, correspondendo às técnicas da extração em etanol e etanol hidratado, respectivamente), por um período de 10 dias. Em seguida, foram feitas filtragens em papel filtro, obtendo-se a solução estoque. Foram feitas diluições da solução estoque utilizando-se 0,0; 16,5; 33,3; 50,0; 66,7; 88,3 e 100% da mesma.

Para a determinação *in vitro* da proteína microbiana, do pH, da amônia e atividade especifica da produção de amônia (AEPA), foi utilizado o liquido ruminal de um animal recebendo forragem, coletado duas horas após o arraçoamento.

Um segundo estudo foi realizado com bovinos fistulados. Para a determinação *in vivo* da proteína microbiana, do pH, dos AGVs, da amônia e atividade especifica da produção de amônia, (AEPA) foram utilizados quatro novilhos holandeses fistulados no rúmen, recebendo dieta contendo 35% de concentrado.

O experimento consistiu de dois períodos experimentais de sete dias; no primeiro foram fornecidos 8 mL da solução estoque em etanol 70%, diluída para 50% da mesma.

Os extratos de própolis obtidos por ambas as técnicas (extração em etanol e etanol hidratado) foram eficientes em reduzir a AEPA pela população microbiana ruminal. A extração com 70% de etanol foi mais eficiente, pois, mesmo quando diluída a 33,3%, causou os maiores valores de inibição (78%).

Segundo Stradiotti Jr et al (2004), a própolis foi eficiente em inibir a atividade de desaminação pelos micro-organismos do rúmen tanto *in vitro* quanto *in vivo*, sendo resultados de grande interesse ao nutricionista de ruminantes, haja vista ser a proteína o nutriente mais oneroso na dieta desses animais e ser de fundamental valia que parte desse nutriente escape a fermentação pela microbiota ruminal, possibilitando acentuar a melhoria da eficiência produtiva dos ruminantes.

Conforme Stradiotti Jr et al, (2004) embora a própolis não tenha

alterado a proporção entre os AGVs, ela aumentou a concentração total dos mesmos, o que, em linhas gerais , confere aos ruminantes, maior possibilidade de se manterem e produzirem a partir de uma mesma dieta.

Oliveira et al, (2004) realizou um estudo para avaliar a fermentação da proteína de três fontes de nitrogênio (tripticase ou hidrolisado de caseína, farelo de soja e farinha de peixe), com ou sem adição de própolis e monensina. Foram testadas três fontes de nitrogênio sem ou em combinação com o antibiótico monensina, pura para análise, ou em combinação com extrato de própolis.

A própolis foi eficiente na inibição da produção de amônia nas fontes (tripticase e farelo de soja). A própolis não afetou o crescimento microbiano, mas foram capazes de inibir a produção de amônia, permitindo acumulo de peptídeos e aminoácidos no meio.

A produção de amônia a partir da farinha de peixe foi bem inferior àquela verificada com a tripticase e farelo de soja, devido a menor degradabilidade da sua proteína, e não houve redução da produção de amônia por ação de inibidores. A concentração da proteína solúvel foi também inferior à observada com outras duas fontes de nitrogênio, devido a menor solubilidade da proteína da farinha de peixe. Entretanto, nas três fontes de nitrogênio, sempre houve maior concentração de proteína solúvel ao inicio da incubação no tratamento contendo própolis. Este resultado demonstra que a própolis tem forte efeito inibidor da produção de amônia.

A monensina e a própolis reduziram a produção de amônia nos tratamentos contendo tripcase e farelo de soja, mas não reduziram no tratamento com farinha de peixe. O que está de acordo com a literatura onde se aponta que os ionóforos apresentam melhores resultados em dietas contendo alta relação proteína degradável/carboidrato fermentescível.

A redução da produção de amônia ocorreu devido à inibição da população microbiana com alta capacidade de desaminação de aminoácidos. A própolis permitiu maior acumulo de proteína solúvel que a monensina.

Segundo Oliveira et al, (2004) a própolis foi eficiente em reduzir a produção de amônia de fontes de proteína de maior degradabilidade. Sendo a própolis mais eficiente que a monensina em manter maiores concentrações de proteína solúvel no inicio das incubações, pela redução na atividade de desaminação.

Em ruminantes, a fermentação de alimentos ingeridos produz ácidos graxos voláteis (AGVs), amônia, gases (dióxido de carbono e metano) e células microbianas. Para os ruminantes, os AGVs constituem a maior fonte de energia (65 a 75% da energia metabolizável ingerida) (STRADIOTTI JR. et al, 2004).

De acordo com Stradiotti Jr. et al, (2004) a produção de dióxido de carbono e metano, representa grande perda de energia ingerida no alimento.

Conforme Lana et al. (1998), a produção de gás metano pelas bactérias ruminais e intestinais corresponde a uma perda energética de até 13% em relação à energia do alimento ingerido.

O gás metano, que é eliminado pelos ruminantes, por eructação é um dos principais responsáveis pelo efeito estufa e pela destruição da camada de ozônio da atmosfera. Deve-se considerar que um bovino adulto chega a produzir mais de 400 litros de gás por dia (metano + dióxido de carbono), liberado no meio, principalmente por eructação (STRADIOTTI JR. et al, 2004).

Segundo Crutzen et al. (1986), os ruminantes são responsáveis por 15% da emissão

total de metano na atmosfera terrestre.

Essa produção de gases no rúmen está intimamente relacionada com a produção de AGV's. A fermentação de carboidratos e proteínas, que resulta em produção de AGVs no rúmen, é acompanhada pela produção de hidrogênio. Somente pequena parte deste hidrogênio é usada para crescimento microbiano e saturação de ácidos graxos de cadeia longa, sendo a maior parte utilizada por bactérias metanogenicas para produção de metano (STRADIOTTI JR. et al, 2004).

Conforme Russel & Strobel, (1989) manipulações da fermentação ruminal que priorizem o aumento da produção de propionato, a exemplo de aditivos ionóforos, implicam, consequentemente, na diminuição da produção de metano no rúmen, devido à existência, no ecossistema ruminal, de uma relação inversa entre a produção de metano e de ácido propiônico. O mecanismo pelo qual se justifica essa relação inversa consiste em direcionar os hidrogênios e carbonos que estariam disponíveis para metanogênese, excedentes na produção de acetato, para produção de propionato. Logo, uma das formas de atuação dos ionóforos seria inibir a ação das bactérias gram-positivas produtoras de acetato, mas não o crescimento das bactérias gram-negativas produtoras de succinato e propionato.

De acordo com Stradiotti Jr. et al, (2004) isso acarretaria diminuição na relação acetato:propionato no rúmen, promovendo redução na produção de metano e, consequentemente, aumentando a eficiência energética dos ruminantes.

Diversos trabalhos têm demonstrado que a atividade antimicrobiana da própolis ocorre pela inibição de bactérias classificadas como gram-positivas. No entanto, pouco se sabe a respeito dos mecanismos de ação envolvidos, mas possivelmente seus efeitos sejam similares aos observados para os ionóforos por também alterarem a permeabilidade da membrana bacteriana, alterando o fluxo de íons através desta (MIRZOEVA et al., 1997).

Stradiotti Jr. et al, (2004) avaliaram a eficiência da própolis em diminuir a produção de gases de três relações volumoso:concentrado incubadas *in vitro*.

Inicialmente, procurou-se determinar, in vitro, a produção de gases pelos microorganismos ruminais na ausência ou presença de própolis.

Para a obtenção do extrato de própolis, utilizaram-se 30 g de própolis bruta triturada para cada 100 mL de solução alcoólica hidratada (70%), por um período de 10 dias. Em seguida, foi feita a filtragem em papel-filtro, obtendo-se a solução estoque.

Na sequência, em um segundo experimento, procurou-se determinar a produção de gases in vitro, em função dos diferentes níveis de própolis e concentrado na dieta.

Stradiotti Jr. et al, (2004) verificaram que o extrato de própolis, quando comparado ao tratamento controle (solução alcoólica a 70%), reduziu a produção final total e a produção final de gases para carboidratos fibrosos. E que a taxa de digestão especifica para carboidratos fibrosos e carboidratos não-fibrosos foi superior, quando se utilizou extrato de própolis.

De acordo com Stradiotti Jr. et al, (2004) a redução no volume final de gases foi atribuída, provavelmente, ao fato de a própolis ter possibilitado a "conservação de carbono no meio". Essa conservação de carbono no rúmen, em linhas gerais, é decorrência do aumento da concentração molar de propionato (3 carbonos) no rúmen, em detrimento de diminuição da concentração de acetato (2 carbonos). Neste sentido, a própolis pode ter atuado como uma substância ionófora. Os ionóforos

apresentam a propriedade de causar mudanças na relação entre esses dois ácidos, seja pela atuação inibitória sobre as bactérias fermentadoras de celulose, produtoras de acetato, seja pela inibição de bactérias produtoras de formato e H2, precursores do gás metano; apresentam mudanças nos produtos finais da fermentação e que resultam no aumento do conteúdo de energia liquida dos alimentos. A melhora na eficiência alimentar dos ruminantes pode ser resultante da economia dessa energia advinda da incorporação dos carbonos e hidrogênios ao propionato, que seriam lançados na atmosfera na forma de gás (CO2 e metano), principalmente via eructação (ruminação). Sabe-se, ainda que o propionato é o principal substrato precursor de glicose pela gliconeogenese no fígado. Em níveis ou fases de produção em que a glicose advinda da digestão do amido no intestino delgado não é suficiente para atender às exigências de produção animal, a exemplo de vacas em período de transição, maior produção de proopionato ruminal pode, além de assegurar o suprimento de glicose, evitar que taxas elevadas de degradação de aminoácidos ocorram para formação de glicose, em razão de estes serem os principais precursores de nova glicose na falta de propionato. Evitar que aminoácidos sejam utilizados para esse fim equivale obter economia de energia e de proteína dietética. Consequentemente haverá economia nos custos de produção, uma vez que o aumento de conteúdo protéico da dieta visando fornecer mais esqueletos de carbono para gliconeogenese é mais caro, além de aumentar o custo energético na excreção de ureia.

Uma vez constatada a eficiência da própolis em inibir a produção total de gases, Stradiotti Jr. et al, (2004) realizaram um segundo conjunto de experimentos, com o objetivo de estudar diferentes dosagens, em níveis econômicos, que resultariam na maior inibição da produção de gases, em analogia a outro ionóforo, a monensina, considerado eficiente nessa propriedade e de grande uso comercial.

De acordo com Stradiotti Jr. et al, (2004) a própolis na concentração de 66,7% foi mais eficiente em inibir a produção de gases dos carboidratos fibrosos, comparada aos outros tratamentos, inclusive a monensina, quando incubada com a dieta 1 (100% do NDT advindo do alimento volumoso). Quando incubaram os alimentos da dieta 2 (50% do NDT advindo de volumoso e 50% do concentrado), novamente a própolis em solução estoque 66,7% foi superior aos outros níveis de própolis de em inibir a produção de gases, mas dessa vez igualando-se à monensina. Na dieta 3 (100% do NDT advindo do concentrado), a própolis em solução estoque 33,3% foi suficiente para inibir a produção de gases em níveis de significância equiparados à monensina e à própolis a 66,7% .

Segundo Stradiotti Jr. et al, (2004) com relação a produção de gases a partir de carboidratos não fibrosos, a solução estoque a 33,7%, quando incubada com alimento volumoso, foi igualmente eficiente à solução a 66,7% e à monensina na redução da produção de gás. Quando o nível de carboidratos não fibrosos da dieta se elevou, maiores concentrações de própolis foram necessárias para causar a inibição da produção de gases.

Conforme Stradiotti Jr. et al, (2004) o menor nível de própolis (16,7%) não apresentou efeito sobre as dietas avaliadas, para o volume final de gases advindos de carboidratos fibrosos e não-fibrosos. E que o maior nível de própolis (66,7%) se mostrou eficiente diante de todas as dietas, para ambos os carboidratos, suplantando, muitas vezes, a monensina quanto à menor produção final de gases.

De acordo com Stradiotti Jr et al., (2004) os tratamentos com maiores concentrações de própolis (33,3 e 66,7%), oriundos da diluição da solução estoque de própolis (extração de 30g de própolis em pedra triturada para cada 100 mL de álcool a 70%, durante dez dias), mostraram-se mais eficientes em inibir a produção final de gases, enquanto o menor nível (16,7%) não resultou significância em relação ao controle.

Segundo Stradiotti Jr et al., (2004) a própolis foi eficiente em inibir a produção de gases *in vitro* pelos micro-organismos ruminais. Somando-se ao fato de que a mesma possibilitou aumento da taxa de digestão especifica dos carboidratos.

Oliveira et al., (2006) estudaram os efeitos *in vitro* do ionóforo monensina e do extrato de própolis sobre a fermentação ruminal de aminoácidos. Constataram que a própolis apresenta-se mais eficiente que a monensina em reduzir a produção de amônia de culturas de micro-organismos ruminais em meio contendo caseína hidrolisada. A produção de amônia normalizou assim que o ionóforo monensina foi removido do meio de cultura, provavelmente em razão do reestabelecimento da população de bactérias produtoras de amônia, comprovando que esse antibiótico apenas inibe estes micro-organismos. No tratamento com própolis, a produção de amônia manteve-se em níveis baixos mesmo quando removida do meio de cultura.

Lanna et al. (2005) avaliaram a adição de óleo de soja e/ou extrato etanolico de própolis na alimentação de cabras leiteiras sobre o consumo, a digestibilidade da matéria seca e dos nutrientes, a composição e produção de leite e os parâmetros de fermentação ruminal em cabras leiteiras.

Os animais receberam junto ao concentrado 0 ou 120 g de óleo de soja (5% da MS da dieta) e 0 ou 10 mL de extrato etanolico de própolis animal/dia (extrato de própolis 3g de própolis animal dia).

De acordo com Lana et al. (2005) o óleo de soja reduz os consumos de matéria seca e de fibra em detergente neutro na presença de extrato etanolico de própolis, aumenta os teores de gordura, proteína e sólidos totais no leite de cabras, aumenta o pH e reduz a relação acetato:propionato no liquido ruminal. O extrato etanolico de própolis interfere pouco no consumo, na digestibilidade, produção e composição do leite e nos parâmetros de fermentação ruminal de cabras em lactação.

CONCLUSÕES

Algumas considerações podem ser feitas em relação à própolis, a mesma foi eficiente em inibir a produção de gases *in vitro* pelos micro-organismos ruminais. E de reduzir a produção de amônia de fontes de proteína de maior degradabilidade. A própolis foi mais eficiente que a monensina em reduzir maiores concentrações de proteína solúvel, pela redução da atividade de desaminação. E de inibir a atividade de desaminação de aminoácidos pelos micro-organismos ruminais tanto in vitro quanto in vivo. O uso da própolis aumentou a concentração total de ácidos graxos voláteis AGVs, o que confere aos ruminantes, maior possibilidade de se manterem e produzirem a partir de uma mesma dieta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, N.G.S.; LANA, R.P.; MÂNCIO, A.B. et al. Fermentação da proteína de seis alimentos por microrganismos ruminais, incubados puros ou com monensina ou Rumensin. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1316-1323, 2001.

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

HINO, T.; RUSSELL, J.B. Relative contributions of ruminal bacteria and protozoa to the degradation of protein in vitro. **Journal of Animal Science**, v.64, p.261-270, 1986.

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

LANA, R.P; CAMARDELLI, M.M.L; 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; EIFERT, E.C; OLIVEIRA, V.M; STRADIOTTI JR, D; OLIVEIRA, J.S.Oleo de soja e própolis na alimentação de cabras leiteiras: consumo de matéria seca e de nutrientes e parâmetros de fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36,n.1, p.191-197, 2007.

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

OLIVEIRA, J.O; LANA, R.P; BORGES, A.C; QUEIROZ, A.C. ALMEIDA, I.C. Efeito da monensina e da 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, J.O; QUEIROZ, A.C; LANA, R.P; MANTOVANI, H.C; GENEROSO, A.R. Efeito da monensina e da própolis sobre a atividade de fermentação de aminoacidos in vitro pelos microorganismos ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.35,n.1, p.275-281, 2006.

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

PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S.M. Classificação da própolis brasileira a partir de suas caracterísicas físicoquímicas e propriedades biológicas. **Mensagem Doce,** v.58, n.9, p.37, 2000.

PARK. Y.K. Estudo das própolis brasileiras e evidencia fotoquímica da origem botânica. **In:** SEMINÁRIO DE PRÓPOLIS DO NORDESTE, 1, Ilhéus, 2001. Anais...Ilhéus: UESC, 2001. p 27-29, 2001.

PINTO, M.S. **Efeito antimicrobiano de própolis verde do Estado de Minas Gerais sobre bactérias isoladas do leite de vacas com mastite**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 92p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

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

RUSSELL, J.B.; O'CONNOR, J.D.; FOX, D.G. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. **Journal of Animal Science,** v.59, p.1329-1338, 1992.

SATTER, L.D.; SLYTER, L.L. Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production "in vitro". **British Journal of Nutrition**, v.32, n.2, p.199-299, 1974.

STRADIOTTI JR., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da 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, 2004.

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

STRADIOTTI Jr., D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P. et al. Ação da própolis sobre microrganismos ruminais e sobre alguns parâmetros de fermentação no rúmen. **In:** REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2001. p.942-944.