

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

PRÓPOLIS NA DIETA DE PRIMATAS (*Callithrix* sp)
SUBMETIDOS AO ESTRESSE E MANTIDOS EM CATIVEIRO

MYRNA CAMPOS FERRAZ

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do título de mestre.

Botucatu - SP

Setembro de 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

PRÓPOLIS NA DIETA DE PRIMATAS (*Callithrix* sp)
SUBMETIDOS AO ESTRESSE E MANTIDOS EM CATIVEIRO

MYRNA CAMPOS FERRAZ

Médica Veterinária

Orientador: Prof. Dr. RICARDO DE OLIVEIRA ORSI

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Zootecnia, para
obtenção do título de mestre.

Botucatu - SP

Setembro de 2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA
- LAGEADO - BOTUCATU (SP)

F381p Ferraz, Myrna Campos, 1969-
Própolis na dieta de primatas (*Callithrix* sp) submetidos ao estresse e mantidos em cativeiro / Myrna Campos Ferraz. - Botucatu : [s.n.], 2008.
73 f.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008
Orientador: Ricardo de Oliveira Orsi
Inclui bibliografia

1. Própolis. 2. *Callithrix*. 3. Bem-estar animal. 4. Stress (Fisiologia). 5. Stress (Psicologia). I. Orsi, Ricardo de Oliveira. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

DEDICATÓRIA

À minha mãe Maria Stela S. Campos por ser tudo em minha vida, por ter me ensinado a arte de seguir sempre em frente ultrapassando obstáculos. Obrigada por ser meu anjo, por me amar tanto e principalmente por se esquecer de si mesma para simplesmente me ver feliz e realizada... Sem você nada faria sentido... Ao meu namorado e grande amigo André Vicente Ruiz de Matos (parmesão) por sua presença e ajuda constante, com certeza sem você eu não teria chegado até aqui, à minha tia Ieda e minhas primas Juliana e Janaína por todo amor dedicado a mim, mas principalmente pelo amor dedicado à minha mãe. Ao meu querido tio Colombo (*in memoriam*) pelo carinho paterno em minha vida. Aos meus animais que já não estão presentes e aos que ainda permanecem ao meu lado.....

Todos vocês foram verdadeiros presentes de Deus na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus , aos meus amigos que estiveram presentes nos momentos bons e difíceis, à toda minha família, à vovó Didi, D. Marina, Sr. Oswaldo e Diguinho, pelo apoio e amor.

Ao meu padrinho de formatura D. Xavier

Ao meu orientador e amigo Prof. Dr. Ricardo de Oliveira Orsi, por ter me ensinado, pela compreensão e por ter me escutado nos momentos de angústia com tanta paciência e atenção.

À Prof. Dra. Margarida Maria de Barros por sua ajuda e apoio, ao Prof. Dr. Luiz Edvaldo Pezzato pela sua confiança.

Ao Prof. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto, pela grande amizade e carinho.

À Dra. Liliana, aos funcionários e a toda a equipe de estagiários do Parque Ecológico do Tietê por todo apoio no decorrer do experimento.

À minha amiga Juliana Bendini pela presença em horas tão difíceis durante essa jornada, e aos meus amigos Bili, Diego Nobrega e Carminha por toda ajuda em situações em que tudo parecia impossível de se realizar.

A todos os funcionários e corpo docente da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Botucatu pela atenção e dedicação; sem a presença de vocês, não teria concluído esse trabalho.

Lembrarei sempre com muito carinho de cada um de vocês...

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	01
1. Considerações Iniciais.....	01
1.1. Característica da família dos Calitriquídeos.....	01
1.2. Definição e fisiologia do estresse.....	05
1.3. Neuroanatomia do estresse.....	08
1.4. Estresse e o sistema imunológico.....	10
1.5. Estresse e comportamento.....	12
1.5.1.Fases da síndrome geral da adaptação.....	14
1.6. Estresse e nutrição.....	15
1.7. Própolis.....	16
1.8. Referências bibliográficas.....	22
 CAPÍTULO 2 – Ação da Própolis na dieta de <i>Callithrix</i> sp submetidos ao	32
estresse em cativeiro: peso e aspectos comportamentais.....	
Resumo.....	33
Abstract.....	34
1. Introdução.....	35
2. Objetivos.....	36
3. Material e Métodos.....	37
3.1.Local de estudo.....	37
3.2.Própolis utilizada.....	37
3.3.Animais utilizados.....	37
3.4.Alimentação de rotina.....	38
3.5.Tratamentos.....	38
3.6.Períodos de avaliação e modelo de estresse.....	39
3.7.Peso dos animais.....	39
3.8.Etograma.....	39
3.9.Análise estatística.....	40
4. Resultados e discussão.....	40
4.1.Avaliação do peso.....	40
4.2.Vocalização de longo alcance ou de alarme.....	41
4.3.Catação.....	42
4.4.Brincadeira social.....	43

4.5. Atividade lúdica com objetos	44
4.6. Deslocamento.....	44
5. Conclusões.....	47
6. Referências Bibliográficas.....	48
 CAPÍTULO 3 - Ação da própolis sobre as proteínas do soro e aspectos hematológicos em saguis (<i>Callithrix</i> sp) submetidos ao estresse em cativeiro.....	53
Resumo.....	54
Abstract.....	55
1. Introdução.....	56
2. Objetivos.....	57
3. Material e Métodos.....	57
3.1. Local de estudo.....	57
3.2. Própolis utilizada.....	57
3.3. Animais utilizados.....	58
3.4. Alimentação de rotina.....	58
3.5. Tratamentos.....	58
3.6. Períodos de avaliação e modelo de estresse.....	59
3.7. Coleta de sangue.....	59
3.8. Análises das proteínas do soro (eletroforese).....	60
3.9. Hemograma.....	60
3.10. Análise Estatística.....	61
4. Resultados e discussão.....	61
4.1. Proteínas do soro.....	61
4.2. Aspectos Hematológicos.....	62
4.2.1. Eritrócitos.....	62
4.2.2. Hematócrito.....	63
4.2.3. Proteína total.....	63
4.3. Leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos.....	65
5. Conclusões.....	68
6. Referências Bibliográficas.....	69
 CAPÍTULO 4 – Implicações.....	73

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2: PRÓPOLIS NA DIETA DE *Callithrix* sp SUBMETIDOS AO ESTRESSE EM CATIVEIRO: PESO E ASPECTOS COMPORTAMENTAIS

TABELA I: Manutenção do peso (%) de sagüis (*Callithrix* sp) mantidos em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2) o estímulo estressor. Os resultados representam as médias e os respectivos desvios-padrão. 41

TABELA II: Número médio de vocalização de longo alcance, catação, brincadeira social, atividade lúdica e deslocamento de sagüis (*Callithrix* sp) criados em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2) o estímulo estressor. Os resultados representam as médias e os respectivos desvios-padrão. 46

Capítulo 3: AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE PROTEÍNAS DO SORO E ASPECTOS HEMATOLÓGICOS EM SAGUIS (*Callithrix* sp) SUBMETIDOS AO ESTRESSE EM CATIVEIRO

TABELA I: Proteínas do soro (%) de sagüis (*Callithrix* sp) mantidos em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2) o estímulo estressor. Os resultados representam as médias e os respectivos desvios-padrão. 62

TABELA II: Eritrócito ($10^6/\text{mm}^3$), Hematócrito (%) e Proteína total (g/dL) de sagüis (*Callithrix* sp) criados em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2) o estímulo estressor. Os resultados representam as médias e os respectivos desvios-padrão. 64

TABELA III: Leucócitos totais (μL), Neutrófilos segmentados (%), Linfócitos (%), Eosinófilos (%) e Monócitos (%) de sagüis (*Callithrix* sp) criados em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2) o estímulo estressor. Os resultados representam as médias e os respectivos desvios-padrão. 67

CAPITULO 1

1- Considerações iniciais

1.1. Características da família dos Calitriquídeos

A família dos calitriquídeos representa os menores primatas antropóides do mundo, com peso variando entre 100g (*Cebuella* sp) e 600g (*Leontopithecus* sp), sendo constituída pelos gêneros *Callithrix* Erxleben, 1777; *Cebuella* Gray, 1866; *Saguinus* Hoffmann Seggi, 1807; *Leontopithecus* Lesson, 1840; *Callimico* Miranda-Ribeiro, 1911 e *Mico* (RYLANDS *et al.*, 2000), caracterizada pela grande adaptabilidade ao ambiente natural, que inclui matas secundárias, matas de galeria típica de cerrado, jardins e pomares (RYLANDS e FARIA, 1993; FERRARI, 1996).

Estes primatas são altamente adaptados à vida saltatória arbórea, com locomoção vertical pelos troncos, o que facilita sua alimentação. Todas as espécies da família dos calitriquídeos são onívoras, alimentando-se de grande variedade de material vegetal (exsudatos, sementes, flores, frutos, néctar dentre outros) e animal (artrópodes, moluscos e pequenos vertebrados) (AURICCHIO, 1995). O consumo freqüente de frutos pelos animais como fonte de carboidratos não estruturais, de diversas espécies pode ser explicado pela necessidade de uma dieta nutricional balanceada (AGUIAR *et al.*, 2003).

Algumas características morfológicas desses primatas são ausências do terceiro molar, órbita ocular presa no crânio, modificação das unhas, manutenção da forma preênsil do hálux e redução no tamanho do corpo (STEVENSON e RYLANDS, 1988; SGAI, 2007). O desenvolvimento dos incisivos inferiores e adaptações do intestino possibilitaram a estes animais a extração e utilização de goma das árvores. A atividade desses animais é muito intensa, passam a maior parte do tempo se locomovendo (MIRANDA, 1997) e despendem mais que 60% do dia em atividades de forrageamento (ERWIN e SACKETT, 1990).

Normalmente, estes primatas possuem uma única fêmea dominante por grupo, que inibe a reprodução nas outras fêmeas através de comportamentos agressivos e liberação de hormônios ou sinais químicos. Apesar dessa

dominância, os demais membros não apresentam hierarquia bem definida entre si e em grupos estabelecidos, a agressividade é rara (STEVENSON e RYLANDS, 1998).

Em *Callithrix jacchus*, a reprodução nas fêmeas é geralmente relacionada à dominância. A fêmea dominante recebe pouca ou nenhuma agressão, tem função ovariana completa e sua prole sobrevive mais do que a de subordinadas que por acaso venham a reproduzir, além da possibilidade de fêmeas dominantes matarem filhotes de subordinadas (LAZARO-PEREA, 2000).

O cuidado cooperativo da prole é a principal função das fêmeas não reprodutoras e distinguem-se dos demais primatas não-humanos por apresentarem uma estratégia reprodutiva de criação cooperativa, na qual os filhotes permanecem com a família até atingirem a idade adulta (AURICCHIO, 1995; ABBOTT *et al.*, 1996). Em grupos familiares, os pais e irmãos mais velhos também auxiliam no cuidado aos mais jovens (SNOWDOWN, 1996). Este sistema parental tem sua lógica no fato de que esta espécie produz filhotes gêmeos, o que torna quase impossível à fêmea arcar sozinha com a criação dos filhotes até a maturidade. A presença de um macho aumenta a proteção contra predadores, liberando a fêmea para procurar alimentos e produzir leite (INGRAM, 1977).

A fêmea apresenta-se sexualmente receptiva ao seu parceiro logo após o parto, podendo conceber nesta fase (DIXSON, 1993). O par reprodutor apresenta alto índice de interação social (catação social, proximidade espacial, contato físico e interação sexual) com a formação de laço afetivo (ROTHER e DARMS, 1993), sendo essas relações importantes para alguns aspectos de seu sistema social, como o cuidado parental, defesa do território e atividade de forrageio (CAINE, 1993).

As interações sociais dessa espécie de primatas se dão principalmente de três formas: catação, brincadeira social e contato corporal (YAMAMOTO *et al.*, 1991) e, segundo Ribeiro (2007), não existem diferenças comportamentais entre sagüis jovens e adultos.

O contato corporal que ocorre, em geral durante o descanso, em *Callithrix jacchus* é bastante presente. Os animais ficam parados, encostados uns aos outros, indicando alto grau de tolerância entre os animais do grupo (YAMAMOTO *et al.*, 1991). A catação provavelmente funciona como uma ferramenta para estabelecer e manter as relações sociais dentro do grupo, sendo um dos principais recursos utilizados pelo macho para cortejar a fêmea (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007).

Da mesma forma, a brincadeira em grupo ou brincadeira social é importante para o desenvolvimento das relações sociais e é comum a todos os tipos de primatas, envolvendo pelo menos dois indivíduos (YAMAMOTO *et al.*, 1991); outro tipo de brincadeira muito comum entre os calitriquídeos e demais primatas é a atividade lúdica com objetos, onde um indivíduo manipula um objeto de uma maneira repetitiva (WALTERS, 1987; BURGHART, 1998).

O estudo do comportamento de brincadeira poderia auxiliar na avaliação da frequência e qualidade das interações sociais, bem como na qualidade de habitats em que vivem espécies ameaçadas de extinção. O padrão dessas interações ao longo do tempo depende diretamente de fatores ecológicos, como períodos de estiagem, tendo relação direta com a disponibilidade de alimentos, ou seja, em períodos de estiagem e falta de recursos alimentares os sagüis tendem a passar grande parte do dia em busca de alimento o que acarreta na diminuição na atividade de brincadeira (OLIVEIRA *et al.*, 2005). A modificação de sua rotina e falta de alimento poderia levar os animais a um quadro de estresse social.

A comunicação vocal é outro aspecto de extrema importância para animais que vivem socialmente, uma vez que permite o ajuste de relações sociais relacionadas às variações no ambiente e flutuações fisiológicas (MORTON, 1997). As funções propostas para estas vocalizações podem ser divididas entre intra-grupais e extra-grupais. Funções extra-grupais se relacionam com a defesa e atração de parceiros sexuais ou com a defesa de recursos, enquanto as intra-grupais envolvem coordenação intra-grupal ou alarme (OLIVEIRA e ADES, 2004).

Os sagüis possuem hábitos diurnos, são territoriais e demarcam seus territórios utilizando substâncias odoríferas produzidas por órgãos especializados (glândulas cutâneas de cheiro) e através da urina em alguns processos como aproximação de indivíduos que não fazem parte do grupo (ALONSO, 1984). Estes sinais informam os limites territoriais (CHARLES-DOMINIQUE, 1977; BARTECKI e HEYMANN, 1990; MERTIL-MILLHOLLEN, 2004), dominância (SCHILLING e PERRET, 1987), estado reprodutivo (EPPLÉ, 1986) e posição social do indivíduo no grupo (EPPLÉ, 1986; WALRAVEN e VAN ELSACKER, 1992).

Esses animais apresentam hostilidade com animais estranhos, mesmo que sejam da mesma espécie. Essa hostilidade tem sido interpretada pelos pesquisadores como defesa territorial, manutenção da exclusividade reprodutiva e integridade social (SUTICLIFFE e POOLE, 1984; ARAÚJO e YAMAMOTO, 1993). Existem indícios de que a formação de novos grupos pode ocorrer através da divisão de um grupo e de sua área de uso, ou também através de indivíduos que foram expulsos (STEVENSON e RYLANDS, 1988).

De um modo geral, podem-se dividir os períodos de vida dos primatas em infantil, juvenil e adulto. A infância é o período entre o nascimento e o fim do desmame (PEREIRA e FAIRBANKS, 1993; STRIER, 2003). Durante esse período os animais requerem cuidados diretos e indiretos, que podem ser fornecidos pelos membros dos grupos, tais como termorregulação, catação, defesa contra predadores e transporte (STRIER, 2003). No período juvenil os animais são capazes de lutar, brincar e se sociabilizar (PEREIRA e FAIRBANKS, 1993).

A alta taxa predatória e a instabilidade do meio levaram esses animais a possuírem características adaptativas, proporcionando aos Calitriquídeos respostas precisas a eventos estressores (JOHNSON *et al.*, 1996; SGAI, 2007).

Pela proximidade filogenética com os seres humanos, os calitriquídeos são objetos de estudo para avaliar aspectos relacionados ao desenvolvimento de doenças e parâmetros fisiológicos, além de serem utilizados como modelos

experimentais nas áreas de nutrição, farmacologia e toxicologia (CLARK, 1994; ABBOTT *et al.*, 2003).

Em trabalhos usando sagüi-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*), Jhonson *et al.* (1996) demonstraram que essa espécie apresenta diversas características que a tornaram modelo para estudo de estresse social, uma vez que apresentam e exibem resposta fisiológica e comportamental semelhante aos humanos em situações que induzem ansiedade (BARROS e TOMAZ, 2002).

1.2. Definição e Fisiologia do Estresse

O termo estresse vem do inglês “stress” e foi utilizado para indicar tensão, pressão ou insistência (CABRAL *et al.*, 1997, MAGALHÃES, 1998). HANS SELYE introduziu o termo “stress” no campo da saúde, em 1936, e utilizou-se deste para designar a resposta geral ou inespecífica do organismo a um estressor ou situação estressante (MARGIS, 2003; WIELEBNOWSKI, 2003). Ele definiu estresse como uma resposta inespecífica do corpo a qualquer demanda, independente de sua natureza. Esta resposta incluía uma série de reações fisiológicas que ele denominou de Síndrome da Adaptação Geral, que por sua vez é definida como um processo constante e contínuo, que requer mudança na estrutura, função ou comportamento de modo que o indivíduo esteja mais integrado com o ambiente (SMELTER *et al.*, 1996).

Três abordagens teóricas têm sido utilizadas para definir estresse (SMELTER *et al.*, 1996). Uma abordagem define estresse como resposta do corpo a situações desafiadoras. Outra abordagem define estresse como um estímulo ou a causa da resposta. A terceira abordagem define estresse como uma transação, que segundo Lazarus (1984), citado por Smelter *et al.* (1996), seria como “uma relação particular entre o indivíduo e ambiente, que é avaliado como prejudicial e que põe em risco o seu bem-estar”.

Segundo Margis *et al.* (2003), o termo estresse denota o estado gerado pela percepção de estímulos que provocam excitação emocional e que ao perturbarem a homeostasia, disparam um processo de adaptação,

caracterizado pelo aumento de adrenalina, produzindo diversas manifestações sistêmicas, com distúrbios fisiológicos e psicológicos (MARGIS *et al.*, 2003); portanto, o estresse representa uma resposta fisiológica para um grande desvio do esperado, capaz de perturbar o equilíbrio homeostático (MAGALHÃES, 1998; ANDRADE, 2002; SMITH, 2003; WIELEBNOWSKI, 2003). De qualquer modo, é evidente que quando um indivíduo encontra-se em situação de estresse, é provocada uma reação orgânica com a finalidade de adaptação e, conseqüentemente, sobrevivência. Por outro lado, poderão ocorrer alterações patológicas e até a morte por incapacidade de resposta do indivíduo ou por esgotamento dessa capacidade como, por exemplo, não poder fugir (MAGALHÃES, 1998).

Segundo Magalhães (1998), o estresse pode ser identificado em três formas ou graus; em primeiro lugar, o euestresse implica em estímulos que iniciam respostas benéficas ao organismo, incluindo alterações cardiovasculares, respiratórias, metabólicas, entre outras; o estresse neutro que através de estímulos pouco intensos, não causa dano ao animal e, por último, o diestresse que pode ser prejudicial ao animal, comprometendo a homeostase do organismo.

O estresse também pode ser classificado como agudo, que é o estado em que um organismo se apresenta após diminuição súbita na previsão e/ou controle de alterações relevantes. Nesse caso, os conflitos são curtos e de intensidade exagerada; ou ainda como estresse crônico, sendo este a resposta de um organismo quando alterações relevantes têm baixa previsão ou não são bem controladas por um longo período de tempo (ANDRADE, 2002).

A resposta à percepção do estresse é integrada no hipotálamo, o qual coordena os ajustes necessários para retornar ao equilíbrio homeostático. Nesta resposta, inicialmente há descarga do sistema nervoso simpático, seguida por uma reposta medulo-adrenal-simpática e, finalmente, se o estresse persistir, o sistema hipotalâmico-hipofisário é ativado (SMELTER *et al.*, 1996). A resposta do sistema nervoso simpático é rápida e de curta duração. A noradrenalina é liberada na terminação nervosa em contato direto com a respectiva terminação no órgão, causando um aumento na função dos

órgãos vitais e um estado de ativação do corpo em geral. A frequência cardíaca e a pressão arterial são aumentadas e ocorre vasoconstrição periférica.

Na resposta ao estresse, os impulsos são captados dos órgãos sensoriais (olhos, ouvidos e pele) e o sangue desviado para os órgãos abdominais e cérebro. O propósito destas atividades é fornecer melhor perfusão para os órgãos vitais (cérebro, coração e músculos esqueléticos). As pupilas dilatam-se e aumenta a atividade cerebral, existindo assim um sentido maior de consciência (SMELTER *et al.*, 1996).

O sistema nervoso simpático estimula a medula da glândula adrenal a liberar os hormônios adrenalina e noradrenalina na corrente sanguínea. A adrenalina e noradrenalina também estimulam o sistema nervoso e produzem efeitos que aumentam o nível de glicose e aumentam a taxa metabólica. Este efeito é chamado de reação de “luta e fuga” (SMELTER *et al.*, 1996).

A fase de reação mais longa da resposta fisiológica, que ocorre provavelmente com mais frequência no estresse crônico, envolve a via hipotalâmica-hipofisária. O hipotálamo secreta fator de liberação da corticotropina (CRF) que estimula a hipófise anterior a produzir o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O ACTH estimula o córtex adrenal a produzir glicocorticóides, principalmente cortisol, o qual estimula o catabolismo protéico, liberando aminoácidos, estimula o fígado a captar aminoácidos e a convertê-los em glicose e inibe a captação de glicose, ação esta denominada antiinsulina. Este efeito metabólico induzido pelo cortisol fornece ao corpo uma fonte imediata de energia durante uma situação estressante (SMELTER *et al.*, 1996); por outro lado, o cortisol passa a agir também no timo, causando danos ao sistema imunológico, que por sua vez aumenta a susceptibilidade a doenças (GIARDINI, 2002).

As ações das catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e cortisol são mais importantes nas repostas gerais ao estresse. Outros hormônios também são liberados durante o estresse, como por exemplo, o ADH (hormônio antidiurético) e aldosterona, que promovem a retenção de sódio e água, que é um mecanismo de adaptação no evento de hemorragia ou perda de líquidos; o

hormônio do crescimento e glucagon são secretados e estimulam a captação de aminoácidos pelas células, ajudando a mobilizar recursos energéticos; e a endorfina que melhora o limiar de tolerância ao estímulo doloroso (SMELTER *et al.*, 1996).

As causas que levam um indivíduo a uma situação de estresse foram denominadas por Hans Selye como sendo agentes estressores ou exigências que provocam uma resposta padronizada e não exclusivamente de natureza física, podendo ser emocional, como amor, alegria, ódio, raiva e medo.

Os agentes estressores podem ser classificados de várias maneiras. Kindlovits (1999) classifica os estressores em: somáticos (físico), psicológicos e comportamentais. Entre os somáticos estão incluídos sons, sinais visuais, odor estranho, contatos inesperados, calor, frio, pressão e efeitos de agentes químicos; dentre aqueles chamados de estressores psicológicos destacam-se a apreensão, ansiedade, medo, frustração, pavor, novidade e fatores sociais; e, por último, estão os comportamentais como isolamento, superpopulação, proximidade de animais de espécies antagônicas, fadiga de transporte, exercício muscular exaustivo, disputa territorial e/ou hierarquia entre animais de um mesmo grupo, modificação de ritmo biológico, jejum prolongado, presença ou não de fêmeas no grupo social e privação de água. Também foram classificados os agentes estressores no grupo de estímulos estressogênicos endógenos, ou seja, agentes que estão no organismo animal, comprometendo seu estado de saúde, tais como: dor, agentes infecciosos, parasitários, fúngicos, virais, distúrbios genéticos, metabólicos e auto-imunes, desnutrição, cirurgias, confinamento, toxinas, queimaduras, câncer e depressão (MAGALHÃES, 1988).

1.3. Neuroanatomia do Estresse

Para manter o equilíbrio homeostático o organismo utiliza dois sistemas: o sistema nervoso e sistema endócrino (SMELTER *et al.*, 1996; MAGALHÃES, 1988). As ações do sistema neural e hormonal são integradas pelo hipotálamo (SMELTER *et al.*, 1996), o qual está localizado na parte externa do encéfalo

(DYCE *et al.*, 1997), cercado pelo sistema límbico e hemisférios cerebrais. O hipotálamo e o sistema límbico regulam as emoções e vários comportamentos viscerais necessários à sobrevivência (SMELTER *et al.*, 1996).

O sistema límbico é dividido em três regiões (amígdala, hipocampo e neocortex) que estão diretamente relacionadas com a manifestação de emoções primárias, ligadas às expressões comportamentais instintivas de auto-preservação e sobrevivência das espécies, como defesa do território, reações de ataque e defesa, cuidados com a cria, entre outros. As emoções envolvidas nesses comportamentos são ligadas ao medo, ira, apego aos filhotes, sensação de bem-estar ou prazer, satisfação de necessidades fisiológicas como sede, fome e acasalamento, bem como sensação de desconforto ou sofrimento físico e mental, em situações adversas (PRADA, 1997).

A amígdala tem um papel chave não somente na agressão, mas também na motivação que permite o animal distinguir entre estímulos positivos (como recompensas) e estímulos negativos. No hipocampo uma comparação é feita entre as expectativas do animal e sua situação real, tanto sua posição no espaço e quanto sua posição pessoal (como estados sociais) (LAWRENCE e RUSHEN, 1993).

Outra área envolvida é a área pré-frontal ou neocortex, que consiste em uma área de aquisição evolutiva mais recente, sendo responsável pelo livre-arbítrio, capacidade de aprendizado, elaboração de estratégias, iniciativa, entre outras. Esta área encontra-se presente não apenas no homem, mas também em outros mamíferos como gato, cão e chimpanzé. Isso sugere que os animais têm funções mentais, embora mais acanhadas, tendo-se como referência o ser humano. Quando ocorrem lesões no neocortex os animais mostram, como sintomas, as chamadas alterações de comportamento e personalidade. Assim, tornam-se dementes e alheios aos estímulos do meio. Sintomas semelhantes podem ser evidenciados em animais estressados, sejam abandonados, maltratados, amedrontados, acuados ou aprisionados (LAWRENCE e RUSHEN, 1993; PRADA, 1997).

1.4. Estresse e o Sistema Imunológico

Um dos primeiros cientistas a demonstrar experimentalmente a ligação do estresse com o enfraquecimento do sistema imunológico foi Louis Pasteur, em 1822 (VILELA, 2006). Uma alteração precoce que se observa durante o estresse é o aumento nos níveis dos hormônios corticosteróides (cortisona) secretados pelas glândulas supra-renais.

Em estados de agressão, enquanto a córtex secreta cortisona, a medula da glândula também participa, liberando norepinefrina (noradrenalina). Nas situações estressoras de tensão e ansiedade a liberação medular privilegia a epinefrina (adrenalina). Vilela (2006) pode constatar em seu experimento, que macacos submetidos a estresse obtiveram um aumento dos níveis de 17-hidroxycorticóides, catecolaminas (epinefrina e norepinefrina), hormônio estimulador da tireóide e hormônio do crescimento, enquanto se observava um decréscimo dos hormônios sexuais, invertendo-se essa situação à medida que o animal se recuperava.

As catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) afetam as reações imunológicas, seja por reação fisiológica como contração do baço ou por estímulo de receptores específicos (adrenérgicos) na membrana celular, podendo inibir assim respostas de anticorpos. Portanto, as células do sistema imunológico encontram-se sob uma complexa rede de influência dos sistemas nervoso e endócrino (VILELA, 2006).

Estresse interno (infecções) e externo (psicológicos) pode ativar a liberação de citocinas como IL-1 (interleucina-1), que por sua vez, desencadeia fenômenos periféricos e centrais. Periféricamente ocorre liberação de citocinas pelos linfócitos, levando aumento de proteínas de fase aguda, liberação de cortisol pela adrenal e diminuição da atividade das células *natural Killer* (NK). O aumento de cortisol por sua vez, funciona como mecanismo de *feedback* negativo para inibir a resposta imunológica exacerbada iniciada pela cascata de citocinas (KRONFOL e REMICK, 2000).

A liberação de citocinas pró-inflamatórias pode alterar o comportamento e humor, levando ao aparecimento de uma “síndrome comportamental”

caracterizada por fadiga, mal estar, letargia, diminuição do apetite, anedonia e hipersonia, baixa concentração, hiperalgesia e desinteresse pelas atividades em geral. Este quadro ocorre tipicamente em indivíduos com infecções ou situações de estresse (KENT *et al.*, 1992).

Mediadores como neurotransmissores e hormônios diversos atuam sinergicamente com outros produtos linfocitários, macrófagos e moléculas de produtos inflamatórios na regulação de suas ações (VILELA, 2006). Os glicocorticóides e catecolaminas liberados durante uma situação de estresse modulam o sistema imunológico através de seus receptores específicos presentes nas células alvo (PADGETT e GLAZER, 2003).

O estresse apresenta um efeito diferencial na função imunológica. O estresse agudo promove uma imuno-estimulação, enquanto que o crônico desencadeia um processo de imunossupressão (DHABHAR e McEWEN, 1997).

Situações de estresse também podem influenciar parâmetros hematológicos do animal, como a contagem de leucócitos totais. Cunha *et al.* (2005) verificaram que em animais da espécie *Callithrix jacchus*, submetidos a situações de estresse agudo, tendem a apresentar aumento no número destas células. Boere (2005) verificou que não existem diferenças entre animais adultos e juvenis em relação ao número de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais, linfócitos, monócitos, eosinófilos e neutrófilos segmentados, em *Callithrix penicillata*.

Ao se avaliar o estresse deve-se utilizar mais do que um tipo de recurso, como alterações comportamentais, sintomas clínicos, parâmetros fisiológicos, indicadores bioquímicos, achados patológicos e indicadores imunológicos. Entre os parâmetros comportamentais que podem ser medidos estão incluídos a higiene pessoal, apetite (consumo hídrico e alimentar), atividade, agressividade, expressão facial, vocalização, aparência, postura e resposta ao manejo (ANDRADE, 2002). Entre os indicadores bioquímicos os mais utilizados são a dosagem de cortisol, imunoglobulinas e leucócitos (ANDRADE, 2002; SMITH, 2003).

A dosagem de cortisol fecal é uma técnica não invasiva que pode ser usada para medir a resposta ao estresse. Essa técnica foi utilizada com *Pan*

troglodytes (chimpanzé) utilizando como estímulo estressor a anestesia (WHITTEN *et al.*, 1998); além disso, a dosagem de corticosterona fecal em primatas é um parâmetro na avaliação do bem estar em programas de enriquecimento ambiental, pois primatas em cativeiro muitas vezes desenvolvem uma diminuição, ou mesmo eliminação de seus comportamentos naturais, que pode levar à eliminação da reprodução e às vezes ao óbito (HOHENDORFF, 2003).

Durante o estresse social agudo em macacos-de-cheiro, *Saimiri scureus* (Linnaeus, 1758), foi observado um aumento do percentual de neutrófilos segmentados seguidos de diminuição no percentual de linfócitos e elevação dos níveis de cortisol (COE e HALL, 1996). Cunha *et al.*, (2005) demonstraram que animais da espécie *Callithrix jacchus*, de ambos os sexos, apresentaram elevação na contagem global de leucócitos e de neutrófilos segmentados no sangue periférico, quando submetidos a uma situação de estresse agudo.

1.5. Estresse e Comportamento

Primatas não-humanos submetidos a estresse tendem a desenvolver uma série de alterações comportamentais (CUNHA *et al.*, 2005), como aumento do comportamento auto-direcionado (catação, toque e coçar), o qual serve como indicador de estresse e ansiedade (HOHENDORFF, 2003).

Glatston *et al.* (1984), estudando dois grupos familiares de *Saguinus oedipus oedipus* em jardim zoológico, um exposto ao público e o outro não, perceberam que o grupo exposto apresentava um maior contato físico entre seus membros e maior agressividade dos pais com os filhotes, com conseqüente aumento da mortalidade infantil. Bayne e Novak (1998) reportam alterações imunológicas semelhantes às encontradas em humanos estressados e em filhotes de micos-de-cheiro separados abruptamente de seus pais, assim como desvios comportamentais surgidos com o isolamento de animais já adultos. Estudos revelam que a qualidade do ambiente social e comportamental tem efeitos diretos sobre o funcionamento do sistema imune (SNOWDOWN, 1996).

Primatas não humanos ficam agitados, vocalizam mais e tem seus níveis de cortisol aumentados quando separados de seus grupos ou de suas crias (LEVINE *et al.*, 1993; CHAMPOUX e SUOMI, 1994).

Os primatas do gênero *Alouatta* sp tem sido mantidos em cativeiro com dificuldades devido à má adaptação da espécie, desenvolvendo quadros de anorexia, inanição, úlceras gástricas, infecções secundárias e morte. Baixas taxas reprodutivas também são registradas nesta espécie, devido ao estresse crônico. Outros primatas apresentam comportamentos estereotipados e automutilação em virtude de um ambiente pouco atrativo (HOHENDORFF, 2003). Acredita-se que esse tipo de comportamento estereotipado ajude o animal a se isolar mentalmente de ambientes com elevado grau de estresse (DEL CLARO e FABIO, 2003), regulando o grau de excitação ou estimulação, ou aumentando a previsibilidade do ambiente (CELLOTTI, 1986).

Em zoológicos o meio social dos animais está modificado, a densidade e composição das populações, bem como a reprodução, são condicionadas pelo manejo (ZECCHINI, 2002). Sendo assim, o cativeiro por si só é um fator limitante ao animal e algumas espécies não conseguem adaptar-se à vida cativa, desenvolvendo a chamada “síndrome da má adaptação”, onde os animais iniciam um processo de anorexia que pode levá-los à morte (FEDULLO, 2001).

Ao longo do século XIX, o aparecimento de jardins zoológicos em diversas cidades européias e americanas, despertou um crescente interesse da sociedade pelos animais silvestres. Entretanto, este interesse não foi acompanhado por uma preocupação com o bem-estar animal, promovendo a morte de centenas de milhares de animais (KOEBNER, 1994).

No início do século XX conseguir animais da natureza se tornou mais difícil, pois muitas espécies ficaram escassas devido à caça exagerada; além disso, o governo de alguns países passou a exigir pagamento para a liberação dos animais, forçando os zoológicos a se preocuparem em manter o bem-estar de seus animais e, conseqüentemente, fazendo com que estes tivessem um maior tempo de vida em cativeiro (KOEBNER, 1994).

O bem estar animal é definido como um completo estado de saúde física e mental, em que o animal encontra-se em harmonia com seu meio ambiente (MOLENTO, 2003); sempre que ocorre uma situação de estresse esse bem-estar fica prejudicado (BROOM e MOLENTO, 2004).

Magalhães (1998) demonstrou que animais expostos a um esforço desencadeado por um estímulo percebido como ameaçador à homeostase, seja ele físico, químico ou psicossocial, tendem a responder de forma uniforme e inespecífica, anatômica e fisiologicamente. Esse conjunto de reações inespecíficas, na qual o organismo participa como um todo foi denominado de Síndrome Geral da Adaptação (CABRAL *et al.*, 1997; WIELEBNOWSKI, 2003), que consiste em três fases: reação de alarme, fase de resistência e fase de exaustão (MOBERG, 1985; CABRAL *et al.*, 1997).

1.5.1. Fases da Síndrome Geral da adaptação

a. Reação de Alarme

A reação de alarme subdivide-se em dois estados, a fase de choque e fase de contrachoque, tendo poucos estudos sobre esta última fase (BALLONE, 1999).

O sistema nervoso autônomo participa ativamente no conjunto das alterações fisiológicas durante a fase de reação de alarme. Este controla todo o meio interno do organismo, pela ativação e inibição dos diversos sistemas, vísceras e glândulas. Durante a fase de choque predomina a atuação de uma parte do sistema nervoso autônomo chamado de sistema simpático, que proporciona descargas de adrenalina da medula da glândula adrenal e noradrenalina das fibras pós-ganglionares para a corrente sanguínea. Ainda durante o momento em que está havendo estimulação estressante aguda (fase de choque da reação de alarme), uma parte do sistema nervoso central, denominado hipotálamo, promove a liberação de um hormônio (CRF), que por sua vez, estimula a hipófise a liberar outro hormônio, o ACTH, que uma vez estando na corrente sanguínea estimulará as glândulas supra-renais a secretar

corticóides. Desaparecendo os agentes estressores, todas essas alterações tendem a se interromper e regredir; porém, se por alguma razão o organismo continuar sob a estimulação estressante, este é obrigado a manter seu esforço de adaptação. Então, uma nova fase acontecerá denominada de fase de resistência (BALLONE, 1999).

b. Fase de Resistência

A Fase de Resistência ocorre quando o indivíduo tenta se adaptar à situação em que vive, procurando restabelecer um equilíbrio interno e assim, recuperar-se do desequilíbrio sofrido na fase de alarme (CORRÊA e MENEZES, 2002). A Fase de Resistência se caracteriza, basicamente, pela hiperatividade da glândula supra-renal sob influência do diencéfalo, hipotálamo e hipófise. Nesta fase, mais crônica, há aumento no volume da adrenal, concomitante a atrofia do baço e estruturas linfáticas, com contínuo aumento dos glóbulos brancos do sangue (leucocitose). Se os estímulos estressores continuam, tornando-se crônicos e repetitivos, a resposta começa a diminuir de intensidade, levando o organismo para a terceira fase, a fase de exaustão (BALLONE, 1999).

c. Fase de Exaustão

Esta fase ocorre quando começam a falhar os mecanismos de adaptação e há um “déficit” das reservas de energia. A maioria dos sintomas somáticos e psicossomáticos fica mais exuberante nessa fase. As modificações biológicas que aparecem nessa fase se assemelham aquelas da reação de alarme, mais precisamente às da fase de choque. Mas, nesta fase o organismo já não é capaz de equilibrar-se por si só, ocorrendo falência adaptativa (BALLONE, 1999).

1.6. Estresse e Nutrição

Existe uma relação estreita entre nutrição, bem-estar, imunidade e estresse. O estado nutricional tem grande influência no crescimento, capacidade reprodutiva e longevidade dos animais, bem como na sua habilidade em resistir a estresses ambientais e agentes patogênicos (KNAPKA *et al.*, 1995).

Uma das dificuldades em se estabelecer as necessidades nutricionais de símios reside no fato das mesmas serem dinâmicas, sendo afetadas não apenas pela espécie animal, mas também pela idade, sexo, status reprodutivo, condição de saúde, características ambientais, dentre outros. Além disso, diversos nutrientes interagem entre si quando são administrados ao mesmo tempo, aumentando a complexidade da elaboração de dietas completas (KNAPKA *et al.*, 1995).

Um alimento balanceado adequadamente, destinado a alimentação animal é nutricionalmente completo quando reduz o estresse, minimiza deficiências e melhora a competência imunológica (BUTOLO, 1998). O estabelecimento de dietas adequadas a cada uma das espécies de primatas não-humanos é fundamental para que se assegure o bem estar desses animais em cativeiro (KNAPKA *et al.*, 1995).

1.7. Própolis

Etimologicamente, a palavra própolis, de origem grega, significa: pró = em defesa, e polis = cidade. As abelhas a utilizam para vedar frestas, recobrir superfícies irregulares ou insetos e eventuais invasores que morrem no interior da colméia, com a finalidade de evitar sua decomposição (KOSONOCKA, 1990). Mobus (1972) relatou que a própolis está relacionada à vedação da colméia e ao bloqueio da ventilação, chegando a tal conclusão após observar que as abelhas podem ou não utilizá-la, de acordo com as condições geográficas e climáticas em que se encontram.

As abelhas elaboram a própolis a partir de secreções de árvores, flores e folhas, recebendo ainda a adição de substâncias secretadas pelo metabolismo glandular das abelhas (BURDOCK, 1998). Villanueva *et al.* (1970) compararam substâncias encontradas na própolis com o material existente na resina de algumas árvores e evidenciaram que a própolis se origina destas substâncias. As resinas são misturas complexas de terpenos, flavonóides e substâncias gordurosas e sua produção está ligada ao crescimento vegetativo das plantas, que é promovido por um hormônio, a giberelina, que é um terpenóide; assim resinas em grandes quantidades são secretadas pelas plantas durante o crescimento de ápices vegetativos de folhas, caules ou troncos, antes da floração (BASTOS, 1998).

A própolis possui tons que variam do amarelo-esverdeado, passando pelo marrom-avermelhado ao negro. É um material elástico que pode distender-se em até 200% antes de romper-se, apresentando 1/11 da rigidez da cera. Este material lipofílico apresenta aroma forte e característico, em consequência de uma fração volátil de ácidos fenólicos. Possui fortes propriedades adesivas, representando um conjunto complexo de substâncias (55% de resinas e bálsamos; 30% de ceras; 10% de óleos voláteis e cerca de 5% de pólen) (BANKOVA *et al.*, 2000).

Estudos realizados mostram que mais de trezentas substâncias foram identificadas em amostras de própolis, com predominância de flavonóides (flavonas, flavonóis, flavanonas), das quais se destacam: galangina, crisina, tectocrisina, pinocembrina, campferol e quercetina, bem como os aldeídos aromáticos (vanilina e isovanilina), cumarinas, ácidos fenólicos (ácido caféico, ferúlico, cinâmico e cumárico), ácidos orgânicos (ácido benzóico) e alguns oligoelementos, tais como: alumínio, vanádio, ferro, cálcio, silício, manganês, estrôncio, e vitaminas B1, B2, B6, e C (BANKOVA *et al.*, 1998; BANKOVA *et al.*, 2000; MARCUCCI *et al.*, 2001).

A produção da própolis é uma propriedade inata das abelhas e diversos fatores estão envolvidos neste processo e devem ser observados quando se busca um aumento de produtividade. Dentre estes fatores estão a sazonalidade e tipo de coletor utilizado (ITAGIBA *et al.*, 1994; BREYER 1995;

MOURA, 2001). A sazonalidade possui grande influência na atividade de coleta de própolis pelas abelhas. Os padrões sazonais observados têm sido explicados, principalmente, pelas variações da temperatura, insolação, intensidade luminosa, umidade relativa e precipitação, além de outros fatores (KERR *et al.*, 1992).

A composição da própolis é determinada principalmente pelas características fitogeográficas existentes ao redor das colméias (KUMAZAWA *et al.*, 2004); entretanto, a composição da própolis também varia sazonalmente em uma mesma localidade (SFORCIN *et al.*, 2000). Variações na composição também foram observadas entre amostras de própolis coletadas em uma mesma região, por diferentes raças de *Apis mellifera* L. (SILICI e KUTLUCA, 2005).

Analizando as possíveis fontes vegetais da própolis produzida em Botucatu, SP, BANKOVA *et al.* (1999) relataram que a própolis origina-se, em sua maior parte, de *Baccharis dracunculifolia*, conhecida popularmente como “Vassourinha”, bem como de *Araucaria angustifolia* (“Pinheiro do Paraná”) e *Eucalyptus citriodora*. Já com relação à própolis produzida na Bulgária, BANKOVA *et al.* (1992) evidenciaram que este produto origina-se principalmente de *Populus nigra*. Estes relatos merecem destaque, uma vez que, em função da flora local, alguns componentes químicos podem ser encontrados em menor ou maior concentração, ou mesmo estarem ausentes em uma das amostras, podendo refletir em atividades biológicas diferentes. Para o ser humano, a própolis pode ser utilizada no combate a diversas patologias, sendo amplamente utilizada como antibacteriana, antiviral, antitumoral, antifúngica, antioxidante, imunomoduladora, entre outras atividades (AMOROS *et al.*, 1990; DOBROWOLSKI *et al.*, 1991; ORSI *et al.*, 2000; CASTRO, 2001; SFORCIN *et al.*, 2005; ORSI *et al.*, 2005; ORSI *et al.*, 2006).

Com relação ao sistema imunológico, Scheller *et al.* (1989) verificaram a propriedade imunorrestauradora da própolis, através da ativação de granulócitos e normalização da porcentagem de linfócitos T e nível de imunoglobulinas, sugerindo o importante efeito terapêutico deste produto.

Scheller *et al.* (1988) verificaram que o extrato etanólico de própolis estimula a formação de anticorpos por células esplênicas de camundongos BALB/c imunizados com hemácias de carneiro, sugerindo a associação desta atividade imunoestimulante com a ativação de macrófagos, aumento de sua capacidade fagocítica e produção de citocinas, regulando as funções das células B e T.

Sforcin (2000), avaliando o efeito deste apiterápico sobre a ativação de células *natural killer* (NK) contra células tumorais, observou que a administração de própolis a ratos, durante 3 dias, induz aumento na atividade lítica de células NK, quando comparada com a do grupo controle. Este achado reforça a afirmação prévia de Scheller *et al.* (1988), os quais sugeriram que este apiterápico atua sobre o sistema imune a curto prazo, após sua administração.

Em algumas infecções bacterianas a própolis pode apresentar ação moduladora sobre a imunidade inespecífica, principalmente na ativação de macrófagos (DIMOV *et al.*, 1991). Orsi *et al.* (2000) verificaram que, em macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c, o extrato hidroalcoólico de própolis causa discreta elevação na liberação de água oxigenada (H₂O₂) e moderada inibição na geração de óxido nítrico (NO), sugerindo ação na imunidade não-específica, através da ativação de macrófagos.

A própolis estimula a produção de citocinas, como IL-1 e TNF, por macrófagos peritoneais de camundongos, as quais, além de indicarem o estado de ativação destas células, podem controlar a síntese de componentes do sistema complemento. A própolis modula, tanto *in vivo* como *in vitro*, a produção do componente C1q em macrófagos, bem como a função dos receptores do complemento nestas células, diretamente ou via citocinas (DIMOV *et al.*, 1991; DIMOV *et al.*, 1992). Além disso, sua influência sobre a população de leucócitos polimorfonucleares, cujo número e atividade metabólica apresentam-se elevados após tratamento com própolis, ilustram sua ação imunoestimulante e os efeitos multidirecionais deste produto apícola. Um grande problema em relação ao efeito imunomodulador da própolis é determinar o protocolo experimental. Várias pesquisas estão sendo realizadas

utilizando diferentes concentrações de própolis *in vivo* e *in vitro* assim como diferentes extratos, períodos e vias de administração (SFORCIN, 2007).

Para primatas não-humanos não existem trabalhos em literatura científica sobre o uso da própolis na nutrição e seus benefícios terapêuticos. Entretanto, trabalhos utilizando outras espécies de animais comprovam a eficácia do produto.

A aplicação oral da emulsão aquosa de própolis (10%) foi testada por Sanchez e Galardi (1989) em 60 leitões desmamados. Estes autores observaram que os animais tratados tiveram um maior ganho de peso, resultado de uma ação estimulante da própolis sobre o apetite dos animais, como consequência de uma melhora na resposta imunológica dos mesmos após o consumo da solução. Coloni *et al.* (2007) afirmaram que a utilização da própolis em rações de leitões e frangos de corte melhorou o ganho de peso diário em 41 e 18% respectivamente, quando comparados aos animais que não receberam própolis. Esses autores concluíram ainda que a própolis preveniu desordens digestivas e proporcionou melhor conversão alimentar.

As criações de primatas em cativeiro enfrentam uma série de desafios. Entre estes estão incluídos os padrões comportamentais da espécie que se desenvolveram de forma a promover a adaptação do animal durante o seu processo evolutivo (VAN HOOFF, 1986).

Sendo assim produtos naturais, como a própolis, podem ser acrescentados na dieta de animais no sentido de promover uma melhora no seu bem estar geral.

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram avaliar o efeito da própolis sobre parâmetros comportamentais (brincadeiras social e lúdica, vocalização, catação e deslocamento), parâmetros hematológicos (leucócitos totais e hematócrito), peso corporal e proteínas plasmáticas em saguis *Callithrix* sp mantidos em cativeiro e submetidos ao estresse intruso x residente.

De acordo com as normas do curso de pós-graduação em Zootecnia esta dissertação é apresentada em forma de capítulos, sendo:

Capítulo 2: Própolis na dieta de *Callithrix* sp submetidos ao estresse em cativeiro: peso e aspectos comportamentais. De acordo com as normas da revista International Journal of Primatology

Capítulo 3: Ação da própolis sobre proteínas do soro e aspectos hematológicos em sagüis (*Callithrix* sp) submetidos ao estresse em cativeiro. De acordo com as normas da revista International Journal of Primatology.

Capítulo 4: Implicações

1.8. Referências Bibliográficas

ABBOTT, D. H. et al. Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. **Comparative Medicine**, Madison, v. 53, n. 4, p. 339-350, 2003.

ABBOTT, D. H.; SALTZMAN, W.; SCHULTZ-DARKEN, N. Reproductive consequences of social subordination in female callitrichid primates. In: American association of zoo veterinarians annual, Puerto Vallarta, **American Association of Zoo Veterinarians**, p.194-198, 1996.

AGUIAR, L., et al. Dieta, área de vida, vocalizações e estimativas populacionais de *Alouatta guariba* em um Remanescente Florestal no Norte do Estado do Pará. **Neotropical Primates**, Belém, v.11, n.2, p. 78-89, 2003.

ALONSO, C. Observações de campo sobre o cuidado à prole e o desenvolvimento dos filhotes de *Callithrix jacchus jacchus*. In: Mello, T. **A primatologia no Brasil**. Brasília- DF: Sociedade Brasileira de Primatologia, 1984. p. 67-78.

ALBUQUERQUE, A. C. S. R.; LIMA, C. C. F. L.; SOARES, J. Análise preliminar do comportamento de catação do macho reprodutor do sagüi (*Callithrix jacchus*) em relação à fêmea durante a gestação pós-parto no ambiente da caatinga. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 8º., 2007, Caxambu. **Anais...** Caxambu: 2007. p. 1-2.

AMOROS, M., LURTON, E., BOUSTIEL, J. Comparison of the NTI-Herpex simplex virus activities of propolis and 3-Ethyll-But-2-Enyl-Caffeate. **Journal Natural Proakts**, v.5, n.57, p. 644-7, 1990.

ANDRADE, A. **Animais de laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2002. 386p.

ARAÚJO, A.; YAMAMOTO, M. E. Reação a intrusos da mesma espécie em *Callithrix jacchus*: influência do status social. In: YAMAMOTO, M. E. & SOUSA, M. B. C. (Eds). **A primatologia no Brasil**. Natal: Editora Universitária, 1993. p.15-34.

AURICCHIO, P. **Primatas do Brasil**. São Paulo: Terra Brasilis, 1995. 168p.

BALLONE, G. J. Curso sobre estresse: Porto Velho **PsiquWeb Psiquiatria Geral**; 1999. Disponível em:
<<http://www.psiqweb.med.br/cursos/stress1.html>>. Acesso em: 15 abr. 2008.

BANKOVA, V., BOUDOUROVA-KRASTEVA, G., SFORCIN, J.M., FRETE, X., KUJUMGIEV, A., MAIMONI-RODELLA, R., POPOV, S. Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from São Paulo State. **Z. Naturforsch.**, v.54c, p.401-5, 1999.

BANKOVA, V., DYULGEROV, A., POPOV, S., EVSTATIEVA, L., KULEVA, L., PUREB, O., ZAMJANSAN, Z. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia phenolic compounds and plant origin. **Apidologie**, v.23, p.79-85, 1992.

BANKOVA, V. S.; POPOV, S. S.; MAREKOW, N. L. On the chemical composition of some própolis fractions with antiviral action. **Acta Microbiology Bula**, v. 23, p. 52-57, 1998.

BANKOVA, V. S.; CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Própolis: Recent advances in Chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.

BARROS, M.; TOMAZ, C. Non-human primate models for investigating fear and anxiety. **Neuroscience Biobehavior**, v. 26, p. 187-201, 2002.

BASTOS, E.M. Grão de pólen e estruturas secretoras de plantas como indicadores de origem botânica do mel e da própolis. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 12º., 1998, Salvador. **Anais...** Salvador: UESC, 1998. p. 71-72.

BARTECKI, U.; HEYMANN, E. W. Field observations on scent-marking behavior. **Jornal de Zoologia**, v. 220, p. 87-99, 1990.

BAYNE, K.; NOVAK, M. Behavior disorders. In: BENNETT, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. **Nohuman primates**. San Diego: Academic, 1998. p. 485-500.

BOERE V. et al. Comparison between sex and age class on some physiological, thermal, and hematological indicecs of cerrado's marmoset (*Callithrix penicillata*). **Medicine Primatological**, v. 34, p.156-162, 2005.

BREYER, H. F. E. Aspectos de produção, coleta, limpeza, classificação e acondicionamento de própolis bruta de abelhas *Apis mellifera*. In: SIMPÓSIO ESTADUAL DE APICULTURA DO PARANÁ, 7º., 1995, Prudentópolis. **Anais...** Prudentópolis: 1995. p. 143.

BROOM, D. M.; MOLENTO, C. F. M. Animal welfare: concept and related issues review. Archives of Veterinary **Science**, v. 4, n. 2, p. 1-11, 2004.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 347-63, 1998.

BURGHART, G. M. The evolutionary origins of play revisited: Lessons from turtles. In: Beckoff, M.; Byers, J. (orgs.), **Animal play: Evolutionary, comparative, and ecological perspectives**. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. p. 1-26.

BUTOLO, J. E. Agentes antimicrobianos em rações de aves e suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu, SP. **Anais...** Botucatu: SBZ, 1998. p. 237-254.

CABRAL, A. P. T.; LUNA, J. F.; SOUZA, K. N. O. Estresse e as Doenças Psicossomáticas. **Revista de Psicofisiologia**, n. 1, p. 4, 1997.

CAINE, N. G. Flexibility and cooperation as unifying themes. In: **Saguinus organization and behavior: The role of predation pressures**, p. 200-219. Oxford: Oxford University Press, 1993. p. 200-219.

CASTRO, S. L.; et al. Phenolics compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal Ethnopharmacol**, v. 74, p. 105-112, 2001.

CELOTTI, S. **Guia para o enriquecimento das condições ambientais do cativeiro**, São Paulo: Sociedade Zoófila Educativa, 84p. 1986.

CHAMPOUX M.; SUOMI S.J. Behavioral and adrenocortical responses of rhesus macaque mothers to infant separation in an unfamiliar environment. **Primates**, v. 35, p. 191-202, 1994.

CHARLES-DOMINIQUE, P. Urine marking and territoriality. **Zeitschrift Für Tierpsychologie**, v. 43, p. 113-38, 1977.

CLARK, J. M. The common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Anzccart News**, v. 7, n. 2, p. 1-8, 1994.

COE, C. L.; HALL, N. R. Psychological disturbance alters thymic and adrenal hormone secretion. **Psychoneuroendocrinology**, v. 21, p. 237-47, 1996.

COLONI, R. D. et al. Extrato etanólico de propolis sobre ganho de peso, parâmetros de carcaça e PH cecal de coelhos em crescimento. **Biotemas**, v. 20, n. 2, p. 59-64, 2007.

CORRÊA, S. A.; MENEZES, J. R. M. **Estresse e trabalho**. Campo Grande: Editora MS, 2002.

CUNHA, S. et al. Variação na contagem de leucócitos em *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) submetidos a uma situação de estresse agudo. **Revista Brasileira de Zoociência**, v. 7, p. 217-29, 2005.

DEL-CLARO, K.; FÁBIO, P. As distintas faces do comportamento animal. **Sociedade Brasileira de Etologia**, v. 6, p. 64, 2003.

DHABHAR, F. S.; McEWEN, B. S. Acute stress enhances while chronic stress suppress cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leucocytes trafficking. **Brain, Behavior and Immunity**,v. 1, p. 286-306, 1997.

DIMOV, V. et al. Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function. **Apologie**,v. 22, p. 155-62, 1991.

DIMOV V.; IVANOVSKA N.; BANKOVA V. Immunomodulatory action of propolis: IV. prophylactic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative. **Vaccine**,v. 10, p. 817-823, 1992.

DIXSON, A. F. Callitrichidae mating systems: laboratory and field approaches to studies of monogamy and polyandry. In: RYLANDS, A.R. **Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology**. Oxford: Oxford University Press, p. 164-175, 1993.

DOBROWOLSKI, et al. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **Journal of Ethnopharmacology**,v. 35, p. 77-82, 1991.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 650p.

ERWIN, J.; SACKETT, G. P. Effects of managements methods, social organization, and physical space on primate behavior and health. **American Journal of Primatology**, v. 20, p. 23-30, 1990.

EPPLE, G. Communication by chemical signals. In: MITCHELL, G.; ERWIN, J. (Eds.) **Comparative primate biology: behavior, conservation and ecology**. New York: Alan R. Liss, 1986. p. 531-580.

FEDULLO, D. **Clínica de animais silvestres: répteis, primatas e felinos**. In: ANCLIVEPA, Porto Alegre: blackwell publishing, 2001. 536p.

FERRARI, S. F. A vida secreta dos sagüis. **Ciência Hoje**,v. 20, n. 119, p.18-25, 1996.

GIARDINI, G. Dossiê: o surto por um fio. **Revista Galileu**,p. 42-5, 2002.

GLATSTON, A. R. et al. The influence of the zoo environment on social behavior of groups of cotton-topped tamarins, *Saguinus oedipus Oedipus*. **Zoo Biology**,v. 3, n. 3, p. 241-253, 1984.

HOHENDORFF, R.V. **Aplicação e avaliação de enriquecimento ambiental na manutenção de bugio (*Alouatta spp* LACÉPEDE, 1799) no Parque Zoológico de Sapucaia do Sul-RS**. 205 f. 2003. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

INGRAM, J. C. Interactions between parents and infants and the development of independence in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Animal Behaviour**, v. 29, p. 811-827, 1977.

ITAGIBA, M. G. O. R.; CRESPI, M. P. A.; COLLI, J. F. C. Estudo da produção de própolis em colônias de abelhas africanizadas. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 19º, 1994, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: 1994. p. 272

JHONSON, E. O.; KAMILARES, T. C.; CARTER, C. S. The biobehavioral consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). **Society Biological Pshychosomatic**, v. 40, p. 317-337, 1996.

KENT, S. et al. Sickkness behavior control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. **Physiology**, v. 11, p. 475-489, 1992.

KERR, W. E.; GONÇALVES, L. S.; BLOTTA, L. F. Biologia comparada entre as abelhas italianas (*Apis mellifera ligustica*), africanizadas (*Apis mellifera adonsonii*) e suas híbridas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 1º, 1992, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Apimondia, 1992, p. 151-185.

KINDLOVITS, A. **Clínica e terapêutica em primatas neotropicais**. Juiz de Fora: Editora UFJF, 1999. v. 7, p. 31-32.

KNAPKA, J. J.; BARNARD, D. E.; BAYNE, K. A. L. Nutrition. In: BENNETT, B. T.; ABEE, C. R.; HENRICKSON, R. **Nohuman primates in biomedical research: biology and management**. San Diego: Academic Press, 1995. p. 211-248.

KOEBNER, L. **Zoo: The evolution of wildlife conservation centers**. New York: A forge Book, 1994. 192p.

KOSONOCKA, L. Própolis fortalece o sistema imunológico. **Revista Brasileira de Apicultura**, p. 22-24, 1990.

KRONFOL, Z.; REMICK, D. G. Citokines and the brain: Implications for clinical psyquiatry. **American Journal Psyquiatry**, v.157, p.683-694, 2000.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemical**,v. 84, n. 3, p. 329-339, 2004.

LAZARO-PEREA, C. Behavioral and demographic changes following the loss of the breeding female in cooperatively breedings marmosets. **Behavioral Ecology and Sociobiology**,v. 48, p. 137-146, 2000.

LAZARUS, R. S. On the primacy of cogniti. **American. Psychology**,v. 2, n. 39, p.124-9, 1984.

LAWRENCE, A. B.;RUSHEN,J. **Stereotypic. animal behaviour-** fundamentals and applications to welfare. Edinburgh: CAB International, 1993. 212p.

LEVINE, S.; WIENER, S. G.; COE, S. L. Temporal and social factors influencing behavioral and hormonal responses to separation in mother and infant squirrel monkeys. **Psychoneuroendocrinology**,v.18, p. 297-306, 1993.

MAGALHÃES, H. M. **Farmacologia veterinária:** temas escolhidos. Guaíba : Agropecuária, 1998. 34p.

MARCUCCI, M. C. et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. **Journal of Ethnopharmacology**,v. 74, p. 105-112, 2001.

MARGIS, R.; PICON, P. ; COSNER, A. F. Relação entre estressores, estresse e ansiedade. **Revista de Psiquiatria**, Porto Alegre, p. 65-74, 2003. Suplemento 1.

MERTL-MILLHOLLEN, A. S. Territorial scent marking by two sympatric lemur species. In: DURVALL, M.; MULLER-SCHWARZE, D.; SILVERSTEIN, S. **Chemical signals in vertebrates**. New York: Plenum Press, 2004. p. 647-652.

MIRANDA, G. H. B. **Aspectos da ecologia e comportamento do mico-estrela (*Callithrix penicillata*) no cerradão e cerrado denso da Área de Proteção Ambiental (APA) do Gama e Cabeça de Veado-DF.** 1997. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade de Brasília, Brasília- DF, 1997.

MOBERG, G. P. **The biology of animal stress:** basic principles. California: CABI Publishing, 1985. 377p.

MOBUS, B. The importance of propolis to honey bee. **Brit Bee Journal**,v. 19, n. 8, p. 198-199, 1972.

MOLENTO, C F. M. Medicina veterinária e bem-estar animal. **Revista CFMV**,n. 28 / 29, p. 15–20, 2003.

MORTON, E.S. On the occurrence and significance of motivation-structural rules in some bird and mammal sounds. **The American naturalist**, v. 111, p. 855-869, 1997.

MOURA, L. P. P. **Longevidade, produção de própolis e áreas de desenvolvimento de colméias de *Apis mellifera* africanizada, submetida a quatro técnicas de coleta, em quatro períodos do ano.** 2001. 111 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.

OLIVEIRA, C.R. et al. Play Behavior in Juvenile Golden Lion Tamarins (Callitrichidae: Primates): Organization. In: Relation to Costs. **Ethology**, v. 100, p. 593-612, 2005.

OLIVEIRA, D.A.G; ADES, C. Long-distance calls in Neotropical primates. *Anais da Academia Brasileira de Ciência*, v. 76, p. 393-398, 2004.

ORSI, R. O. et al. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 6, p. 205-19, 2000.

ORSI, R. O. et al. Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. **International Immunopharmacol**, v. 2, n. 5, p. 359-368, 2005.

ORSI, R. O. et al. Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella* Typhi. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 37, p. 108-112, 2006.

PADGETT, D.A.; GLAZER, R. How stress influences the immune response. **Trends Immunology**, v.24, p.444-448, 2003.

PEREIRA, M. E.; FAIRBANKS, L. A. What are juvenile primates all about? In: Building, E. R., **Juvenile primates: life history: development, and behavior.** New York: Oxford University Press, 1993. p. 3-12.

PRADA, I. L. S. **A alma dos animais.** Campos do Jordão, SP: Mantiqueira, 1997.

RIBEIRO, D.P. **Padrão de atividades e interações sociais de animais juvenis em dois grupos selvagens de *Callithrix jacchus*.** 2007. 83 f. Dissertação (Mestrado em Psicobiologia) - Universidade federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2007.

ROTHER, H.; DARMS, K. The social organization of marmosets: A critical evaluation of recent concepts. In: RYLANDS, A. R. **Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology.** Oxford: University Press, 1993. p. 176-199.

RYLANDS, A. B.; FARIA, D. S. Habitats, feeding ecology, and home range size in the genus *Callithrix*. In: RYLANDS, A. R. **Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology**. Oxford: University Press, 1993. 396 p.

RYLANDS, A. B. et al. An assessment of the diversity of New World Primates. **Neotropical Primates**,v. 8, n. 2, p.61-93, 2000.

SANCHEZ, M.; GALARDI, R. Influencia del propoleo en la conversión de lechones destetados. In: ASIS, M. **Investigaciones cubanas sobre el propoleo: memorias del 10 simposio sobre los efectos del propoleo en la salud humana y animal**. Varadero: Matanzas, Consejo Científico del Instituto de Medicina Veterinária, 1989. p. 211 -214.

SHELLER, S.; GAZDA, G.; PIETZ, G. The ability of ethanolic extract of propolis to stimulate plaque formation in immunized mouse spleen cells. *Pharmacological Research Community*,v. 20, p. 323-328, 1988.

SHELLER, S.; ALEKSANDROWICKZ, J.; NIKODEMOWICZ, E. Trials of immunoregulation in patients with chronic bronchitis. **Immunology**,v. 14, p. 304-305, 1989.

SCHILING, A.; PERRET, M. Chemical signals and reproductive capacity in a male prosimian primate (*Microcebus murinus*). **Chemical Senses**,v. 12, p. 143-158, 1987.

SFORCIN, J. M. et al. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**,v. 73, n. 1/2, p. 243-249, 2000.

SFORCIN, J. M.; ORSI, R. O.; BANKOVA, V. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 301-305, 2005.

SFORCIN, J. M. Propolis and the immune system: a review. **Journal of Ethnopharmacology**,v. 113, p. 1-14, 2007.

SGAI, M. G. F. F. **Avaliação da influência das técnicas de enriquecimento ambiental nos parâmetros endócrinos e comportamentais de *Callithrix penicillata* (sagui-de-tufos-pretos) mantidos em estabilidade social e isolados**. 2007. 107 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, 2007.

SILICI, S.; KUTLUCA. S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **Journal of Ethnopharmacology**,v. 99, n. 1, p. 69-73, 2005.

SMEALTER, S. C.; BARE, B. G.; BRUNNER, S. **Tratado de enfermagem médico-cirúrgica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. v. 1.

SMITH, T. **Monitoring stress in zoo Animals, zoo research guidelines.** London: Federation of Zoological Gardens of Great Britain and Ireland, 2003.

SNOWDON, C. T. O. Significado da pesquisa em Comportamento Animal. **Estudos Psicológicos**, v. 4, n. 2. p. 365-373, 1996.

STEVENSON, M. F.; RYLANDS, A. B. The marmosets, Genus *Callithrix*. In: MITTERMEIER, R. A.; COIMBRA FILHO, A. F.; FONSACA, G. A. B. **Ecology and behavior of neotropical primates.** New York: World Wild Life Funde, 1988. v. 2, p. 131- 222.

STRIER, A. I. Foraging Ontogeny is not linked to delayed maturation in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). **Ethology**, v. 112, p. 105-115, 2003.

SUTCLIFFE, A. G.; POOLE, T. B. Intragroups agonistic behavior in captive groups of common marmoset *Callithrix jacchus jacchus*. **International Journal of Primatology**, v. 5, p. 473-489, 1984.

VAN HOOFF, J A. R. A. M. Behavior requeriments for self-sustaining primate populations-some theoretical considerations and a closer look at social behavior. In: BENIRSCHKE, K. **Primates: the road to self-sustaining populations.** New York: Spring-Verlag, 1986. p. 307-319.

VILELA, A. L. M. Sistema endócrino. 2006. Disponível em: <http://www.afh.bio.br/endocrino/endocrino3.asp>>. Acesso em: 27 set. 2006.

VILLANUEVA, V. R.; BARBIER, M.; GONNET, M. **Les flavonoides de la propolis isolement d' une nouvelle substance bacteriostatique: la pinocembrine (dihydroxy-5,7 flavonone).** São Paulo: Ann Instituto Pasteur, 1970. 184 p.

WALRAVEN, V.; VAN ELSACKER, L. Scent-marking. **New World Antverpiensia**, v. 82, p. 51-59, 1992.

WALTERS, J. Transition to adulthood. In: Smuts, B. B. ; R. M. SEYFARTH, R. M.; WRANGHAM, T. T. **Primate societies.** Chicago: University of Chicago Press, 1987. p. 358 – 369.

WHITTEN, P. L.; RICHARD, A. F.; SCHNEIDER A. Response of fecal cortisol to stress in captive chimpanzees (*Pan troglodytes*). **American Journal of Primatology**, v. 44, p. 57-69, 1998.

WIELEBNOWSKI, N. Stress and distress: evaluating their impact for the wellbeing of zoo animals, **Journal American of Veterinary Association**, v. 223, n.7, p. 973–977, 2003.

YAMAMOTO, M. E.; ARRUDA, M. E. ; ARAÚJO, A. A case of eviction of the dominant male from a *Callithrix jacchus* family. **A primatologia no Brasil**,v. 3, p. 83-87, 1991.

ZECCHINI, A. Animais selvagens em cativeiro perdem suas características Naturais. **Revista a Hora Veterinária**,v. 22, n. 130, p. 42-43, 2002.

CAPÍTULO 2

CAPÍTULO 2

AÇÃO DA PRÓPOLIS NA DIETA DE *Callithrix* sp SUBMETIDOS AO ESTRESSE EM CATIVEIRO: PESO E ASPECTOS COMPORTAMENTAIS

AÇÃO DA PRÓPOLIS NA DIETA DE *Callithrix* sp SUBMETIDOS AO ESTRESSE EM CATIVEIRO: PESO E ASPECTOS COMPORTAMENTAIS

RESUMO

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar o efeito da própolis sobre o peso e parâmetros comportamentais de saguis *Callithrix* sp mantidos em cativeiro e submetidos ao estresse. Foram utilizados 26 animais da espécie *Callithrix jacchus* (sagüi-de-tufo-branco) e *Callithrix penicillata* (sagüi-de-tufo-preto), com idade entre 8 e 18 meses, de ambos os sexos, os quais foram divididos em três tratamentos: T1- dieta de rotina; T2- dieta de rotina acrescida de 2% de própolis bruta e T3- dieta de rotina acrescida de 5% de própolis bruta da alimentação em relação ao consumo diário estimado por indivíduo. Os animais foram alimentados durante sete dias com ou sem o acréscimo de própolis (momento 1). Após este período, os animais continuaram recebendo o mesmo esquema alimentar e foram submetidos ao estresse intruso x residente, durante sete dias (momento 2), totalizando 14 dias. Em ambos os momentos foram avaliados os parâmetros comportamentais (brincadeiras social e lúdica, vocalização, catação e deslocamento) e a manutenção do peso dos animais. De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que a adição da própolis na dieta de sagüis mantidos em cativeiro promoveu maior ganho de peso nos animais, embora não tenha apresentado efeito na redução do estresse, avaliado através de parâmetros comportamentais. Sugere-se, no entanto, a necessidade de novas pesquisas no sentido de estudar outras concentrações de própolis e maiores tempos de observação dos animais.

Palavras-chave: própolis, sagüis, bem-estar animal, estresse

ACTION OF PROPOLIS IN THE DIET OF *Callithrix* sp SUBJECTED TO STRESS IN CAPTIVITY: WEIGHT AND BEHAVIORAL ASPECTS

ABSTRACT

The aim of the present work was to evaluate the effects of propolis on the weight and behavioral parameters of *Callithrix* sp marmosets kept in captivity and subjected to stress. Twenty-six *Callithrix jacchus* (white-tufted-ear marmoset) and *Callithrix penicillata* (black-tufted ear marmoset), aged between 8 and 18 months, males and females, were divided into three treatment groups: T1- routine diet; T2- routine diet added of 2% crude propolis and T3- routine diet added of 5% crude propolis from daily diet, in relation to estimated daily consumption per individual. Animals were fed during seven days with or without the addition of propolis (moment 1). After this period, they continued receiving the same diet scheme and were subjected to intrusive x resident stress for seven days (moment 2), in 14 days of experiment. In both moments, behavioral parameters (social and playful activities, vocalization, catching and moving) and weight were evaluated. According to the obtained results, the addition of propolis to the diet of marmosets kept in captivity leads to greater weight gain in the animals although it had no effect on stress reduction, which was evaluated through behavioral parameters. Thus, there is the need for additional studies using other propolis concentrations and longer observation times.

Keywords: propolis, marmosets, animal welfare, stress

1. INTRODUÇÃO

A própolis é um material resinoso, encontrado em tons que variam do amarelo-esverdeado, passando pelo marrom-avermelhado ao negro, apresentando aroma forte e característico, em consequência de uma fração volátil de ácidos fenólicos. Possui fortes propriedades adesivas, representando um conjunto complexo de substâncias (55% de resinas e bálsamos; 30% de ceras; 10% de óleos voláteis e cerca de 5% de pólen) e impurezas mecânicas (Thomson, 1990), além de alguns oligoelementos, como alumínio, vanádio, ferro, cálcio, silício, manganês, estrôncio, e vitaminas B1, B2, B6, e C (Bankova *et al.*, 1998; Bankova *et al.*, 2000; Marcucci *et al.*, 2001).

Nas últimas décadas observou-se um aumento do interesse de pesquisadores em relação à própolis, fato este devido as suas várias propriedades biológicas e terapêuticas do produto, como imunomoduladora, antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatória, dentre outras (Bankova *et al.*, 2000; Castro, 2001; Orsi *et al.*, 2005; Orsi *et al.*, 2006; Sforcin, 2007), podendo atuar também na redução dos efeitos promovidos por situações estressantes (Palermo-Neto *et al.*, 2001; Missima, 2005).

Segundo Margis *et al.* (2003), o termo estresse denota o estado gerado pela percepção de estímulos que provocam excitação emocional e que, ao perturbarem a homeostasia, disparam um processo de adaptação, caracterizado pelo aumento de adrenalina, produzindo diversas manifestações sistêmicas, com distúrbios fisiológicos e psicológicos.

O estresse pode ser classificado como agudo, ou seja, o estado em que um organismo se apresenta após uma diminuição súbita na previsão e/ou no controle de alterações relevantes. Nesse caso, os conflitos são curtos e de intensidade exagerada; ou ainda como estresse crônico sendo este a resposta de um organismo quando alterações relevantes têm baixa previsão ou não são muito bem controladas por um longo período de tempo (Andrade, 2002). Dependendo da intensidade do agente estressor poderão ocorrer alterações patológicas e até a morte por incapacidade de resposta do indivíduo ou por esgotamento dessa capacidade, como por exemplo, não poder fugir (Magalhães, 1998).

A família dos calitriquídeos representa os menores primatas antropóides do mundo, com peso variando entre 100g (*Cebuella* sp) e 600g (*Leontopithecus* sp),

caracterizada pela grande adaptabilidade ao ambiente natural, que inclui matas secundárias, matas de galeria típica de cerrado, jardins e pomares (Rylands e Faria, 1993).

As interações sociais dessa espécie de primatas se dão principalmente de três formas: catação, brincadeira social e contato corporal (Yamamoto *et al.*, 1991). A catação social geralmente representa uma interação íntima entre dois indivíduos (Mc Grew e Tutin, 1978) e sugere uma idéia de cooperação e coordenação entre os participantes (Wall e Seres, 1997). A brincadeira é um comportamento facilmente detectado, mas de difícil definição (Beckoff e Allen, 1998), sendo de grande relevância para a ontogenia social de diversas espécies de mamíferos, estando relacionada ao desenvolvimento individual e interações sociais (Fagen, 1981; Lee, 1983; Bekoff, 1984; Bekoff e Allen; 1998). A comunicação vocal é outro aspecto de extrema importância para animais que vivem socialmente, uma vez que permite o ajuste de relações sociais relacionadas às variações no ambiente e flutuações fisiológicas (Morton, 1997).

A alta taxa predatória e a instabilidade do meio levaram esses animais a possuírem características adaptativas, proporcionando aos Calitriquídeos respostas precisas a eventos estressores (Johnson *et al.* 1996; Sgai, 2007).

A habilidade dos animais em resistir ao estresse ambiental e agentes patológicos está intimamente relacionada ao estado nutricional, já que este possui influência direta no crescimento, capacidade reprodutiva e longevidade; desta forma, existe grande necessidade de uma dieta equilibrada, principalmente em animais confinados que constantemente são desafiados por agentes estressores. Neste sentido, a própolis administrada em conjunto com outros nutrientes poderia exercer uma importante função no sentido de promover melhora no bem estar geral de animais mantidos em cativeiro.

2. OBJETIVOS

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da própolis sobre a manutenção do peso e parâmetros comportamentais (brincadeiras social e atividade lúdica com objetos, vocalização, catação e deslocamento) em saguis *Callithrix* sp mantidos em cativeiro e submetidos ao estresse intruso x residente.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de estudo

O presente estudo foi realizado no Parque Ecológico do Tietê, localizado na várzea do rio Tietê, na divisa dos municípios de São Paulo e Guarulhos, Estado de São Paulo, nas coordenadas de 23°25'S e 46°28'W. O parque conta com o Centro de Educação Ambiental, o Centro Cultural, o Museu do Tietê, Biblioteca e o Centro de Recepção de Animais Silvestres, que abriga dois mil animais apreendidos pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Polícia Federal ou doados pela população.

3.2. Própolis utilizada

A própolis foi produzida por abelhas *Apis mellifera* L. (africanizadas) alojadas em colméias modelo Langstroth, mantidas na Área de Produção de Apicultura da fazenda Experimental Lageado, UNESP, Campus de Botucatu, através de Coletor de Própolis Inteligente (CPI). A própolis foi coletada e armazenada em *freezer* (-4°C) até sua utilização nos experimentos.

3.3. Animais utilizados

Foram utilizados 26 animais da espécie *Callithrix jacchus* (sagüi-de-tufo-branco) e *Callithrix penicillata* (sagüi-de-tufo-preto), de ambos os sexos, pesando entre 126,0 e 354,5 gramas. Foram utilizados animais jovens e adultos, entre 8 e 18 meses de idade, sendo os tratamentos formados de acordo com os grupos disponíveis no Parque Ecológico, uma vez que pelo comportamento social dessa espécie, não há como formar rapidamente novos grupos. Também, deve-se ressaltar que não existem diferenças comportamentais entre sagüis nesta fase etária (Ribeiro, 2007). Os animais foram alojados em recintos (2mx2mx3m) enriquecidos com galhos e folhas secas, estando submetidos às condições climáticas naturais.

3.4. Alimentação de rotina

A alimentação de rotina no Parque Ecológico foi oferecida duas vezes ao dia, sendo a primeira às 10h00min e a segunda às 16h00min, constituída de frutas (banana, manga, laranja, maçã e tomate), legume (cenoura), papa protéica (sustagem e frutas) e *Tenebrio molitor* (tenébrios), sendo a água oferecida *ad libitum*. Ao final de cada dia a alimentação excedente era retirada dos recintos e descartada.

Para se calcular a porcentagem de própolis a ser acrescida na dieta dos animais, foi feita uma estimativa de consumo diário de alimento por animal, uma vez que não existem relatos, em literatura, sobre a quantidade de alimento consumido. Como os animais se encontravam em recintos e não em gaiolas, não foi possível calcular com exatidão o consumo diário dos tratamentos, tomando-se como base, através das observações, o consumo médio de 40 gramas/animal/dia. Este consumo diário foi utilizado para se calcular a quantidade de própolis a ser acrescida na alimentação dos animais.

3.5. Tratamentos

A própolis foi triturada em liquidificador e oferecida na forma de pó antes da primeira alimentação do dia misturada ao mel (para propiciar melhor palatabilidade) e frutas, na forma de papinha, às 09h00min. Todos os animais receberam o mesmo esquema alimentar segundo os seguintes tratamentos:

- Tratamento 1 (T1): tratamento controle contendo 9 animais. Estes animais foram alimentados durante todo o período experimental com dieta de rotina acrescida de três gramas de mel por indivíduo;
- Tratamento 2 (T2): tratamento composto por 8 animais, os quais receberam dieta de rotina, acrescida de três gramas de mel e 2% de própolis bruta da alimentação diária, em relação ao consumo diário estimado por indivíduo, ou seja, 0,8 gramas de própolis;
- Tratamento 3 (T3): tratamento contendo 9 animais, os quais receberam dieta de rotina, acrescida de três gramas de mel e 5% de própolis bruta da alimentação diária, em relação ao consumo diário estimado por indivíduo, ou seja, 2,0 gramas de própolis.

3.6. Períodos de avaliação e Modelo de estresse

Os animais foram alimentados durante sete dias com ou sem o acréscimo de própolis (momento 1), de acordo com cada tratamento. Após este período, os animais continuaram recebendo o mesmo esquema alimentar e foram submetidos ao estresse, durante sete dias (momento 2), totalizando 14 dias.

Para promover uma situação de estresse social, utilizou-se o paradigma intruso x residente como descrito por Araújo e Yamamoto (1993). Para isto, foram colocados nos recintos animais da mesma espécie, mas de grupos diferentes. Estas gaiolas apresentavam dimensões variadas de acordo com a disponibilidade de uso no Parque Ecológico; entretanto, para a indução do estresse diário, foi utilizada a mesma dimensão de gaiola para todos os tratamentos. O intruso permanecia no recinto de cada grupo por 15 minutos, sendo que no grupo T1 sempre às 8h00min, no grupo T2 às 8h20min e no grupo T3 às 8h40min. Foram utilizados sete calitriquídeos de grupos diferentes dos experimentais, um para cada dia de estresse, para que os animais dos tratamentos não se habituassem à presença de um mesmo indivíduo.

3.7. Peso dos Animais

Para se avaliar o efeito da própolis no peso (gramas) dos animais, estes foram pesados em balança analítica, no primeiro, oitavo e décimo quarto dia do período experimental.

3.8. Etograma

O método utilizado para as observações foi o de amostragem de comportamento (Martin e Bateson, 1986), onde os animais foram observados do início ao término de cada evento. Foi considerado como o término de cada evento, o momento em que o indivíduo integrava-se em outra atividade, cessando a anterior. Um período de 10 segundos de pausa foi considerado para finalizar um evento. Períodos inferiores a dez segundos, seguidos por um mesmo comportamento, não foram considerados intervalos entre eventos, ou seja, considerou-se um evento contínuo. Os animais foram observados

tanto antes quanto durante o período de submissão ao estresse, durante 14 dias, sendo 3 horas pela manhã e 3 horas no período da tarde, totalizando 84 horas. A ordem das observações dos tratamentos foi feita por sorteio.

Foram avaliados os seguintes parâmetros comportamentais:

- a) Brincadeira social: foi avaliada quando dois ou mais indivíduos do grupo se integravam em atividades como brincadeira de luta ou de “pega-pega”;
- b) Atividade lúdica com objetos: foi avaliada quando o indivíduo manipulava repetidamente um objeto de maneira solitária;
- c) Vocalização de longo alcance ou de alarme: considerada quando os animais emitiam sons de alta intensidade e longa duração.
- d) Catação: foi observada quando dois ou mais indivíduos do grupo iniciavam essa atividade;
- e) Deslocamento: foi observado cada vez que algum membro do grupo realizava saltos dentro do recinto.

3.9. Análise Estatística

Para se verificar diferença entre os momentos, para um mesmo tratamento, foi utilizado o teste “t” de Student, não pareado. Para comparação de tratamentos, em ambos os momentos, foi utilizada a Análise de Variância, seguida do teste de Kuskall-Wallis para a comparação das médias. Os resultados foram considerados significativos quando $P \leq 0,05$ (Zar, 1996).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação do Peso

Pôde-se observar que os animais que receberam 2% de própolis na dieta, em ambos os momentos, apresentaram aumento no peso (%) de forma significativa, em relação ao controle. Por outro lado, os animais que receberam 5% de própolis na dieta não apresentaram aumento de peso significativo, em relação ao controle, o qual apresentou redução no peso dos animais em ambos os momentos (tabela I).

Comparando-se os momentos, pode-se observar que os animais que receberam própolis na dieta não apresentaram diferença de peso, quando foram submetidos ao estresse intruso x residente (tabela I).

Não existem relatos em literatura sobre o efeito da própolis em sagüis mantidos em cativeiro ou em vida livre. Entretanto, estudos com outras espécies mostraram que a adição de própolis em pequenas quantidades (0,1% de Extrato Seco de Própolis) mostrou-se efetiva sobre o desempenho de coelhos, melhorando o ganho de peso dos animais (Garcia *et al.*, 2004). Da mesma forma, Lui *et al.* (2007) verificaram que leitões tratados com própolis obtiveram aumento de peso quando comparados com os animais do grupo controle.

Estes resultados sugerem que a administração de própolis na dieta de sagüis promove melhores resultados na manutenção do peso, podendo ser uma importante ferramenta para auxiliar no bem-estar dos animais mantidos em cativeiro.

TABELA I: Manutenção do peso (%) de sagüis (*Callythrix* sp) mantidos em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2). Os resultados representam as médias e os respectivos desvios-padrão.

Momentos	0%	2%	5%
M1	-1,45 ±5,00aA	5,75±3,50bA	1,68±5,43abA
M2	-1,94±4,0aA	6,37±5,67bA	0,76±6,1abA

Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$).

4.2. Vocalização de longo alcance ou de alarme

Com relação ao comportamento de vocalização de longo alcance, pode-se verificar que não houve diferença entre os tratamentos, para ambos os momentos estudados (tabela II).

Por outro lado, os animais que receberam 2% e 5% de própolis na dieta apresentaram aumento significativo ($P \leq 0,05$) na vocalização de longo alcance quando

submetidos ao estresse intruso x residente ($24,3 \pm 5,8$ e $22,2 \pm 12,3$, respectivamente), em relação ao momento anterior ao estresse ($10,0 \pm 8,1$ e $11,8 \pm 6,3$, respectivamente). O grupo controle não diferiu dos demais (tabela II).

As funções propostas para estas vocalizações podem ser divididas entre intra-grupais e extra-grupais. Funções extra-grupais se relacionam com a defesa e atração de parceiros sexuais ou com a defesa de recursos, enquanto as funções intra-grupais envolvem coordenação intra-grupal ou alarme (Oliveira e Ades, 2004).

Sabe-se que primatas não humanos ficam agitados, vocalizam mais e tem seus níveis de cortisol aumentados quando estão sob situações de estresse, como quando separados de seus grupos ou de suas crias (Levine *et al.*, 1993; Champoux e Suomi, 1994).

Os resultados obtidos nesta pesquisa sugerem que a adição de própolis na dieta dos sagüis não foi eficaz na redução do estresse induzido aos animais, pois estes aumentaram a vocalização de longo alcance.

4.3. Catação

Pode-se observar que os animais que receberam 2% de própolis na dieta apresentaram redução significativa no comportamento de catação ($3,0 \pm 2,9$) no momento anterior ao estresse (momento 1), em relação ao grupo controle ($12,0 \pm 3,5$) (Tabela II). Após a indução do estresse residente x intruso (momento 2), os animais que receberam 2% de própolis na dieta apresentaram redução significativa na catação ($2,8 \pm 1,7$), em comparação com os animais que receberam 5% de própolis na dieta ($12,4 \pm 7,5$) (tabela II).

Comparando-se os tratamentos antes e após a indução do estresse, não foram verificadas diferenças estatísticas entre as médias (tabela II).

Uma das maneiras de se avaliar o estresse social é utilizar o parâmetro de catação social, a qual geralmente representa uma interação íntima entre dois indivíduos (Mc Grew e Tutin, 1978) e sugere uma idéia de cooperação e coordenação entre os participantes (Wall e Seres, 1997); entretanto, quando realizada de forma exagerada pode indicar um comportamento estereotipado, como observaram Glatston *et al.* (1984), estudando dois grupos familiares de *Saguinus oedipus oedipus* em jardim

zoológico, um exposto ao público e o outro não. Os autores perceberam que o grupo exposto apresentava maior contato físico entre seus membros e maior agressividade dos pais com os filhotes, com conseqüente aumento da mortalidade infantil, sugerindo que os animais que ficavam expostos ao público sofriam mais os efeitos do estresse, modificando assim seu comportamento natural. Da mesma forma, Hohendorff (2003) observou aumento do comportamento auto-direcionado (catação, toque, coçar) em primatas não-humanos, sugerindo que a catação pode ser usada como indicador de estresse e ansiedade.

Embora os animais que receberam 2% de própolis na dieta tenham apresentado, de forma significativa, menor catação entre os membros do grupo, pode-se observar que não houve diferença para este tratamento no período antes e após o estímulo estressor, sugerindo que a própolis não estaria exercendo efeito na minimização do estresse.

4.4. Brincadeira social

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos no mesmo momento ou entre os momentos (tabela II).

Segundo Walters (1987), a brincadeira incorpora muitos componentes dos padrões comportamentais dos adultos, como aqueles usados durante as agressões, podendo ser exagerada, repetitiva e variada. Há três tipos de brincadeira comumente aceitos: brincadeira com objetos, na qual o sujeito manipula um objeto de maneira repetitiva (lúdica); brincadeira locomotora (ou solitária), em que o animal pula e corre sozinho; e brincadeira social, que envolve mais de um indivíduo e consiste basicamente em pega-pega ou luta (Walters, 1987; Burghart, 1998).

O estudo do comportamento de brincadeira poderia auxiliar na avaliação da frequência e qualidade das interações sociais, e da qualidade de habitats em que vivem espécies ameaçadas de extinção, uma vez que o padrão dessas interações ao longo do tempo depende diretamente de fatores ecológicos, como períodos de estiagem, tendo relação direta com a disponibilidade de alimentos, ou seja, em períodos de estiagem e falta de recursos alimentares os sagüis tendem a passar grande parte do dia em busca de alimento, o que acarreta a diminuição da atividade de brincadeira (Oliveira, *et al.*,

2005). A modificação de sua rotina e a falta de alimento poderiam levar os animais a um quadro de estresse social.

Nas condições deste experimento, a adição de própolis na dieta não modificou este parâmetro comportamental em sagüis.

4.5. Atividade lúdica com objetos

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos no mesmo momento ou entre os momentos (tabela II).

A atividade lúdica com objetos possui o mesmo contexto que a brincadeira social; entretanto, nesse tipo de brincadeira o indivíduo fica menos atento aos acontecimentos dentro do grupo, ficando muito tempo entretido com um mesmo objeto. Neste trabalho, não foram verificadas diferenças entre os tratamentos, sugerindo que a própolis não afetou este comportamento de sagüis.

4.6. Deslocamento

Pode-se observar que não houve diferença estatística entre os tratamentos no momento que antecedeu ao estresse (momento 1) (tabela II). Por outro lado, após a indução do estresse residente x intruso (momento 2), os animais que receberam 2% de própolis na dieta apresentaram redução significativa no deslocamento ($15,0 \pm 7,1$), em comparação com o grupo controle ($57,5 \pm 19,8$) (Tabela II).

Comparando-se o mesmo tratamento entre os momentos, não foi verificada diferença estatística entre eles (tabela II), para todos os tratamentos estudados.

Trabalhos envolvendo sagüis mantidos em parques públicos com visitação apenas em dias de semana, demonstraram que esses animais mostraram elevada frequência de deslocamento nos dias de final de semana, sugerindo uma tendência de maior interação social com outros membros do grupo, uma vez que estariam menos ansiosos e mais tranquilos nessa condição, sofrendo menor perturbação do público (Schnell e Wood, 1993; Barbosa e Mota, 2004).

Neste sentido, a menor frequência de deslocamento no grupo tratado com 2% de própolis após o estímulo estressor (momento 2), em comparação com o grupo controle, sugere que os animais sofreram mais os efeitos do estresse.

TABELA II: Número médio de vocalizações de longo alcance, catação, brincadeira social, brincadeira lúdica e deslocamento de sagüis (*Callythrix* sp) criados em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2) o estímulo estressor. Os resultados representam as médias e respectivos desvios-padrão.

Própolis	Vocalização Longo alcance		Catação		Brincadeira social		Atividade lúdica		Deslocamento	
	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
0%	15,7 ±5,5aA	16,0±8,5aA	12,0±3,5aA	11,8±4,1aAB	3,0±1,4aA	5,0±4,2aA	8,3±3,9aA	6,8±3,1aA	57,5±26,5aA	57,5±19,8aA
2%	11,6±7,9aA	24,3±5,8bA	3,0±3,2aB	2,8±1,7aA	6,0±3,5aA	4,8±1,6aA	8,4±3,0aA	7,0±4,3aA	20,7±4,0aA	15,0±7,1aB
5%	11,8±6,3aA	22,2±12,3bA	7,3±5,2aAB	12,4±7,5aB	2,0±1,2aA	2,2±1,2aA	4,8±2,6aA	3,4±1,5aA	26,4±20,9aA	28,0±22,2aAB

Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença estatística entre as médias (P≤0,05).

Letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística entre as médias (P≤0,05).

5. CONCLUSÕES

Os resultados deste experimento permitiram concluir que a adição da própolis na dieta de sagüis mantidos em cativeiro promoveu maior ganho de peso nos animais, embora não tenha apresentado efeito na redução do estresse, avaliado através de parâmetros comportamentais, de acordo com as condições deste experimento.

Sugere-se a realização de novas pesquisas no sentido de estudar outras concentrações de própolis e maiores tempos de observação dos animais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Andrade, A. Animais de Laboratório: criação e experimentação, Rio Janeiro: Editora Fiocruz, 2002 .

Araújo, A. & Yamamoto, M.E. (1993). Reação a intrusos da mesma espécie em *Callithrix jacchus*: Influência do status social. In: Yamamoto, M.E. & Sousa, M.B.C. (eds). *A primatologia no Brasil*. Natal: SBPR. Editora Universitária, 15-34.

Bankova, V. S. Popov, S. S. & Marekow, N. L. (1998). On the chemical composition of some própolis fractions with antiviral action. *Acta microbiology bula*, 23, 52-57.

Bankova, V.S. & Marcucci, M.C. (2000). Própolis: Recent advances in Chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3-15.

Bankova, V. S., Castro, S. L. & Marcucci, M. C. (2000). Própolis: Recent advances in Chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3-15.

Barbosa, M.N. & Mota, M.T.S.A. (2004). Influência da rotina de manejo na interação social entre pares heterossexuais do sagüi, *Callithrix jacchus*. *Revista Brasileira de Zoociências*, 6, 29-43.

Beckoff, M. & Allen, F. (1998). Intentional communication and social play: why and how animals negotiate and agree to play. In *Animal Play*. Bekoff, M. & Byers, J.A. Anais, v.8, (pp.114), Cambridge: Cambridge Univ. Press.

Bekoff, M. (1984). Social play behavior. *Bioscience*, 34, 228-233.

Burghart, G.M. (1998). The evolutionary origins of play revisited: Lessons from turtles. In: Beckoff, M. & Byers J.A., (pp.1-26). *Animal Play. Evolutionary, comparative, and ecological perspectives*. Cambridge: Cambridge University Press.

Castro, S.L. (2001). Propolis: biological and pharmacological activities. Therapeutic uses of this bee-product. *ARBS*, 34, 49-83.

Champoux, M. & Suomi, S.J. (1994). Behavioral and adrenocortical responses of rhesus macaque mothers to infant separation in an unfamiliar environment. *Primates*, 35, 191-202.

Fagen, R. (1981). Play behavior. *Anais, Animal Play Behavior* (pp.23-25). New York: Oxford Univ. Press.

Garcia, S.R.C. et al. (2004). Efeito do extrato alcoólico de própolis sobre o perfil bioquímico e o desempenho de coelhas jovens. *Acta Scientiarum – Animal Sciences*, 26, 57-67.

Glatston, A.R. et al. (1984) The influence of the zoo environment on social behavior of groups of cotton-topped tamarins, *Saguinus oedipus Oedipus*. *Zoo Biology*, 3, 241-253.

Hohendorff, R.V. (2003). Aplicação e avaliação de enriquecimento ambiental na manutenção de bugio (*Alouatta spp LACÉPEDE*, 1799) no Parque Zoológico de Sapucaia do Sul. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

Johnson, E.O. et al. (1996). The biobehavior consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). *Biological Psychiatry*, 40, 317-337.

Lee, P.C. (1983). Play as a mean for developing relationship. In *Primate Social Relationships* Blackwell Scientific Publications, 82-89. Oxford.

Levine, S., Winer S.G. & Coe, S.L. (1993). Temporal and social factors influencing behavioral and hormonal responses to separation in mother and infant squirrel monkeys. *Psychoneuroendocrinology*, 18, 297-306.

Lui, J.F. et al. (2007). Extrato etanólico de própolis sobre o ganho de peso, parâmetros de carcaça e PH cecal de coelhos em crescimento. *Revista Biotemas*, 20, 59-64.

Magalhães, H.M. (1998). Farmacologia Veterinária: Temas escolhidos. Guaíba; Agropecuária, 23-34.

Marcucci, M. C. et al.(2001) Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*,74,105-112.

Margis, R., Picon, P. & Cosner, A.F. (2003). Relação entre estressores, estresse e ansiedade. *Revista de Psiquiatria*,1, 65-74.

Martin, P. & Batson, P. (1986). Measuring behavior. Anais Cambridge, 1986. Anais, Univ. Press, (pp. 48-69). Cambridge: Univ. Cambridge Press.

Mc Grew, W.C & Tutin, C.E.G. (1978). Evidence for a social custom in wild chimpanzees? *Man*,13, 234–251.

Missima, F. (2005). Efeito da própolis sobre parâmetros imunológicos de camundongos BALB/c Submetidos a estresse crônico. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

Morton, E.S. (1997). On the occurrence and significance of motivation-structural rules in some bird and mammal sounds. *The American Naturalist* ,111, 855-869.

Oliveira, C.R. et al. (2005). Play Behavior in Juvenile Golden Lion Tamarins (Callitrichidae: Primates): Organization. In: Relation to Costs. *Ethology*,109, 593-612.

Oliveira, D.A.G & Ades, C. (2004). Long-distance calls in Neotropical primates. Anais da Academ. Bras. *Ciência*, 76, 393-398.

Orsi, R.O. et al. (2005). Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. *International Immunopharmacology*,2, 359-368.

Orsi, R.O. et al. (2006). Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella* Typhi. *Brazilian Journal Microbiology*,37, 108-12.

Palermo-Neto, J., Massoco, C.O. & Fávare, R.C. (2001). Effects of maternal stress on anxiety levels, macrophage activity, and ehrlich tumor growth. *Neurotoxicology and Teratology*,23, 497-507.

Ribeiro, D.P. (2007). Padrão de atividades e interações sociais de animais juvenis em dois grupos selvagens de(*Callithrix jacchus*). Dissertação de mestrado, Universidade federal do Rio Grande do Norte.-RN.

Rylands, A.B. & Faria, D.S. (1993). Habitats, feeding ecology, and home range sinze in the genus *Callithrix*. In Rylands, A.R. *Marmosets and tamarins: Systematics, behavior, and ecology* (pp.396). Oxford: University Press.

Schnell, C.R & Wood, J.M. (1993). Measurement of blood pressure and heart rate by telemetry in conscious, unrestrained marmosets. *American Journal Physiology*,264, 1509-1516.

Sforcin, J.M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*,113, 1–14.

Sgai, M.G.F.F. (2007). Avaliação da influência das técnicas de enriquecimento ambiental nos parâmetros endócrinos e comportamentais de *Callithrix penicillata* (sagui-de-tufos-pretos) mantidos em estabilidade social e isolados. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de São Paulo-SP.

Thomson, W. (1990). Propolis. *Medicine Journal*, 153-654.

Wall de, F.B.M. & Seres, M. (1997). Propagation of handclasp grooming among captive chimpanzees. *American Journal of Primatology*, 43, 339–346.

Walters, J. (1987). Transition to adulthood. In: Smuts, B.B., Seyfarth, R.M., Wrangham, T. & Struhsaker, T.T. *Primate societies*, (pp.358-369). Chicago: University of Chicago Press.

Yamamoto, M.E., Arruda, M.E. & Araújo, A. (1991). A case of eviction of the dominant male from a *Callithrix jacchus* family. *A primatologia no Brasil*, 3, 83-87.

Zar, J.H. (1996). Biostatistical analysis. Prentice Hall Upper Saddle River. Velarg, New York.

CAPÍTULO 3

CAPÍTULO 3

AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE AS PROTEÍNAS DO SORO E ASPECTOS HEMATOLÓGICOS EM SAGUIS (*Callithrix* sp) SUBMETIDOS AO ESTRESSE EM CATIVEIRO

**AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE AS PROTEÍNAS DO SORO E ASPECTOS
HEMATOLÓGICOS EM SAGUIS (*Callithrix* sp) SUBMETIDOS AO ESTRESSE
EM CATIVEIRO**

RESUMO: O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da própolis sobre as proteínas do soro e aspectos hematológicos em saguis *Callithrix* sp mantidos em cativeiro e submetidos ao estresse. Foram utilizados 26 animais da espécie *Callithrix jacchus* (sagüi-de-tufo-branco) e *Callithrix penicillata* (sagüi-de-tufo-preto), com idade entre 8 e 18 meses, de ambos os sexos, os quais foram divididos em três tratamentos: T1- dieta de rotina; T2- dieta de rotina acrescida de 2% de própolis bruta e T3- dieta de rotina acrescida de 5% de própolis bruta da alimentação em relação ao consumo diário estimado por indivíduo. Os animais foram alimentados durante sete dias com ou sem o acréscimo de própolis (momento 1). Após este período, os animais continuaram recebendo o mesmo esquema alimentar e foram submetidos ao estresse intruso x residente, durante sete dias (momento 2), totalizando 14 dias. Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que a adição de 5% de própolis mostrou-se prejudicial aos animais, em relação as proteínas do soro, ocorrendo diminuição significativa desse parâmetro. A própolis não influenciou na contagem das células sanguíneas. Sugere-se, no entanto, a realização de novos estudos utilizando-se diferentes tempos de administração, período de estresse e concentrações de própolis diferentes, bem como própolis de distintas origens botânicas na dieta de sagüis.

Palavras-chave: própolis, sagüis, estresse, bem-estar animal

**PROPOLIS ACTION ON SERUM PROTEINS AND HEMATOLOGICAL
ASPECTS IN MARMOSETS (*Callithrix* sp) SUBJECTED TO STRESS IN
CAPTIVITY**

ABSTRACT: The present study aimed at evaluating the effect of propolis on serum proteins and hematological aspects in *Callithrix* sp marmosets kept in captivity and subjected to stress. Twenty-six *Callithrix jacchus* (white-tufted-ear marmoset) and *Callithrix penicillata* (black-tufted ear marmoset), aged between 8 and 18 months, males and females, were divided into three treatment groups: T1- routine diet; T2- routine diet added of 2% crude propolis and T3- routine diet added of crude propolis from daily diet, in relation to estimated daily consumption per individual. Animals were fed during seven days with or without the addition of propolis (moment 1). After this period, they continued receiving the same diet scheme and were subjected to intrusive x resident stress for seven days (moment 2), in 14 days of experiment. The obtained results indicate that the addition of 5% propolis was harmful as regards serum proteins, decreasing this parameter. Propolis did not influence blood cell count. Thus, there is a great need for further studies employing varied stress periods, as well as different propolis administration times, concentrations and botanical sources in marmoset diet.

Keywords: propolis, marmosets, stress, animal welfare

1. INTRODUÇÃO

As abelhas elaboram a própolis a partir de secreções de árvores, flores e folhas, recebendo ainda a adição de substâncias secretadas pelo seu metabolismo glandular. Este produto apícola possui fortes propriedades adesivas, representando um conjunto complexo de substâncias (55% de resinas e bálsamos; 30% de ceras; 10% de óleos voláteis e cerca de 5% de pólen) e impurezas mecânicas (Thomson, 1990).

O maior grupo de compostos isolados na própolis é o dos flavonóides. Encontrando-se também aldeídos aromáticos, ácidos fenólicos, ácidos orgânicos, minerais, vitaminas, aminoácidos, entre outros (Marcucci, 1995; Woisky & Salatino, 1998; Castro, 2001). Este produto apresenta várias propriedades biológicas, como imunomoduladora, antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatória, dentre outras (Bankova *et al.*, 2000; Castro, 2001; Orsi *et al.*, 2006; Sforcin, 2007), podendo atuar também na redução dos efeitos promovidos pelo estresse (Palermo-Neto *et al.*, 2001; Missima, 2005).

Segundo Margis *et al.* (2003), o termo estresse denota o estado gerado pela percepção de estímulos que provocam excitação emocional e que, ao perturbarem a homeostasia, disparam um processo de adaptação, caracterizado pelo aumento de adrenalina, produzindo diversas manifestações sistêmicas, com distúrbios fisiológicos e psicológicos.

Dentre as famílias da Ordem Primata, a Callitrichidae é atualmente composta pelos gêneros Cebuella, Callithrix, Saguinus, Leontopithecus, Callimico e Mico (Rylands *et al.*, 2000). A alta taxa predatória e a instabilidade do meio em que vivem levaram esses animais a possuírem características adaptativas, proporcionando aos calitriquídeos respostas precisas a eventos estressores (Johnson *et al.* 1996; Sgai, 2007).

A manutenção de animais em cativeiro pode proporcionar um ambiente estressor, promovendo alterações nos níveis de cortisol fecal, redução no número de linfócitos, aumento no número de neutrófilos segmentados, dentre outros (Coe e Hall, 1996; Cunha *et al.* 2005).

Uma das alternativas para a redução dos efeitos do estresse seria o uso de produtos naturais, como a própolis, administrados em conjunto com outros nutrientes,

no sentido de promover uma melhora no bem estar geral de animais mantidos em cativeiro.

2. OBJETIVOS

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da própolis sobre as proteínas do soro e parâmetros hematológicos (leucócitos totais e hematócrito) em sagüis *C. jacchus* e *C. penicillata* mantidos em cativeiro e submetidos ao estresse.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de estudo

O presente estudo foi realizado no Parque Ecológico do Tietê, localizado na várzea do rio Tietê, na divisa dos municípios de São Paulo e Guarulhos, Estado de São Paulo, nas coordenadas de 23°25'S e 46°28'W. O parque conta com o Centro de Educação Ambiental, o Centro Cultural, o Museu do Tietê, Biblioteca e o Centro de Recepção de Animais Silvestres, que abriga dois mil animais apreendidos pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), Polícia Federal ou doados pela população.

3.2. Própolis utilizada

A própolis foi produzida por abelhas *Apis mellifera* L. (africanizadas) alojadas em colméias modelo Langstroth, mantidas na Área de Produção de Apicultura da fazenda Experimental Lageado, UNESP, Campus de Botucatu, através de coletor de própolis inteligente (CPI). A própolis foi coletada e armazenada em *freezer* (-4°C) até sua utilização nos experimentos.

3.3. Animais utilizados

Foram utilizados 26 animais da espécie *Callithrix jacchus* (sagüi-de-tufo-branco) e *Callithrix penicillata* (sagüi-de-tufo-preto), de ambos os sexos, pesando entre 126,0 e 354,5 gramas. Foram utilizados animais jovens e adultos, entre 8 e 18 meses de idade, sendo os tratamentos formados de acordo com os grupos disponíveis no Parque Ecológico, uma vez que pelo comportamento social dessa espécie, não há como formar rapidamente novos grupos. Também, deve-se ressaltar que não existem diferenças comportamentais entre sagüis nesta fase etária (Ribeiro, 2007). Os animais foram alojados em recintos (2mx2mx3m) enriquecidos com galhos e folhas secas, estando submetidos às condições climáticas naturais.

3.4. Alimentação de rotina

A alimentação de rotina no Parque Ecológico foi oferecida duas vezes ao dia, sendo a primeira às 10h00min e a segunda às 16h00min, constituída de frutas (banana, manga, laranja, maçã e tomate), legume (cenoura), papa protéica (sustagem e frutas) e *Tenebrio molitor* (tenébrios), sendo a água oferecida *ad libitum*. Ao final de cada dia a alimentação excedente era retirada dos recintos e descartada.

Para se calcular a porcentagem de própolis a ser acrescida na dieta dos animais, foi feita uma estimativa de consumo diário de alimento por animal, uma vez que não existem relatos, em literatura, sobre a quantidade de alimento consumido. Como os animais se encontravam em recintos e não em gaiolas, não foi possível calcular com exatidão o consumo diário dos tratamentos, tomando-se como base, através das observações, o consumo médio de 40 gramas/animal/dia. Este consumo diário foi utilizado para se calcular a quantidade de própolis a ser acrescida na alimentação dos animais.

3.5. Tratamentos

A própolis foi triturada em liquidificador e oferecida na forma de pó antes da primeira alimentação do dia misturada ao mel (para propiciar melhor palatabilidade) e

frutas, em forma de papinha, às 09h00min. Todos os animais receberam o mesmo esquema alimentar segundo os seguintes tratamentos:

- Tratamento 1 (T1): tratamento controle contendo 9 animais. Estes animais foram alimentados, durante todo o período experimental com alimentação de rotina acrescida de três gramas de mel por indivíduo;
- Tratamento 2 (T2): tratamento composto por 8 animais, os quais receberam alimentação de rotina, acrescida de três gramas de mel e 2% de própolis bruta, em relação ao consumo diário estimado por indivíduo, ou seja, 0,8 gramas de própolis;
- Tratamento 3 (T3): tratamento contendo 9 animais, os quais receberam alimentação de rotina, acrescida de três gramas de mel e 5% de própolis bruta, em relação ao consumo diário estimado por indivíduo, ou seja, 2,0 gramas de própolis.

3.6. Períodos de avaliação e Modelo de estresse

Os animais foram alimentados durante sete dias com ou sem o acréscimo de própolis (momento 1), de acordo com cada tratamento. Após este período, os animais continuaram recebendo o mesmo esquema alimentar e foram submetidos ao estresse, durante sete dias (momento 2), totalizando 14 dias.

Para promover uma situação de estresse social, utilizou-se o paradigma intruso x residente como descrito por Araújo e Yamamoto (1993). Para isto, foram colocados nos recintos animais da mesma espécie, mas de grupos diferentes, em gaiolas com dimensões variadas, permanecendo no recinto de cada grupo por 15 minutos. O mesmo animal intruso foi colocado na gaiola do grupo T1 sempre às 8h00min, no grupo T2 às 8h20min e no grupo T3 às 8h40min. Foram utilizados sete calitriquídeos de grupos diferentes, um para cada dia de estresse, para que os animais dos tratamentos não se habituassem à presença de um mesmo indivíduo.

3.7. Coleta de sangue

As coletas de sangue dos animais, dos diferentes tratamentos, foram realizadas ao término do primeiro e segundo momentos, para a realização das análises hematológicas e proteínas do soro (eletroforese). O sangue foi coletado por punção

aspirativa da veia femural, sendo colhidos 0,5 mL de sangue em tubo plástico tipo *eppendorf*, descartável com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiamino tetracético, sal dissódico) a 10%.

3.8. Análises das proteínas do soro (eletroforese)

Foram utilizados 10 µL de cada amostra de soro, segundo os diferentes tratamentos, adicionados de 40 µL de solução carregadora (tampão eletrodo, sendo 20% de glicerol e 0,02% de azul de bromofenol), preparando assim as amostras para aplicação na diluição 1:4. Estas amostras foram então submetidas à centrifugação sob refrigeração (4°C) para que as proteínas não solubilizadas formassem um precipitado. A técnica utilizada foi a de eletroforese em gel de poliacrilamida vertical, alcalina (pH 8,8), em sistema de tampões descontínuos, com gel de empilhamento na concentração de 4% e gel de separação na concentração de 10% (Hames & Rickwood, 1990), com algumas modificações descritas em Ramos (1992). As corridas eletroforéticas se deram a 100V e mA livre, por 12 minutos, para que as proteínas chegassem na linha limítrofe entre os géis de empilhamento e separação, sendo submetidas a 200V e mA livre, por 40 minutos, até o indicador sair da placa. Os géis foram então corados com Coomassie, descorados e submetidos a análise densitométrica (Image Master VDS Pharmacia), determinando-se as mobilidades relativas (eletroforese nativa) e as quantidades de proteína em cada banda individualizada, empregando-se o programa analítico adequado. Os dados foram expressos em porcentagem (%).

3.9. Hemograma

O hemograma e contagem de plaquetas foram executados de acordo com os métodos convencionais do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – “Universidade Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, São Paulo.

Para as contagens de hemácias ($10^6/\text{mm}^3$) e leucócitos (µL) foram realizadas diluições manuais em câmara hematómica (câmara de Newbauer), utilizando líquido de Marciano, líquido de Türk e líquido de Brécher, respectivamente. O diferencial de

leucócitos foi obtido após contagem e observação de 100 células (Kelly, 1986). A determinação da concentração da proteína plasmática total (PT) foi realizada por refratometria (Who, 2001).

3.10. Análise Estatística

Para se verificar diferença entre os momentos, para um mesmo tratamento, foi utilizado o teste “t” de Student, não pareado. Para comparação de tratamentos, em ambos os momentos, foram utilizados Análise de Variância seguido do teste de Kuskall-Wallis para a comparação das médias. Os resultados foram considerados significativos quando $p \leq 0,05$ (Zar, 1996).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Proteínas do soro

Com relação às proteínas do soro (perfil eletroforético), pode-se observar que os animais que receberam 5% de própolis na dieta apresentaram redução significativa neste parâmetro ($P \leq 0,05$) ($3,430 \pm 0,17\%$ para o momento 1 e $3,365 \pm 0,17\%$ para o momento 2), quando comparados com o grupo controle ($5,502 \pm 1,15\%$ para o momento 1 e $4,938 \pm 0,35\%$ para o momento 2) (tabela I). Para os animais que receberam 2% de própolis na dieta não foram observadas diferenças, em ambos os momentos, em relação ao controle (tabela I).

Comparando-se os tratamentos, em ambos os momentos, pode-se verificar que não houve diferença antes e após o estresse intruso x residente (tabela I).

As proteínas são compostos indispensáveis à vida, representando a base da estrutura das células, tecidos e órgãos. Funcionam como catalisadores enzimáticos nas reações bioquímicas, carreadores de muitos constituintes do plasma e participam da defesa orgânica como anticorpos (Jain, 1993). Pelo significado biológico e as múltiplas funções exercidas no sistema orgânico, a avaliação dos níveis séricos das proteínas totais e de suas frações (albumina, alfa globulinas, beta globulinas e gama globulinas),

obtidas por eletroforese, representa um importante auxílio na avaliação geral de um indivíduo (Kaneko *et al.*, 1997).

Nesse estudo, verificou-se que a administração de 5% de própolis na dieta dos animais reduziu a quantidade de proteínas do soro, de forma significativa, em relação ao controle, em ambos os momentos. Este fato sugere que a própolis, nesta concentração, poderia prejudicar o estado geral do organismo destes animais, deixando-os mais susceptíveis a sofrerem os efeitos do estresse.

TABELA I: Proteínas do soro (%) de sagüis (*Callythrix* sp) mantidos em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2). Os resultados representam a médias e os respectivos desvios-padrão.

Momentos	0%	2%	5%
M1	5,502±1,15aA	3,955±0,30abA	3,430±0,17bA
M2	4,938±0,35aA	4,362±0,38abA	3,365±0,17bA

Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$).

4.2. Aspectos Hematológicos

4.2.1. Eritrócitos

Pôde-se observar que os animais que receberam 2% de própolis na dieta, apresentaram redução significativa no número de eritrócitos ($3,1 \pm 0,7 \times 10^6/\text{mm}^3$) ($P \leq 0,05$), no período que antecedeu ao estresse, em comparação com o grupo que recebeu 5% de própolis ($5,9 \pm 0,1 \times 10^6/\text{mm}^3$) (tabela II). Após a indução do estresse, momento 2, não foram verificadas diferenças entre os tratamentos (tabela II).

Não foram observadas diferenças significativas entre os momentos (tabela II).

A contagem de eritrócitos é um dos parâmetros utilizados para se verificar se um organismo se encontra debilitado ou não. Um quadro de anemia é configurado quando a contagem de eritrócitos se encontra abaixo dos níveis normais para a idade,

sexo e espécie (Jain, 1993); sendo assim, a contagem total de eritrócitos reduzida seria um indício de desequilíbrio orgânico, o que apresentaria como reflexo um transporte inadequado de oxigênio, já que as células vermelhas são responsáveis por esse mecanismo fisiológico, ocasionando assim danos aos tecidos e organismo.

Nesse estudo, observou-se que a adição de 5% de própolis promoveu aumento significativo na contagem de eritrócitos, no momento que antecedeu o estresse, em relação ao grupo que recebeu 2% de própolis na dieta. Este fato sugere que a quantidade de própolis fornecida aos animais poderia influenciar o número de eritrócitos, de acordo com as condições deste experimento.

4.2.2. Hematócrito

Pôde-se observar que os animais que receberam 2% de própolis na dieta, apresentaram redução significativa no hematócrito ($27,0 \pm 7,1\%$) ($P \leq 0,05$), no período que antecedeu ao estresse, em comparação com o grupo que recebeu 5% de própolis ($43,3 \pm 1,5\%$) (tabela II). Após a indução do estresse, momento 2, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os tratamentos (tabela II).

Não foram observadas diferenças significativas entre os momentos (tabela II). O valor do hematócrito corresponde à porcentagem de células sólidas sanguíneas e está diretamente ligado ao número de elementos presentes no sangue, como hemácias, basófilos, eosinófilos, heterófilos, leucócitos, monócitos e plaquetas (Rosario *et al.*, 2004).

Observou-se que a adição de 5% de própolis na dieta de sagüis promoveu aumento no hematócrito, no período que antecedeu ao estresse, em relação ao grupo com 2% de própolis, sugerindo que a própolis poderia modular a homeostase do organismo desses animais.

4.2.3. Proteína Total

Observou-se que, para o momento anterior ao estresse (momento 1), não houve diferença significativa entre os tratamentos para a proteína total. Por outro lado, no momento após o estresse (momento 2), os animais que receberam 5% de própolis na

dieta apresentaram aumento significativo ($P \leq 0,05$) neste parâmetro ($7,3 \pm 0,4 \text{ g/dl}$), quando comparados com o grupo que recebeu 2% de própolis ($5,9 \pm 0,1 \text{ g/dl}$) (tabela II). Entre os momentos, não foram observadas diferenças (tabela II).

A quantidade de proteína total presente no soro dos animais é de fundamental relevância (Ganong, 1995), auxiliando no diagnóstico de bem estar animal. Observou-se que a adição de 5% de própolis na dieta dos animais, aumentou a proteína total de forma significativa em relação ao grupo 2%, sugerindo que a quantidade de própolis fornecida aos animais poderia influenciar o número de proteína total nos animais.

TABELA II: Eritrócito ($10^6/\text{mm}^3$), Hematócrito (%) e Proteína total (g/dL) de sagüis (*Callythrix* sp) criados em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2). Os resultados representam a média e os respectivos desvios-padrão.

Própolis	Eritrócito		Hematócrito		Proteína Total	
	M1	M2	M1	M2	M1	M2
0%	$4,6 \pm 0,8 \text{ aAB}$	$3,97 \pm 0,6 \text{ aA}$	$34,2 \pm 2,5 \text{ aAB}$	$34,5 \pm 3,0 \text{ aA}$	$6,1 \pm 0,4 \text{ aA}$	$6,7 \pm 0,1 \text{ aAB}$
2%	$3,1 \pm 0,7 \text{ aA}$	$4,09 \pm 1,3 \text{ aA}$	$27,0 \pm 7,1 \text{ aA}$	$35,0 \pm 5,6 \text{ aA}$	$5,8 \pm 0,3 \text{ aA}$	$5,9 \pm 0,1 \text{ aA}$
5%	$5,9 \pm 0,1 \text{ aB}$	$5,49 \pm 0,3 \text{ aA}$	$43,3 \pm 1,5 \text{ aB}$	$40,7 \pm 0,58 \text{ aA}$	$6,9 \pm 0,4 \text{ aA}$	$7,3 \pm 0,4 \text{ aB}$

Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$)

Letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$)

Embora não tenham sido observadas diferenças significativas para a contagem de eritrócitos, hematócrito e proteína total, entre os tratamentos com própolis e o grupo controle, pode-se observar que os animais que receberam 5% de própolis na dieta apresentaram valores maiores nestes parâmetros, em ambos os momentos, quando comparados aos animais do grupo controle. Este fato sugere que a própolis influenciou de forma positiva a contagem de células sanguíneas e a avaliação da proteína total, de acordo com as condições deste experimento, podendo ser uma alternativa no manejo alimentar de sagüis.

4.3. Leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos

Neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos são células sangüíneas brancas que são conhecidas como leucócitos, responsáveis pela defesa do organismo, os neutrófilos possuem receptores na sua superfície como os receptores de proteínas do complemento, receptores do fragmento Fc das imunoglobulinas e moléculas de adesão; os linfócitos são responsáveis pela imunidade celular; os eosinófilos atuam na patogenia das reações alérgicas e nas infecções causadas por parasitas endógenos e por último os monócitos, que se desenvolvem a partir da medula-óssea ficando cerca de um dia na corrente sangüínea e finalmente deslocam-se para os tecidos onde, são denominados macrófagos e são as principais células que realizam a fagocitose.

Não foram observadas diferenças entre os tratamentos, em ambos os momentos, na contagem de leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos. Da mesma forma, não houve diferenças entre os momentos, para cada tratamento (tabela III).

Cunha *et al.* (2005), estudando a variação na contagem de leucócitos totais em *Callithrix jacchus* submetidos ao estresse agudo, observaram aumento significativo na fase de estresse em indivíduos do sexo masculino.

Os neutrófilos são células que apresentam capacidade fagocítica, atuando na resposta imune inespecífica. Um aumento na contagem dos neutrófilos do sangue periférico ou neutrofilia reflete alterações fisiológicas ou patológicas. Em diferentes espécies de mamíferos, a contagem absoluta e relativa de neutrófilos segmentados tende a aumentar durante o estresse agudo, como observado em humanos (Zorrila *et al.*, 1993; Bruunsgard *et al.*, 1999), em macaco Rhesus (Morrow-Tesch *et al.*, 1993) e hamsters (Bilbo *et al.*, 2002; Cunha *et al.*, 2005).

Os linfócitos são responsáveis pela resposta imune específica humoral e celular, atuando na produção de anticorpos, memória imunológica e promovendo a liberação de fatores que regulam a resposta imunológica, como as citocinas (Yoshinaga *et al.*, 1994). Quando o organismo animal é submetido ao estresse, este pode promover aumento da taxa de glicocorticóides (Terlouw, 2002), que, por sua vez, promovem lise do tecido linfático e reduzem o número de linfócitos e eosinófilos circulantes (Dickson, 1996).

Malta *et al.* (2000), estudando os efeitos do estresse crônico de contenção na resposta imunológica de diferentes órgãos de camundongos, observaram a tendência de diminuição no número de eosinófilos dos animais submetidos ao estresse crônico, quando comparados com o controle. A redução significativa de eosinófilos foi também confirmada, quando foi considerado o número total desta célula no cólon, sugerindo assim a relação do estresse com o número de eosinófilos no trato intestinal.

Os monócitos são células produzidas na medula óssea e liberadas para o sangue, onde circulam antes de se estabelecerem em local específico permanentemente, sendo denominados então de macrófagos. Estas células são importantes para o sistema imune celular inespecífico, apresentando capacidade de fagocitose, atividade microbida, produção de citocinas que regulam a resposta tanto inespecífica quanto específica (Stites *et al.*, 2000).

Diversos trabalhos relataram uma ação imunomoduladora da própolis sobre monócitos/macrófagos de camundongos (Dimov *et al.*, 1991; Dimov *et al.*, 1992; Orsi *et al.*, 2000; Orsi *et al.*, 2006). Missima (2005) estudou o efeito da própolis sobre camundongos submetidos ao estresse agudo, verificando que animais estressados e tratados com própolis apresentaram potencialização na geração de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e inibição na liberação de óxido nítrico (NO), além de impedir o aparecimento de alterações encontradas no baço.

Muitas evidências têm sugerido que o estresse modula a resposta imune (Besedovsky e Del Rey, 1996), sendo que o estresse agudo pode estimular as funções de defesa do organismo (Dhabhar, 2002). Nesta pesquisa não foram verificadas diferenças significativas na contagem destas células, em ambos os momentos, para os tratamentos com ou sem a presença de própolis. Este fato sugere que a própolis não estaria auxiliando na homeostasia dos animais, no período de estresse.

TABELA III: Leucócitos totais (μL), Neutrófilos segmentados (%), Linfócitos (%), Eosinófilos (%) e Monócitos (%) de sagüis (*Callythrix* sp) criados em cativeiro e alimentados ou não com própolis (0, 2 e 5%), antes (momento 1 - M1) e após (momento 2 - M2). Os resultados representam a média e os respectivos desvios-padrão.

Própolis	Leucócitos ($\times 10^3$)		Neutrófilos ($\times 10^3$)		Linfócitos ($\times 10^3$)		Eosinófilos ($\times 10^2$)		Monócitos ($\times 10^3$)	
	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
0%	9,8 $\pm$ 1,3aA	19,9 $\pm$ 8,7aA	3,6 $\pm$ 1,3aA	3,0 $\pm$ 1,8aA	4,1 $\pm$ 0,3aA	5,5 $\pm$ 2,5aA	2,3 $\pm$ 1,1aA	3,5 $\pm$ 3,0aA	1,6 $\pm$ 0,7aA	1,5 $\pm$ 1,1aA
2%	17,3 $\pm$ 2,1aA	12,7 $\pm$ 2,7aA	6,8 $\pm$ 2,0aA	5,6 $\pm$ 2,0aA	8,8 $\pm$ 5,1aA	6,3 $\pm$ 0,7aA	2,7 $\pm$ 1,5aA	2,5 $\pm$ 0,5aA	1,4 $\pm$ 1,1aA	0,6 $\pm$ 0,0aA
5%	14,4 $\pm$ 2,8aA	15,6 $\pm$ 1,2aA	7,6 $\pm$ 0,9aA	7,6 $\pm$ 1,5aA	6,2 $\pm$ 2,0aA	6,6 $\pm$ 0,7aA	2,0 $\pm$ 1,1aA	3,7 $\pm$ 1,0aA	0,4 $\pm$ 0,2aA	0,8 $\pm$ 0,4aA

Letras minúsculas diferentes, na mesma linha, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$).

Letras maiúsculas diferentes, na mesma coluna, indicam diferença estatística entre as médias ($P \leq 0,05$).

5. CONCLUSÕES

Os resultados deste experimento permitiram concluir que a adição de própolis na dieta de sagüis mantidos em cativeiro não influenciou a contagem de eritrócitos, hematócrito, proteína total, leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos.

Em relação às proteínas do soro a adição de própolis (5%) pode ser prejudicial aos animais, uma vez que ocorreu diminuição deste parâmetro.

Sugere-se a realização de novos estudos utilizando diferentes tempos de administração e concentrações de própolis, bem como distintos períodos de estresse.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Araújo, A. & Yamamoto, M.E. (1993). Reação a intrusos da mesma espécie em *Callithrix jacchus*. Influência do status social. In: Yamamoto, M.E. & Sousa, M.B.C. *A primatologia no Brasil, SBPR, Universitária*, 15-34.

Bankova, V.S., Castro, S.L. & Marcucci, M.C. (2000). Propolis: Recent advances in Chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3-15.

Besedovsky, H.O. & Del Rey, A. (1996). Immune-endocrine interactions: Facts and hypotheses. *Endocrinology Review*, 17, 64-102.

Bilbo, S.D. et al. (2002). Short day lengths augment stress-induced leukocyte trafficking and stress-induced enhancement of skin immune function. *Proceeding of the National Academy of science of the United States of America*, 99, 4067-4072.

Boere V. et al. (2005). Comparison between sex and age class on some physiological, thermal, and hematological indices of cerrado's marmoset (*Callithrix penicillata*). *Medicine Primatological*, 34, 156-162.

Bruunsgard, H. et al. (1999). Exercise induces recruitment of lymphocytes with an activated phenotype and short telomeres. In: young and elderly, humans, *Life science*, 65, 2623-2633.

Castro, S.L. (2001). Propolis: biological and pharmacological activities. *Therapeutic uses of this bee-product, ARBS*, 3, 49-83.

Coe, C.L. & Hall, N.R. (1996). Psychological disturbance alters thymic and adrenal hormone secretion. In Parallel but independent manner. *Psychoneuroendocrinology*, 21, 237-247.

Cunha, S. et al. (2005). Variação na contagem de leucócitos em *Callithrix jacchus* (Linnaeus, 1758) submetidos a uma situação de estresse agudo. *Revista brasileira de Zoociência*, 7, 217-229.

Dhabhar, F.S. (2002). Stress-induced augmentation of immune function. The role of stress hormones, leukocyte trafficking and cytokines. *Brain, Behavior and immunity*, 16, 785-798.

Dickson, W.M. (1996). Glândulas endócrinas. In Swenson, M. J. & Reece, W. O. Dukes: fisiologia dos animais domésticos, ed. 11, Guanabara Koogan, (pp. 597), Rio de Janeiro.

Dimov, V. et al. (1991). Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function. *Apologie*, 22, 155-162.

Dimov, V., Ivanovska, N. & Bankova, V. (1992). Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative, *Vaccine*, 10, 817-823.

Ganong, W.F. (1995). Review of Medical Physiology, ed.17, *Prentice-Hall*, San Francisco.

Hermes, B.D. & Rickwood D. (1990). *Gel electrophoresis of proteins*, ed. 2, New York.

Jain, N.C. (1993). Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: *Lea & Febiger*, 349-380.

Johnson, E.O. et al. (1996). The biobehavior consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). *Biological Psychiatry*, 40, 317-337.

Kaneko, J.J. et al. (1997). Clinical biochemistry of domestic animals, ed. 5, New York. *Academic*, 932.

Kelly, W.R.(1986). Diagnóstico clínico veterinário, ed. 3, Rio de Janeiro: *Interamericana*, 364.

Malta, J.D. et al. (2000). Efeitos do estresse crônico de contenção na resposta imunológica de diferentes órgãos de camundongos.BALB-C Centro Universitário de Caratinga – UNEC, Caratinga, Minas Gerais-MG.

Marcucci, M.C. (1995). Propolis, chemical composition, biological properties and therapeutic activity, *Apidologie*, 26, 83-99.

Margis, R. et al. (2003). Relação entre estressores, estresse e ansiedade, *Revista de Psiquiatria, suplemento 1*, 65-74.

Missima, F. (2005). Efeito da própolis sobre parâmetros imunológicos de camundongos BALB/c Submetidos a estresse crônico. Tese (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

Morrow - Tesch, J.L., Mcglone, J.J. & Norman, R.L. (1993). Consequences of restraint stress on natural killer activity, behavior, and hormone levels in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Psychoneuroendocrinology*, 18, 383-395.

Orsi, R.O. et al. (2000). Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, 6.

Orsi, R.O. et al. (2006). Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella* Thypi. *Braz. Journal of Microbioogy*, 37.

Palermo-neto , J., Massoco, C.O. & Fávare, R.C. (2001). Effects of maternal stress on axiety levels, macrophage activity, and ehrlich tumor growth. *Neurotoxicology and Teratology*, 23, 497-507.

Ramos, P.R.R. & Silva, R.L.E. (1992). Perfis eletroforéticos de própolis. In VI Encontro sobre Aplicações da Eletroforese na Agropecuária, São Paulo-SP.

Rosario, M.F. et al. (2004). Síndrome ascítica em frango de corte: uma revisão sobre a fisiologia, avaliação e perspectivas. *Ciência Rural*, 34, 1987-1996.

Rylands, A.B. et al. (2000). An assessment of the diversity of New World Primates. *Neotropical Primates*, 8, 61-93.

Sforcin, J.M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113, 1-14.

Sgai, M.G.F.F. (2007) Avaliação da influência das técnicas de enriquecimento ambiental nos parâmetros endócrinos e comportamentais de *Callithrix penicillata* (sagui-de-tufos-pretos) mantidos em estabilidade social e isolados. Tese de mestrado-Universidade Estadual de São Paulo-SP.

Stites, D.P., Terr, A.I. & Parslow, T.G. (2000). *Imunologia Médica*. Editora Guanabara-Koogan, ed 9, Rio de Janeiro - RJ.

Terlouw, E.M.C. (2002). Stress des animaux et qualités de leurs viandes. Rôles du patrimoine génétique et de l'expérience antérieure. *Productions Animales*, 15, 125-133, Paris.

Thomson, W. (1990). Propolis. *Medicine Journal*, 153-654.

Yoshinaga, N. et al. (1994). Individual variations of natural killer activity of rainbow trout leucocytes against IPN virus-infected and uninfected RTG-2 cells. *Physiology and Pathology*, 29, 1-4.

WHO, N.H.D. (2001). Health Organization. Iron deficiency anaemia: assessment, prevention and control. *Geneva*, 1, 3.

Woisky, R.G. & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal Apicultural Research*, 37, 99-105.

Zar, J.H. (1996). Biostatistical analysis. Prentice Hall Upper Saddle River. New York.

Zorrilla, A. et al. (1993). The relations of depression and stressors to immunological assays. A meta analytic review. *Brain, Behavior and immunity*, 15, 199-226.

CAPÍTULO 4

IMPLICAÇÕES

A criação de animais em cativeiro pode promover alterações comportamentais e fisiológicas em função do estresse, colocando em dúvida o bem-estar e a viabilidade da manutenção destes em locais de conservação. Uma das alternativas para minimizar os efeitos do estresse seria o manejo alimentar dos animais, o qual pode ter influência direta sobre a manutenção da saúde dos mesmos.

Devido ao fato de não existirem estudos conclusivos sobre a diversidade, qualidade e quantidade de nutrientes necessários para o equilíbrio orgânico dos símios, existe uma grande dificuldade em se estabelecer dietas adequadas. Além disso, diferenças entre as espécies, status reprodutivo, sexo e idade sugerem o quanto desbalanceada pode ser a dieta desses animais em cativeiro, colocando em risco a saúde dos mesmos. Desta forma, o uso de produtos naturais como a própolis, utilizada como aditivo, em conjunto com outros nutrientes, poderia ser uma importante ferramenta para melhorar o bem-estar geral de animais silvestres em parques e locais de conservação.

Neste trabalho, verificou-se que a própolis afetou apenas o peso dos animais, de forma direta e positiva. Entretanto, sugere-se novos estudos, utilizando-se tempos de administração, concentração de própolis e diferentes períodos de estresse.