

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

AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
E BIOQUÍMICOS SÉRICOS E SEU EFEITO NO BEM-ESTAR DE
PAPAGAIOS-VERDADEIROS (*Amazona aestiva*) EM CATIVEIRO

CÍNTHIA RIO BRANCO DA SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte
das exigências para a obtenção do título
de Mestre.

BOTUCATU – SP
DEZEMBRO - 2011

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

AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
E BIOQUÍMICOS SÉRICOS E SEU EFEITO NO BEM-ESTAR DE
PAPAGAIOS-VERDADEIROS (*Amazona aestiva*) EM CATIVEIRO

CÍNTHIA RIO BRANCO DA SILVA
Zootecnista

Orientador: Prof. Tit. EDSON RAMOS DE SIQUEIRA

Coorientador: Prof. Dr. RICARDO DE OLIVEIRA ORSI

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia como parte
das exigências para a obtenção do título
de Mestre.

BOTUCATU – SP

DEZEMBRO – 2011

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

Silva, Cíntia Rio Branco da, 1982-
S586a Ação da própolis sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos e seu efeito no bem-estar de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*) em cativeiro / Cíntia Rio Branco da Silva. - Botucatu : [s.n.], 2011
xi, 78 f. : tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2011

Orientador: Edson Ramos de Siqueira
Coorientador: Ricardo de Oliveira Orsi
Inclui bibliografia

1. Papagaio-verdadeiro. 2. *Amazona aestiva*. 3. Própolis. 4. Nutrição animal. 5. Estresse 6. Bem-estar. I. Siqueira, Edson Ramos de. II. Orsi, Ricardo de Oliveira. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

"(...) Não se é grande sem crescer,
Não se cresce sem sentir,
Nada existe sem porquê, portanto...
Vai correndo procurar tudo aquilo que almejou
Já sabendo que ao voltar, o mundo será outro
E se um dia ele mudar, quando tudo tiver fim."

(Trecho extraído da música **Café com leite**, do grupo Móveis Coloniais de Acaju, álbum *C_mpl_te*, ano 2009)

Dedicatória

Aos meus pais, Áurea e Gilberto, que com imenso amor e dedicação, nunca pouparam esforços para me proporcionar a melhor educação, apesar de todas as dificuldades encontradas no caminho.

À minha irmã Bruna, que sempre me incentivou e ajudou (na prática e na teoria) a conquistar este objetivo.

Oferecimento

À minha amada avó Judith, que com muita dedicação, força e coragem tornou possível meus sonhos, servindo-me de exemplo.

À ela devo parte do que sou.

Agradecimento Especial

À Deus, pela oportunidade de estar onde estou, ser o que sou, pelo aprendizado através das dificuldades, felicidades através das conquistas e por tudo que me proporcionou sempre.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) – UNESP/BOTUCATU e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade.

Ao professor Edson Ramos de Siqueira pela orientação, dedicação e amizade.

Aos professores Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt e Ricardo de Oliveira Orsi pelas análises, sugestões, correções, contribuições à dissertação e amizade.

Aos professores e membros da banca Carlos Eduardo do Prado Saad, José Roberto Sartori, Regina Kiomi Takahira por aceitarem participar do projeto e contribuírem com sugestões e correções.

Aos professores Carlos Roberto Teixeira e João Carlos Pinheiro Ferreira pelo auxílio durante todo o desenvolvimento do projeto.

Ao professor Rupert Palme e o Instituto de Bioquímica da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Viena - Áustria pela parceria e análises de metabólitos de corticosterona fecais.

À Capes pela bolsa concedida.

À Biotron® pelo fornecimento das rações e, em especial ao Carlos pela parceria.

Aos funcionários da sessão de Pós-Graduação em Zootecnia: Seila e Carlos.

Aos funcionários do Departamento de Produção: Solange e Renato.

Aos funcionários do CEMPAS: Seu Irineu, Renato e Georgete pelas dicas e auxílio prático com as aves.

Aos funcionários do Laboratório Clínico da FMVZ e pós-graduandas Camila e Tatiana pela realização das análises, dedicação e companheirismo.

Aos companheiros de labuta Caroline Destro, Erika, Guilherme e Wolff pela ajuda incondicional, dedicação, empenho e momentos de descontração.

Às minhas irmãs unespianas (em ordem alfabética) Caroline Francisco (Jaca), Claudia (Tia Rô), Cíntia (Jojó), Fabiana(Xica), Fernanda(Niks), Maurícia (Berne) e Thaila que me acompanham desde a graduação e sabem que essa é a família que escolhi em Botucatu, e que estaremos sempre conectadas, independente dos rumos futuros individuais.

Às minhas irmãs paulistanas Iris, Marcela, Patrícia e Renata, que, de longe, me apoiam e incentivam em todas as fases da minha trajetória.

Aos meus 24 “filhos-amigos-bebês” verdes pelo amor, músicas, bicadas casuais e que, de A a Z, foram a base para a realização deste trabalho.

Ao Bock e à Saphira (*in memorian*), pelo amor incondicional e alegria que me proporcionaram durante todos os anos de suas vidas e, principalmente, por me despertarem o interesse pelo comportamento animal.

À minha amada, querida e prezada família – Gilberto, Áurea, Judith e Bruna – por serem meu alicerce, meus exemplos e fonte de força. Por estarem sempre ao meu lado a cada pedra no caminho, preocupações, expectativas e conquistas durante todos os momentos da minha vida.

A todos parentes e amigos, e, porventura, àqueles que eu possivelmente esqueci e que fizeram parte da minha jornada...

Muito obrigada!

SUMÁRIO

| | Página |
|--|--------|
| CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES INICIAIS | 1 |
| 1. Introdução | 2 |
| 2. Revisão de literatura | 3 |
| 2.1 Leis ambientais | 3 |
| 2.2 O papagaio-verdadeiro | 3 |
| 2.3 Estresse e bem-estar | 5 |
| 2.4 Própolis | 9 |
| 3. Objetivos | 12 |
| 3.1 Objetivos gerais | 12 |
| 3.2 Objetivos específicos | 12 |
| 4. Hipótese | 12 |
| 5. Referências | 13 |
| | |
| CAPÍTULO 2 – AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS EM PAPAGAIOS-VERDADEIROS (<i>Amazona aestiva</i>) EM CATIVEIRO | 19 |
| Resumo | 20 |
| Abstract | 21 |
| 1. Introdução | 22 |
| 2. Materiais e métodos | 23 |
| 2.1 Local de estudo | 23 |
| 2.2 Animais e tratamentos | 23 |
| 2.3 Própolis | 24 |
| 2.4 Preparo das rações | 24 |
| 2.5 Análises laboratoriais | 25 |
| 2.5.1 Análises hematológicas e bioquímicas | 25 |
| 2.5.2 Avaliação diária do consumo de ração | 27 |
| 2.5.3 Análise estatística | 28 |
| 3. Resultados | 28 |
| 3.1 Análises bioquímicas | 28 |
| 3.2 Análises hematológicas | 29 |
| 3.3 Avaliação da contagem diferencial de leucócitos | 30 |
| 3.4 Consumo de ração e pesos corporais | 31 |
| 4. Discussão | 36 |
| 4.1 Análises bioquímicas | 36 |
| 4.2 Análises hematológicas | 38 |
| 4.2.1 Série vermelha | 39 |
| 4.2.2 Série branca | 41 |
| 4.3 Consumo de ração e pesos corporais | 44 |
| 5. Conclusões | 44 |

| | |
|--|----|
| 6. Referências | 45 |
| | |
| CAPÍTULO 3 – AÇÃO DA PRÓPOLIS NO BEM-ESTAR DE PAPAGAIOS-VERDADEIROS (<i>Amazona aestiva</i>) EM CATIVEIRO | 49 |
| Resumo | 50 |
| Abstract | 51 |
| 1. Introdução | 52 |
| 2. Materiais e métodos | 53 |
| 2.1 Local de estudo | 53 |
| 2.2 Animais e tratamentos | 53 |
| 2.3 Própolis | 54 |
| 2.4 Preparo das rações | 54 |
| 2.5 Análises | 56 |
| 2.5.1 Análise da razão heterófilo: linfócito (H:L) | 56 |
| 2.5.2 Análise de metabólitos de corticosterona fecais (MCF) | 56 |
| 2.5.3 Avaliação diária do consumo de ração | 58 |
| 2.5.4 Índice de temperatura e umidade (THI) | 58 |
| 2.5.5 Análise estatística | 59 |
| 3. Resultados | 59 |
| 3.1 Análises da razão heterófilo: linfócito (H:L) | 59 |
| 3.2 Análises dos metabólitos de corticosterona fecais (MCF) | 59 |
| 3.3 Consumo de ração e pesos corporais | 59 |
| 3.4 Análises dos índices de temperatura e umidade (THI) | 60 |
| 4. Discussão | 63 |
| 5. Conclusões | 65 |
| 6. Referências | 66 |
| | |
| ANEXO | 69 |
| | |
| CAPÍTULO 4 – IMPLICAÇÕES | 77 |
| Implicações | 78 |

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPÍTULO 2 - AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS EM PAPAGAIOS-VERDADEIROS (*Amazona aestiva*) EM CATIVEIRO

| | Página |
|--|--------|
| Quadro 1. Parâmetros físico-químicos da própolis utilizada no experimento | 24 |
| Quadro 2. Composição da ração Papagaio Mix ® | 25 |
| Quadro 3. Níveis nutricionais da ração Papagaio Mix ® | 25 |
| Tabela 1. Parâmetros bioquímicos séricos (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 32 |
| Tabela 2. Parâmetros hematológicos (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 33 |
| Tabela 3. Leucograma (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 34 |
| Tabela 4. Consumo de ração e pesos corporais (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 35 |

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPÍTULO 3 – AÇÃO DA PRÓPOLIS NO BEM-ESTAR DE PAPAGAIOS-VERDADEIROS (*Amazona aestiva*) EM CATIVEIRO

| | Página |
|---|--------|
| Quadro 1. Parâmetros físico-químicos da própolis | 55 |
| Quadro 2. Composição da ração Papagaio Mix ® | 55 |
| Quadro 3. Níveis nutricionais da ração Papagaio Mix ® | 56 |
| Tabela 1. Razão heterófilo:linfócito (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 61 |
| Tabela 2. Metabólitos de corticosterona (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 61 |
| Tabela 3. Consumo de ração e pesos corporais (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 62 |
| Tabela 4. Índice de temperatura e umidade (média \pm erro padrão) de papagaios-verdadeiros (<i>Amazona aestiva</i>) nos distintos tratamentos e fases experimentais | 62 |

ANEXO

| | Página |
|--|--------|
| Anexo I. Parâmetros bioquímicos de referência para papagaios do gênero <i>Amazona spp</i> | 70 |
| Anexo II. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de referência para papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) | 70 |
| Anexo III. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de referência para papagaios do gênero <i>Amazona spp</i> | 71 |
| Anexo IV. Valores de referência do leucograma para papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) | 71 |
| Anexo V. Valores de referência do leucograma para papagaios do gênero <i>Amazona spp</i> | 72 |
| Anexo VI. Valores de referência da razão heterófilo: linfócito (média \pm desvio padrão) para diferentes espécies de aves | 72 |
| Anexo VII. Valores de referência de metabólitos de corticosterona (média \pm erro padrão) do gênero <i>Amazona spp</i> | 72 |
| Anexo VIII. Peso de referência para papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) . | 72 |
| Anexo IX. Valores mínimos e máximos dos parâmetros bioquímicos de papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) nas distintas fases e tratamentos | 73 |
| Anexo X. Valores mínimos e máximos dos parâmetros hematológicos de papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) nas distintas fases e tratamentos | 74 |
| Anexo XI. Valores mínimos e máximos do leucograma de papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) nas distintas fases e tratamentos ... | 75 |
| Anexo XII. Valores mínimos e máximos dos metabólitos de corticosterona de papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) nas distintas fases e tratamentos | 76 |
| Anexo XIII. Valores mínimos e máximos do consumo de ração (12 e 24 aves) e pesos corporais de papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>) nas distintas fases e tratamentos | 76 |

LISTA DE ABREVIATURAS

AST – Aspartato aminotransferase

CAPE – Éster feniletil do ácido cafeico

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

EIA – Enzima imunoensaio

H:L – Razão heterófilo:linfócito

HT – Hematócrito

LDH – Lactato desidrogenase

MCF – Metabólitos de corticosterona fecais

NO – Óxido nítrico

PPT – Proteína plasmática total

THI – Índice de temperatura e umidade

VCM – Volume corpuscular médio

CAPÍTULO I

Considerações iniciais

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. Introdução

A espécie *Amazona aestiva* (Linnaeus, 1758), conhecida popularmente como papagaio-verdadeiro, destaca-se como a mais popular entre os papagaios, por ser considerada sociável, relativamente inteligente, e de ser capaz de imitar palavras humanas (Sick, 1997).

O tamanho populacional desta espécie ainda não foi quantificado, mas acredita-se que seja grande o suficiente para classificá-la como abundante em grande parte das áreas que habita. Entretanto, devido ao aumento acelerado da população humana, e consequente antropização do ambiente, o habitat natural desta espécie tem sido progressivamente destruído (Collar e Juniper, 1989).

Wright e colaboradores (2001) descreveram que os principais motivos para a manutenção de psitacídeos em cativeiro são: a obtenção de aves de companhia e a raridade de algumas espécies, que são mantidas por colecionadores. É também devido à sua inteligência, potencial para domesticação e treinamento, e seus rostos arredondados; característica atraente para muitas pessoas em qualquer animal (Harcourt-Brown, 2009). Estes motivos fomentam o mercado ilegal de animais silvestres, que atua principalmente na captura de filhotes em ninhos, constituindo uma das principais ameaças de extinção, juntamente com a perda de habitat (Collar e Juniper, 1989).

Em apenas dois municípios do Mato Grosso, o papagaio-verdadeiro foi o psitacídeo mais encontrado como animal de estimação, representando cerca de 30% dos psitacídeos em cativeiro (Pinho et al., 2000).

Nem todas as espécies de psitacídeos podem ser mantidas em cativeiro, por causa de sua raridade ou, como causa mais frequente, pelas exigências nutricionais – por exemplo, o *Micropsitta spp.*, que consome líquens e fungos. Sabe-se que, na natureza, os papagaios procuram alimentos à longa distância e estão adaptados a

passarem por períodos de escassez, sendo sua alimentação baseada em frutas, grãos, sementes, flores e gemas de folhas (Harcout-Brown, 2000).

O homem, ao tornar o papagaio-verdadeiro cativo, restringe seu ambiente, promovendo redução de suas atividades diárias. Além disso, em muitas situações, o fornecimento de dietas desbalanceadas facilita o desenvolvimento de doenças e obesidade (Saad e Machado, 2000).

Como consequência da falta de estudos, há poucas opções em relação à produção de rações comerciais, tornando prática comum o uso de mistura de sementes multi-deficientes em nutrientes (Saad et al., 2007). Associado a isto, o fato de ser mantido em cativeiro pode promover o estresse nas aves.

Neste sentido, a própolis, um produto produzido por abelhas *Apis mellifera* L, apresenta-se como uma importante ferramenta na tentativa de reduzir o efeito do estresse e modular o sistema imune de papagaios cativos.

2. Revisão de literatura

2.1 Leis ambientais

No Brasil, desde 1967 (lei nº. 5.197 de 3 de Janeiro de 1967), é proibido a utilização, perseguição, destruição, caça ou apanha de animais silvestres, bem como de seus ninhos, abrigos e criadouros naturais. A partir de 1997, o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis – IBAMA – através das portarias 117 e 118-N de 15 de Outubro de 1997, tornou lícita a criação de animais da fauna silvestre nacional para fins comerciais. Desde então, um número crescente de criadores tem se dedicado à criação comercial do papagaio-verdadeiro, sendo esta espécie a principal comercializada na maioria dos criadouros (Leite, 2007).

2.2 O papagaio-verdadeiro

O papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) é um representante neotropical da família Psittacidae, pertencente à Ordem Psittaciformes. Os indivíduos desta espécie

apresentam porte médio, com cerca de 35 cm de comprimento, sem dimorfismo sexual e peso de 400g, aproximadamente. A coloração é predominantemente verde, apresentando fronte e lados azuis, cabeça amarela e pés e bico pretos (Forshaw, 1989).

Duas subespécies representam taxonomicamente o *Amazona aestiva* sp.: *A. aestiva aestiva* e *A. aestiva xanthopteryx*. A principal forma de diferenciação é a coloração no encontro das asas: o *A. a. aestiva* apresenta coloração vermelha e tem sua maior distribuição no Brasil oriental e o *A. a. xanthopteryx* apresenta coloração amarelada, com distribuição no Brasil ocidental, Bolívia, Paraguai e Argentina (Darrieu, 1983).

Em sua maioria, os Psittaciformes são monogâmicos. Fora da estação reprodutiva agrupam-se em bandos e voam dos locais-dormitório para áreas de alimentação (pela manhã), realizando o caminho reverso ao entardecer. Na estação reprodutiva formam casais isolados, estabelecendo ninhos em cavidades de árvores (Fernández-Juricic et al., 1998).

Apesar de ser considerada uma espécie abundante, a coleta ilegal de filhotes nos ninhos pode levar a um efeito retardado nas taxas de extinções locais (Brooks et al., 1999). E, uma vez que a espécie se torne vulnerável, dificilmente sairá desse sistema, culminando com sua extinção (Galetti et al., 2002).

A manutenção de psitacídeos, seja para fins de exposição, coleção ou mesmo como aves de companhia, implica no controle do estado sanitário e do bem-estar do animal dentro de parâmetros adequados para a espécie (Rupley, 1999). Entretanto, o bem-estar animal é difícil de ser mensurado, por basear-se em diversas avaliações, como indicadores comportamentais, fisiológicos, clínicos ou patológicos. Comportamentos associados à dor, medo, automutilação, agressividade e apatia, por

exemplo, bem como sinais claros de doença, são classicamente indicadores de que o bem-estar está sendo atingido (Popp, 2006).

O bem-estar tem ligação direta com o sistema imune, sendo este um dos indicadores do estado geral da saúde do animal. Duas das ferramentas para a avaliação do sistema imune x bem-estar podem ser a taxa leucocitária e/ou a razão heterófilo/linfócito (Gross e Siegel, 1983; Vleck et al., 2000).

Em um estudo sobre taxa de leucócitos totais em papagaio-verdadeiro, o valor de referência encontrado por Goulart (2006), de $7,01 (\pm 4,15) \times 10^3$ leucócitos totais/ μL corroboram a referência de McDonald (1996), que considera normal uma variação entre 5×10^3 a 15×10^3 leucócitos totais/ μL .

A razão heterófilo/linfócito foi utilizada em pinguins e frangos, e considerada um indicador seguro de estresse crônico nas aves (Gross e Siegel, 1983; Vleck, 2000).

2.3 Estresse e bem-estar

Como indicativo de tensão, pressão ou insistência, o termo estresse foi adaptado da palavra "stress", de origem inglesa (Cabral et al., 1997; Magalhães, 1998). No campo da saúde, este termo foi introduzido por Hans Selye, em 1936. Selye definiu estresse como uma resposta inespecífica do corpo a qualquer demanda, independentemente de sua natureza, incluindo diversas reações fisiológicas chamadas de Síndrome de Adaptação Geral (Smelter et al., 1996).

O estresse pode ser identificado em três formas ou graus: o eustresse, implicando 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 o distresse, que pode ser prejudicial ao animal, comprometendo a homeostase do organismo (Magalhães, 1998).

Popp (2006) caracterizou o estresse em papagaios-da-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) como uma estimulação continuada, formando um conjunto de reações neuroendócrinas que podem prejudicar as funções orgânicas. Pode apresentar duas formas: crônica (presença prolongada de um estressor) e aguda (associada com uma situação nova e extremamente aversiva ou amedrontadora). Perda de peso, imunossupressão, depressão, apatia e mudanças comportamentais de longa duração podem ser causadas pelo estresse.

No hipotálamo, a resposta à percepção do estresse é integrada, sendo os ajustes necessários coordenados para retornar ao equilíbrio homeostático. Como produto desta resposta há descarga do sistema nervoso simpático, seguida por uma resposta medulo-adrenal-simpática e, se o estresse persistir, o sistema hipotalâmico-hipofisário é ativado. A resposta do sistema nervoso simpático é rápida e de curta duração, com liberação da noradrenalina, afetando o ritmo das funções de órgãos vitais, como o aumento da frequência cardíaca e da pressão arterial. (Smelter et al., 1996).

Estimulada pelo sistema nervoso simpático, a medula da glândula adrenal libera os hormônios adrenalina e noradrenalina no sangue. Estes hormônios também estimulam o sistema nervoso e aumentam o nível de glicose sanguínea, aumentando a taxa metabólica. Este efeito é chamado de reação de “luta e fuga” e ocorre durante o estresse agudo (Smelter et al., 1996).

O estresse crônico é a fase de reação mais longa da resposta fisiológica. Esta fase envolve a via hipotalâmica-hipofisária, fazendo com que o hipotálamo secrete fator de liberação da corticotropina (CRF), estimulando a hipófise anterior a produzir o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). O córtex, estimulado pelo ACTH, produz glicocorticóides, principalmente o cortisol em mamíferos (Smelter et al., 1996) e corticosterona em aves (Siegel, 1980).

Estimulante do catabolismo proteico, tanto a corticosterona como o cortisol liberam aminoácidos, aumentando a captação hepática deles e convertendo-os em glicose, conseqüentemente, inibindo a captação de glicose (reação antinsulina). Este efeito metabólico induzido pela corticosterona/cortisol fornece ao corpo uma fonte imediata de energia durante uma situação estressante (Siegel, 1980; Smelter et al., 1996).

A corticosterona passa a agir também nos tecidos linfóides, reduzindo a produção de anticorpos, principalmente linfócitos, aumentando a suscetibilidade a doenças virais. Em contrapartida, há maior produção de macrófagos e heterófilos, protegendo as aves de possíveis doenças bacterianas (Siegel, 1980).

A alteração no número de linfócitos e heterófilos caracteriza o leucograma de estresse, um dos pontos que possibilitou o uso da razão heterófilo: linfócito como indicadora de estresse (Gross e Siegel, 1983; Campbell, 2004).

O uso da razão H:L é devido ao aumento da proporção entre os fagócitos (resposta inata) e células T e B (resposta adquirida), configurando-se como uma resposta imune ao estresse (Siegel, 1980; Salvante, 2006).

Gross e Siegel (1983) encontraram valores crescentes na razão H:L e em níveis de corticosterona plasmática de frangos que receberam crescentes níveis alimentares de corticosterona ou foram submetidos a estresse ambiental. Nenhum dos parâmetros sugeriu uma diminuição decrescente de susceptibilidade individual das aves frente a desafios de doenças, e ambas ferramentas foram úteis para comparar grupos expostos a vários tipos de estresse.

Animais em cativeiro desenvolvem estresse, e técnicas não invasivas são importantes ferramentas para sua mensuração. Análises de amostras de sangue refletem níveis plasmáticos hormonais de um indivíduo naquele exato momento. Se os padrões do hormônio avaliado apresentam variações (período do dia, por exemplo),

uma simples amostra sanguínea não é suficiente para determinar o estado endócrino de um indivíduo. Em contrapartida, quando a excreta é utilizada para determinações hormonais, reduz-se a interferência das amostragens no comportamento do animal e, por consequência, múltiplas amostras podem ser obtidas de um indivíduo (Goymann, 2005).

Em papagaios da espécie *Psittacus erithacus*, foram encontrados níveis elevados de corticosterona em situação de estresse aparente (arrancamento de penas) (Owen e Lane, 2011). Em *Amazona brasiliensis*, verificou-se um padrão anual de excreção fecal de corticóides, demonstrando que esta técnica, além de simples, é eficiente no monitoramento de atividades adrenocorticais (Popp, 2006).

A corticosterona é altamente metabolizável nos órgãos, especialmente no fígado, e é excretada através da bile para o intestino e pelos rins na urina. Estes produtos são mais solúveis em água do que os esteróides que os originaram, e parte deles são reabsorvidos no intestino e transportados novamente para o fígado. Outra parte sofre ação de bactérias microbianas do intestino, que desempenham um papel adicional na conversão dos metabólitos (Möstl et al., 2005).

Por esta razão, a quantidade de fibras fornecidas, e os microorganismos da flora intestinal, podem influenciar nas diferenças encontradas na quantidade de metabólitos de corticosterona nas fezes de aves (Klasing, 2005; Möstl et al., 2005).

Um dos primeiros cientistas a demonstrar experimentalmente a relação do estresse com o enfraquecimento do sistema imunológico foi Louis Pasteur, em 1822 (Vilela, 2006). Hoje sabe-se que há uma dependência entre imunidade, estresse, bem-estar e nutrição. A nutrição exerce grande influência no crescimento, capacidade reprodutiva e longevidade dos animais, além de atuar também na habilidade do animal em resistir a estresses ambientais e agentes patogênicos (Knapka et al., 1995).

O fornecimento de um alimento balanceado permite a redução do estresse, minimiza as deficiências e melhora a competência imunológica (Butolo, 1998). 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).

Uma das alternativas para a redução dos efeitos do estresse é 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 (Ferraz, 2008).

2.4 Própolis

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, como a enzima salivar β -glicosidase, aumentando a ação farmacológica da própolis (Burdock, 1998; Park et al., 1998; Pinto et al., 2001; Stradiotti et al., 2004). 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 terpenóide, a giberelina (Bastos, 1998).

A própolis é utilizada pelas abelhas para vedar frestas (regulando termicamente a colmeia), recobrir superfícies irregulares ou insetos e eventuais invasores que morrem no interior da colmeia (Mobus, 1972).

As características físicas da própolis são muito variáveis: possui tons que vão desde o amarelo-esverdeado até o negro, passando pelo marrom-avermelhado. É um material elástico, que pode distender em até 200% antes de romper-se, apresentando 1/11 da rigidez da cera. De aroma forte e característico, a própolis é classificada como material lipofílico e possui uma fração volátil de ácidos fenólicos. Suas propriedades adesivas representam 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).

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

A composição da própolis é determinada principalmente pelas características fitogeográficas existentes ao redor das colmeias (Kumazawa et al., 2004), podendo também variar sazonalmente em uma mesma localidade (Sforcin et al., 2000).

As amostras de própolis em regiões temperadas originam-se, em sua maioria, do exsudato do botão de álamo (*Populus sp.*) e são predominantemente, compostas por substâncias flavonóides como o éster feniletil do ácido cafeico (CAPE) (Bankova et al., 2000). No Brasil, apesar da grande variabilidade química entre amostras de própolis, devido as diferentes fontes, os compostos fenólicos como o artepilin C e o ácido hidróxinânico são as principais substâncias, sobretudo oriundas de resinas de *Araucaria angustifolia l.* e *Eucalyptus citriodora* (Sforcin et al., 2000).

Devido à ampla variedade de substâncias que a compõe, a própolis possui propriedades biológicas (antimicrobiana, antifúngica, antiprotozoária, antiviral), terapêuticas (anti-inflamatória, recuperação celular) (Marcucci, 2001) e imunorrestauradora, através da ativação de granulócitos e normalização da porcentagem de linfócitos T e níveis de imunoglobulinas, sugerindo possuir importante efeito terapêutico (Scheller et al., 1989).

A supressão ou potencialização do sistema imunológico definem uma ação imunomoduladora (Kirkley, 1999). A própolis, por sua complexidade química e outros fatores, pode atuar de forma contraditória, sendo, por vezes, descrita como estimulante ou então, inibidora de determinados eventos imunológicos (Fischer et al., 2008).

Estudos científicos apontaram a própolis como estimulante no aumento de leucócitos em camundongos (Sforcin et al., 2005). Produzidos na medula óssea, os leucócitos são grupos celulares que se diferenciam, atuando no sistema imune. Eles propiciam a avaliação da imunidade.

Monferdini e colaboradores (2008) utilizaram a própolis para estimular o sistema imunológico em frangos de corte e obtiveram como resultado o aumento da resistência das aves ao estresse, quando em concentrações superiores a 0,7%. Entretanto, não promoveu alteração significativa na quantidade de linfócitos e monócitos.

Altas doses de própolis em camundongos incrementaram a produção de óxido nítrico (NO), apresentando efeito imunomodulador de macrófagos e doses baixas de efeito imunoestimulante (Orsi et al., 2000). E, em rã-touro (*Rana catesbeiana*), quando às suas rações foi adicionada própolis, houve alterações nos monócitos (em doses de 0,2 e 0,5% de concentração de própolis na ração), mas sem efeitos em outras células (linfócitos, basófilos, neutrófilos e eosinófilos) (Arauco et al., 2006).

A imunossupressão pode ter como consequência a proliferação de microrganismos oportunistas que vivem nos organismos vivos. No entanto, há circunstâncias em que a atividade do sistema imune deve ser reduzida (por exemplo, em casos de transplante ou doenças autoimunes) (Fischer et al., 2008).

Nesse sentido, a própolis possui substâncias flavonoides que podem atuar como inibidoras da proliferação de linfócitos de camundongos, *in vitro* (Sá-Nunes et al., 2003). Houve incremento de NO, em altas concentrações, quando utilizado o CAPE, o

que pode ter sido responsável pela indução de apoptose em linfócitos T auxiliares, prejudicando a proliferação das células T (Gherardi et al., 2000; Orsolich et al., 2004). Estes resultados foram semelhantes à capacidade antitumoral da própolis em camundongos, com utilização de artepilin C (Orsolich e Basic, 2003).

3. Objetivos

3.1 Objetivos gerais: avaliar o efeito do uso da própolis sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos, e no bem-estar de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*) mantidos em cativeiro.

3.2 Objetivos específicos: dosar metabólitos de corticosterona e avaliar parâmetros bioquímicos e hematológicos, quanto:

- a) ao uso de própolis para reduzir o estresse em *Amazona aestiva*.
- b) à proporção de própolis efetiva que atue nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de *Amazona aestiva*.
- c) à correlação entre os metabólitos de corticosterona e parâmetro hematológico (razão heterófilo:linfócito) analisados.

4. Hipótese

Com o uso da própolis há a redução nos níveis dos metabólitos de corticosterona e melhora dos níveis bioquímicos e hematológicos, proporcionando saúde e bem-estar às aves.

O presente estudo foi subdividido em dois capítulos (2 e 3). Para o Capítulo 2, seguiu-se o modelo da revista **Comparative Clinical Pathology** e para o Capítulo 3, o modelo da revista **Applied Animal Behaviour**, visando futuras publicações.

5. Referências

- ARAUCO, L.R.R.; DE STEFANI, M.V.; NAKAGHI, L.S.O. Efeito do extrato hidroalcoólico de própolis na composição leucocitária do sangue de girinos de rã-touro (*Rana catesbeiana*). **Kempffiana**, v. 2, n.1, p.35-44, 2006.
- BANKOVA, V.S.; CASTRO, S.L.; MARCUCCI, M.C. Própolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.
- 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.
- 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.
- BROOKS, T., et al. Deforestation and birds extinctions in the Atlantic forest. **Animal Conservation**, v. 2, p. 211-222, 1999.
- BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee própolis (própolis). **Food and Chemical Toxicology**, v.36, p. 347-63, 1998.
- 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.
- CAMPBELL, T.W., 2004. Hematologia de aves. In: THRALL, M.A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 215-247.
- COLLAR, N.J.; JUNIPER, A.T. Dimensions and causes of the parrot conservation crisis. In. Beissinger, S.R.; Snyder, N.F.R. (ed). **New World Parrot in Crisis:**

- Solutions from Conservation Biology.** Washington: Smithsonian Institution Press, 1988. p. 3-21.
- DARRIEU, C.A. Revision de las razas geográficas de *Amazona aestiva* (Linne), (Aves, Psittacidae). **Neotropica**, v.29, n.81, p.3-10, 1983.
- FERNÁNDEZ-JURICIC, E.; MARTELLA, M.B.; ALVAREZ, E.V. Vocalizations of the blue-fronted amazon (*Amazona aestiva*) in the Chancaní Reserve, Córdoba, Argentina. **Wilson Bull.**, v. 110, n.3, p. 352-361, 1998.
- FERRAZ, M.C. **Própolis na dieta de primatas (*Callithrix sp*) submetidos ao estresse e mantidos em cativeiro.** 2008. 68 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.
- FISCHER, G. et al. Imunomodulação pela própolis. **Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo**, v. 75, n. 2, 247-253, 2008.
- FORSYTH, J.M. **The parrots of the world.** Willoughby: Lansdownem Press. 1989. 584p.
- GALETTI, M. et al. Padrões de riqueza, risco de extinção e conservação dos psitacídeos neotropicais. In.: Galletti, M.; Pizo, M.A. (eds). **Ecologia e Conservação de Psitacídeos no Brasil.** Belo Horizonte, MG: Melopsittacus Publicações Científicas; 2002. p. 17-26.
- GHERARDI, M.M.; RAMIREZ, J.C.; ESTEBAN, M. Interleukin-12 (IL-12) enhancement of the cellular immune response against human immunodeficiency virus type 1 env antigen in a DNA prime/vaccine virus boost vaccine regiment is time and dose dependent: suppressive effects of IL-12 boost are mediated by nitric oxide. **Journal of Virology**, v. 74, n. 4, p. 6278-6286, 2000.
- GOULART, C.E.S., 2006. Valores hematológicos de referência para papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva* – Psittacidae) mantidos em cativeiro.. 80p.

Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GOYMANN, W. Noninvasive monitoring of hormones in bird droppings - physiological validation, sampling, extraction, sex differences, and the influence of diet on hormone metabolite levels. **Annual New York Academy Science**, v.1046, p. 35–53, 2005.

GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of Heterophil/Lymphocyte Ratio as a Measure of Stress in Chickens. **Avian Diseases**. v. 27, n. 4, p. 972-979, 1983.

HARCOURT-BROWN, N.H. Psittacine Birds. In: Tully TN; Dorrestein GM, Jones; AK, (eds). **Handbook of Avian Medicine**. (2nd ed).New York, NY: Elsevier; 2009. p.112-143.

KIRKLEY, S.A.. Proposed mechanisms of transfusion-induced immunomodulation.

Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. v. 6., n. 5., 652-657, 1999.

KLASING, K. C. Potential impact of nutritional strategy on noninvasive measurements of hormones in birds. **Annual New York Academy Science**, v. 1046, p. 5–16. 2005.

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.

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

LEITE, K.C.E. **Análise da Estrutura Genética e Biologia Reprodutiva do Papagaio-Verdadeiro (*Amazona aestiva*)**. 2007. 63 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Católica de Brasília, Brasília.

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.
- MCDONALD, S. 1996. The complete blood count. Disponível em <http://www.oldworldaviaries.com/text/miscellaneous/blood_count.html> Acesso em 15 ago 2010.
- MOBUS, B. The importance of propolis to honey bee. **Brit Bee Journal**, v. 19, n. 8, p. 198-199, 1972.
- MONFERDINI ET. AL., Efeito da própolis no estímulo do sistema imunológico de frangos de corte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA (35), 2008, Gramado, Rio Grande de Sul. **Anais...** Disponível em <http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R1216-2.pdf>
- MÖSTL, E., ET AL. Measurement of corticosterone metabolites in birds' droppings: an analytical approach. **Annual New York Academy Science**, v. 1046, p. 17–34, 2005.
- ORSI, R.O. ET. AL. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, Botucatu, v.6, n.2, p.295-219, 2000.
- ORSOLIC, N.; BASIC, I. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.84, p. 265-273, 2003.
- ORSOLIC, N. ET AL. Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 307-315, 2004.
- OWEN, D.J.; LANE, J.M. High levels of corticosterone in feather-plucking parrots (*Psittacus erithacus*) **Veterinary Record**, v. 158, p. 804-805. 2011.

- PARK, J.H. ET AL. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.3. p.313-318, 1998.
- PINHO, J.B.; NOGUEIRA, F.M.B. Mostra da retirada de psitacídeos em cativeiro na cidade de Cuiabá e Pantanal de Poconé, Mato Grosso, no período de 1995-1997. **Ararajuba**, v.8, n.1, p. 51-53, 2000.
- PINTO, M.S.; ET AL. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.6, p.278-283, 2001.
- POPP, L.G. **Sazonalidade de excreção de corticóides urofecais e sua relação com aspectos reprodutivos e de manejo em papagaio-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*) em cativeiro.**2006.47p. Dissertação (Mestrado) Setor de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- RUPLEY, A.E. **Manual de clínica aviária.** São Paulo: Editora Roca, 1999.
- SÁ-NUNES, A.; FACCIOLI, L.H.; SFORCIN, J.M.. Propolis lymphocyte proliferation and IFN- γ production. **Journal of Ethnopharmacology**, v.87, p. 93-97, 2003.
- SAAD, C.E.P. ET AL. Avaliação do gasto e consume voluntário de rações balanceadas e semente de girassol para papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*). **Ciência Agrotécnica , Lavras**, v. 31, n. 4, p. 1176-1183, 2007.
- SAAD, C.E.P.; MACHADO, P.A.R. Utilização de óleos e gorduras em rações para aves ornamentais e silvestres. **Aves – Revista Sul Americana de Ornitofilia**, Belo Horizonte, v. 4, p. 23-26, 2000.
- SALVANTE, K.G. Techniques for studying integrated immune function in birds. **The Auk**, v. 123, n. 2, p. 575-586, 2006.
- SHELLER, S.; ALEKSANDROWICKZ, J. NIKODEMOWICZ, E. Trials of immunoregulation in patients with chronic bronchitis. **Immunology**, v.14, p. 304-305, 1989.

- SFORCIN, J.M. ET AL. Seasonal effect on Brazilian propolis anticabterial 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, n.3, p.301-305, 2005.
- SICK, H. **Ornitologia Brasileira, uma Introdução**. Nova Fronteira, Rio de Janeiro. 1997. 912p.
- SIEGEL, H.S. Physiological stress in birds. **Bioscience**, v.30, n.8, 1980.
- SMEALTER, S.C.; BARE, B.G.; BRUNNER, S. **Tratado de enfermagem médico-cirúrgica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1, 1996.
- STRADIOTTI, D.; ET AL. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004.
- VILELA,A.L.M. Sistema endócrino. 2006. Disponível em <<http://www.afh.bio.br/endocrino/endocrino3.asp>>. Acesso em 24 jul. 2011.
- VLECK, C.M. ET AL. Stress Corticosterone, and Heterophil to Lymphocyte Ratios in Free-Living Adélie Penguins. **The Condor**. v. 102, n. 2, p. 392 – 400, 2000.
- WRIGHT, T.F. ET AL. Nest Poaching in Neotropical Parrots. **Conservation Biology**. v.15, n.3, p.710 – 720, 2001.

CAPÍTULO II

Ação da própolis sobre parâmetros hematológicos e
bioquímicos séricos em papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*)
em cativeiro

AÇÃO DA PRÓPOLIS SOBRE PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS SÉRICOS EM PAPAGAIOS-VERDADEIROS (*Amazona aestiva*) EM CATIVEIRO

RESUMO: O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do uso da própolis sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos em papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*). Para isto, 12 aves adultas (6 machos e 6 fêmeas) foram distribuídas aleatoriamente em gaiolas individuais, com livre acesso à água e 60g diárias de ração comercial (Papagaio Mix – Biotron®). As aves foram divididas em três tratamentos, com diferentes níveis de própolis (A=0,0%; B=0,5% e C=1,0%), em três fases distintas (I, II e III), com duração de 15 dias para as fases I e III e 30 dias para a fase II, totalizando 60 dias. Nas fases I e III, todas as aves receberam ração do tratamento A, e na fase II receberam A, B ou C, sendo 4 aves por tratamento. Durante o experimento, foram colhidas sobras de ração, diariamente, para determinação do consumo. Ao término de cada fase, as aves foram pesadas e realizou-se colheita de sangue para avaliações bioquímicas e hematológicas. Para as variáveis analisadas foi utilizada ANOVA e o contraste entre as médias pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Parâmetros bioquímicos sugeriram que a própolis a 0,5% reduziu os níveis de lactato desidrogenase (LDH). Quanto aos parâmetros hematológicos, sugeriu-se que no tratamento B houve aumento das concentrações de hemoglobina e eosinófilos. O consumo foi reduzido para as aves do tratamento C (1,0% de própolis) durante a fase II, evidenciando a baixa palatabilidade da ração com alto nível de própolis. Os resultados permitiram concluir que 0,5% de própolis melhorou os níveis de LDH, hemoglobina e eosinófilos; 1,0% de própolis reduziu o consumo de ração pelas aves.

Palavras-chave: leucograma, imunomodulação, palatabilidade.

ACTION OF BRAZILIAN PROPOLIS ON SERUM BIOCHEMICAL AND
HEMATOLOGICAL PARAMETERS FOR CAPTIVE BLUE-FRONTED AMAZON
PARROTS (*Amazona aestiva*)

ABSTRACT The aim of this study was to evaluate the effect of Brazilian propolis on serum biochemical and hematological parameters for captive Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*). Twelve adult birds (6 male and 6 female) were housed in individual cages with *ad libitum* water and each bird received 60g of a commercial diet (Papagaio Mix, Biotron®) per day. Birds were randomly distributed in three treatments which were: A-a commercial diet without Brazilian propolis (Papagaio Mix, Biotron®); B - the commercial diet with 0.5% of Brazilian propolis; and C - the commercial diet with 1.0% of Brazilian propolis. There were 4 repetitions per treatment and the parrot was the experimental unit. The trial lasted 60 days and was divided in three phases (I, II and III), phase I and III lasted 15 days and phase II 30 days. All birds were fed the diet of treatment A during phase I and III and in the phase II parrots were fed the three treatments. Food remains were collected during the whole experimental period for evaluation of feed intake. At the end of each phase, blood sample were collected from for biochemical and hematological evaluation and birds were also weighted. The results were performed by ANOVA and the means were compared by Tukey test ($P \leq 0.05$). Biochemical parameters suggested that 0.5% of Brazilian propolis in diet acted as a liver protection agent reducing the lactate desidrogenase level. For hematological parameters birds from treatment B had the higher hemoglobin concentration and eosinophils count compared to others treatment. The feed intake was lower for birds from treatment C (1.0% of Brazilian propolis) during the phase II showing the low palatability of the diet with high level of propolis. The results showed that 0.5% of propolis improved the levels of LDH, hemoglobin and eosinophils; 1.0% of propolis reduced feed intake by birds.

Key words: leucogram, immunomodulation, palatability.

1. Introdução

O papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) destaca-se como a espécie mais popular entre os papagaios, por ser considerada uma ave sociável, inteligente e capaz de imitar palavras humanas (Sick, 1997).

O homem, ao torná-lo cativo, restringiu seu ambiente, promovendo redução de suas atividades diárias. O fornecimento de dietas desbalanceadas, como o uso de mistura de sementes multideficientes em nutrientes, facilita o desenvolvimento de doenças e obesidade (Saad e Machado, 2000; Saad et al., 2007).

A nutrição exerce grande influência no crescimento, capacidade reprodutiva e longevidade dos animais, além de atuar também na habilidade em resistir a estresses ambientais e agentes patogênicos (Knapka et al., 1995).

A própolis possui propriedades biológicas (antimicrobiana, antifúngica, antiprotozoária, antiviral), terapêuticas (anti-inflamatória, recuperação celular) e imunorrestauradoras, por meio da ativação de granulócitos e normalização de linfócitos T e dos níveis de imunoglobulinas, fato constatado em camundongos (Sforcin et al., 2000; Fisher et al., 2008).

Parâmetros hematológicos e bioquímicos são importantes ferramentas auxiliares no esclarecimento de problemas clínicos. Por esta razão, a hematologia e as análises bioquímicas são de fundamental importância na busca da compreensão de mecanismos fisiológicos relacionados ao sangue (Goulart, 2006; Hawkins et al., 2006).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da própolis nos parâmetros hematológicos e bioquímicos em papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*) em cativeiro.

2. Materiais e métodos

2.1. Local de estudo

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa em Animais Silvestres (CEMPAS) do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Campus de Botucatu, São Paulo.

2.2. Animais e tratamentos

Foram utilizados doze papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), 6 machos e 6 fêmeas, distribuídos em gaiolas individuais (1,40m x 0,60m x 0,40m), sendo todos adultos e de idade indefinida.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e quatro repetições, com distribuição aleatória das aves.

As aves tinham livre acesso à água, e a ração foi fornecida na quantidade de 60 gramas diárias, às 8h00 e às 17h00, divididas em duas porções de 30 gramas.

O projeto foi dividido em três fases:

- 1) Fase I: durante 15 dias, as aves dos três tratamentos receberam ração comercial Papagaio Mix (Biotron®), sem adição de própolis.
- 2) Fase II: com duração de 30 dias, os animais receberam distintos níveis de própolis adicionados na ração:
 - Tratamento A: 0,0% de própolis na dieta total
 - Tratamento B: 0,5% de própolis na dieta total (0,30 gramas de própolis para 60 gramas de ração)
 - Tratamento C: 1,0% de própolis na dieta total (0,60 gramas de própolis para 60 gramas de ração)
- 3) Fase III: as aves dos três tratamentos receberam, durante 15 dias, ração sem adição de própolis.

Ao término de cada fase houve colheita de sangue para análises hematológicas e bioquímicas, e também pesagem das aves. O consumo de ração foi determinado diariamente.

2.3. Própolis

A própolis em pó (produzida por abelhas *Apis mellifera L.*), adicionada à ração, foi adquirida de empresa comercial (Naturall®). Seus parâmetros físico-químicos estão descritos no Quadro 1.

2.4. Preparo das rações

A ração comercial extrusada para psitacídeos (Papagaio Mix® da Biotron®) foi utilizada durante todo o projeto. No processo de extrusão, após a fase de mistura, a ração foi separada em três frações de 200 kg cada. Em duas, foram adicionadas 750 g e 1.500 g de própolis para as rações de 0,5% e 1,0%, respectivamente. À fração restante, não foi adicionada própolis.

A composição da dieta e seus níveis nutricionais estão descritos nos quadros 2 e 3, respectivamente.

Quadro 1: Parâmetros físico-químicos da própolis utilizada no experimento.

| Parâmetro físico-químico | Valor |
|---|----------|
| Cera (%) | 7,3 |
| Sólidos solúveis (%) | 23,0 |
| Flavonóides expressos em quercetina (%) | 0,4 |
| Atividade de oxidação | 8,0 |
| Massa mecânica (%) | 41,0 |
| Compostos fenólicos (%) | 6,5 |
| Umidade (%) | 6,1 |
| Sais mine irais (%) | 4,7 |
| Acetato de chumbo * | Positivo |
| Hidróxido de sódio* | Positivo |
| Tetraciclina | Ausente |
| Clorotetraciclina | Ausente |
| Oxitetraciclina | Ausente |

Laudo emitido pelo Instituto de Biociências do Centro de Estudos de Insetos Sociais (C.E.I.S.) da Universidade Estadual Paulista – campus de Rio Claro.

(*) Limite de detecção mínimo= 200 ppm

Quadro 2: Composição da ração Papagaio Mix®.

| Ingredientes | Quantidade (%) |
|-----------------------------|----------------|
| Milho amarelo moído | 49,90 |
| Milho amarelo laminado | 20,00 |
| Farelo de soja (46%) | 6,00 |
| Soja integral extratificada | 20,00 |
| Núcleo NP 4% | 4,00 |
| Corante amarelo Tartraz | 0,05 |
| Luctarom Sw 500 | 0,05 |

Quadro 3: Níveis nutricionais de garantia da ração Papagaio Mix®

| | Nível | | Nível | | Nível |
|--------------------------------------|----------|-------------------------------|--------|---------------------------|----------|
| Umidade (%) | 11,92 | Metionina total (%) | 0,26 | Vitamina A (UI/kg) | 6.900,00 |
| Proteína bruta (%) | 16,00 | Metionina + Cistina total (%) | 0,55 | Vitamina D3 (UI/kg) | 2.990,00 |
| Fibra bruta (%) | 3,79 | Triptofano total (%) | 0,15 | Vitamina E (mg/kg) | 10,00 |
| Matéria mineral (%) | 5,97 | Lisina Total (%) | 0,78 | Vitamina K (mg/kg) | 0,90 |
| Cálcio (%) | 1,21 | Ferro (mg/kg) | 167,76 | Vitamina B1 (mg/kg) | 0,28 |
| Fósforo total (%) | 0,60 | Iodo (mg/kg) | 1,2 | Vitamina B2 (mg/kg) | 4,50 |
| Fósforo disponível (%) | 0,40 | Manganês (mg/kg) | 92,44 | Niacina (mg/kg) | 15,00 |
| Energia metabolizável aves (Kcal/kg) | 3.238,82 | Selênio (mg/kg) | 0,4 | Ácido pantotênico (mg/kg) | 4,80 |
| Extrato etéreo (%) | 6,08 | Zinco (mg/kg) | 70 | Vitamina B6 (mg/kg) | 0,38 |
| Biotina (mg/kg) | 0,04 | Cobre (mg/ kg) | 8,00 | Vitamina B12 (mcg/kg) | 10,00 |
| Colina (mg/kg) | 240,80 | Sódio (%) | 1,23 | Ácido fólico (mg/kg) | 0,23 |

2.5. Análises laboratoriais

2.5.1. *Análises hematológicas e bioquímicas*

Para colheita das amostras sanguíneas foram utilizadas agulhas (13 x 0,45 mm) e seringas (1,0 mL) indicadas para aves de pequeno porte.

O sangue foi colhido por venopunção da jugular e as amostras separadas em dois tubos: um com anticoagulante – ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), e outro sem anticoagulante, para obtenção do soro após centrifugação.

As análises foram divididas em:

- 1) Bioquímicas – dos tubos sem anticoagulante o soro foi separado após centrifugação e, com auxílio de kits bioquímicos (Katal®), foi realizada leitura em espectrofotômetro automatizado (Cobas Mira®), determinando-se os seguintes parâmetros:
 - Aspartato aminotransferase (**AST**);
 - Lactato desidrogenase (**LDH**);
 - Ácido úrico.
 - Ureia;
- 2) Hematológicas – com as amostras dos tubos com EDTA (5%) foi realizado o hemograma:
 - a. Contagem total de eritrócitos e leucócitos: utilizou-se 10 µL de sangue, diluídos em 1mL de Azul de Toluidina, e contagem em câmara de Neubauer (Improved®) (Zinkl, 1986).
 - Contagem de diferencial de leucócitos: imediatamente após a colheita de sangue, foram realizados 2 esfregaços sanguíneos, identificados e corados com corante hematológico de Wright. Os esfregaços foram examinados sob microscopia óptica convencional, na objetiva de imersão (1.000x). Realizou-se a contagem diferencial dos leucócitos com média de 200 células:
 - Linfócitos
 - Heterófilos
 - Eosinófilos

- Monócitos
 - Basófilos.
- b. Determinação da concentração de hemoglobina: pelo método da cianometahemoglobina, com adição de 20 µL de sangue a 5 mL de reagente Drabkin (Laborclin®) e homogeneização. Após intervalo de 5 minutos, o sangue com o reagente foi centrifugado por 5 minutos a 1500 rpm. Após centrifugação realizou-se leitura em espectrofotômetro semiautomático (Celm® SB 190) (Fudge, 2000);
 - c. Concentração das proteínas plasmáticas totais: realizada por refratometria (Jain, 1986);
 - d. Hematócrito: utilizou-se a técnica do micro-hematócrito, por micro-centrifugação.
 - e. Cálculo do volume corpuscular médio (VCM) e da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Campbell, 2004):

$$\text{VCM (fL)} = \frac{\text{Hematócrito} \times 10}{\text{Contagem total de eritrócitos (milhões/}\mu\text{L ou } 10^6/\text{mm}^3)}$$

$$\text{CHCM (\%)} = \frac{\text{Hemoglobina (g/100 mL)} \times 100}{\text{Hematócrito}}$$

2.1.1 Avaliação diária do consumo de ração

Diariamente, antes de fornecer nova quantidade de ração no período da manhã, foram coletadas as sobras no comedouro, bebedouro e bandeja coletora de excretas. A ração depositada na bandeja foi devidamente separada dos excrementos. As coletas foram realizadas individualmente e as sobras alojadas em coletores

identificados. Para extração da água da ração úmida, toda a sobra foi colocada em embalagens de alumínio, e mantidas por 24h em estufa com circulação forçada de ar, a 55°C. Registraram-se os pesos antes e após a retirada da estufa.

Após a determinação dos valores das sobras secas, calculou-se o consumo:

Consumo total (g) = total de ração fornecida (60g) – peso da sobra seca (g)

2.1.2 *Análise estatística*

Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada, inicialmente, pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as variáveis analisadas foi utilizada a ANOVA. Quando a diferença apresentada era significativa, aplicou-se o teste de Tukey para as médias entre grupos e dentro dos grupos ao longo do tempo. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5% ($p < 0,05$), com auxílio do procedimento GLM do SAS 9.00 (2002). Para os dados que apresentaram coeficientes de variância inferior a 50 %, foi realizada conversão para log na base 10, utilizando a fórmula abaixo:

$$VF = \log_{10} (D + 10)$$

Sendo:

VF - valor final utilizado no programa estatístico

D - dado obtido das análises realizadas.

3. Resultados

3.1 Análises bioquímicas

Os resultados bioquímicos estão apresentados na Tabela 1.

Houve diferença nas médias gerais de AST entre as fases I ($284,39 \pm 48,5$ UI L⁻¹) e II ($245,71 \pm 32,7$ UI L⁻¹); I e III ($191,99 \pm 9,9$ UI L⁻¹), enquanto as fases II e III não diferiram.

Para as concentrações de LDH, a diferença ocorreu no tratamento B, entre as fases I ($498,43 \pm 138,9$ UI L⁻¹) e II ($229,21 \pm 57,1$ UI L⁻¹); ambas não diferiram da fase III. Nas médias gerais desta variável, houve diferença entre as fases I ($401,37 \pm 58,7$ UI L⁻¹) e II ($245,71 \pm 32,7$ UI L⁻¹), I e III ($243,83 \pm 26,1$ UI L⁻¹). As fases II e III não diferiram.

No tratamento A constatou-se diferença para concentração das proteínas plasmáticas totais entre as fases II ($6,92 \pm 0,6$ g dL⁻¹) e III ($5,05 \pm 0,5$ g dL⁻¹); a fase I foi semelhante a ambas. Nas médias gerais, verificou-se que as fases I ($6,08 \pm 0,3$ g dL⁻¹) e II ($6,36 \pm 0,2$ g dL⁻¹) diferiram da fase III ($5,09 \pm 0,2$ g dL⁻¹) e foram semelhantes entre si.

As concentrações de ácido úrico não foram distintas entre as fases I ($8,00 \pm 0,2$ mg dL⁻¹) e II ($8,53 \pm 1,1$ mg dL⁻¹), ambas diferiram da fase III ($4,75 \pm 0,3$ mg dL⁻¹) para o tratamento A. Foi constatada diferença para as aves do tratamento C entre as fases II ($8,18 \pm 1,0$ mg dL⁻¹) e III ($4,83 \pm 0,2$ mg dL⁻¹), as quais não diferiram da fase I ($7,53 \pm 0,63$ mg dL⁻¹). Nas médias gerais, as fases I ($7,60 \pm 0,3$ mg dL⁻¹) e II ($7,48 \pm 0,7$ mg dL⁻¹) diferiram da fase III ($9,17 \pm 1,4$ mg dL⁻¹) e ambas foram iguais entre si.

Entre as médias gerais das fases II ($9,17 \pm 1,4$ mg dL⁻¹) e III ($5,83 \pm 0,6$ mg dL⁻¹) houve diferença para as concentrações de ureia. Ambas as fases foram semelhantes à fase I ($7,33 \pm 0,5$ mg dL⁻¹).

3.2 Análises hematológicas

Os dados hematológicos constam da Tabela 2. Não houve efeito de tratamento ou de fase para hematócrito e volume corpuscular médio (VCM).

Para a variável concentração de hemoglobina, observou-se diferença entre os tratamentos B ($16,03 \pm 0,6$ g dL⁻¹) e A ($15,00 \pm 0,2$ g dL⁻¹) na fase III; ambos não

diferiram do tratamento C ($15,20 \pm 1,0$ g dL⁻¹). As médias gerais foram semelhantes entre as fases II ($14,60 \pm 1,5$ g dL⁻¹) e III ($15,41 \pm 0,4$ g dL⁻¹), e ambas diferiram da fase I ($11,89 \pm 0,3$ g dL⁻¹).

Para a contagem de eritrócitos totais, houve diferença nas médias gerais entre as fases II ($2684,58 \pm 269,6 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) e III ($2092,73 \pm 146,4 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$), ambas semelhantes à fase III ($2154,17 \pm 122,0 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$).

Houve também diferença nas médias gerais para a contagem de leucócitos totais, entre as fases I ($19,75 \pm 1,6 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) e III ($36,33 \pm 2,0 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$). A fase II ($33,25 \pm 6,5 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) não diferiu das demais.

As médias gerais da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) variaram entre as fases I ($27,77 \pm 1,1$ %) e II ($35,27 \pm 3,1$ %); a fase III ($33,01 \pm 0,9$ %) não diferiu das anteriores.

3.3 Avaliação da contagem diferencial dos leucócitos

A Tabela 3 exibe os resultados do leucograma. Os parâmetros que não diferiram foram: contagens de monócitos e basófilos.

Houve diferença na contagem de leucócitos totais, como descrito no item 3.2.

As contagens de linfócitos apresentaram diferenças nas médias gerais entre as fases I ($9,99 \pm 1,1 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) e III ($20,44 \pm 1,9 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$); a fase II ($15,06 \pm 3,1 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) não diferiu das demais.

Não houve diferença entre as fases II ($14,03 \pm 1,6 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) e III ($14,61 \pm 1,9 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) nas médias gerais para as contagens de heterófilos, e ambas diferiram da fase I ($9,02 \pm 1,4 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$).

Para a contagem de eosinófilos houve efeito de fase no tratamento B e diferenças entre as médias gerais. No tratamento B, a fase I ($0,00 \pm 0,0 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) diferiu das fases II ($0,47 \pm 0,2 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) e III ($0,33 \pm 0,2 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$), sem diferença entre as duas últimas.

Nas médias gerais constataram-se semelhanças entre as fases II ($0,34 \pm 0,1 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) e III ($0,45 \pm 0,2 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) e ambas diferiram da fase I ($0,10 \pm 0,1 \times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$).

3.4 Consumo de ração e pesos corporais

Os resultados do consumo de ração e do peso corporal das aves encontram-se na Tabela 4.

Houve diferença de consumo entre as fases I ($29,52 \pm 5,3$ g) e III ($22,38 \pm 4,3$ g) para as aves do tratamento A, que não diferiram da fase II ($27,87 \pm 3,3$ g). Entre as fases I ($33,12 \pm 1,6$ g) e II ($24,61 \pm 2,3$ g), no tratamento C, houve diferença e ambas foram semelhantes à fase III ($29,20 \pm 1,0$ g). Nas médias gerais, a fase II ($27,23 \pm 1,6$ g) não diferiu da fase III ($26,55 \pm 1,7$ g) e ambas diferiram da fase I ($31,41 \pm 2,0$ g).

As aves do tratamento B foram as mais pesadas nas fases II ($478,50 \pm 27,6$ g) e III ($464,92 \pm 15,7$ g), diferindo dos tratamentos A ($245,50 \pm 18,4$ g e $402,50 \pm 14,0$ g, nas fases II e III, respectivamente) e C ($401,00 \pm 21,9$ g e $399,50 \pm 26,3$ g, nas fases II e III respectivamente). Nas fases II e III, os tratamentos A e C foram semelhantes. Para a fase I, o tratamento C ($403,00 \pm 15,7$ g) não diferiu dos tratamentos A ($383,50 \pm 13,7$ g) e B ($451,75 \pm 32,6$ g) e houve diferença entre os dois últimos.

Tabela 1 - Parâmetros bioquímicos séricos (média ± erro padrão) de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), nos distintos tratamentos e fases experimentais.

| Parâmetros | Nível | Fase | | | Média | Probabilidade | | CV (%) |
|--|-------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------|---------------|----------|--------|
| | | I | II | III | | Nível (N) | Fase (F) | |
| AST (U L ⁻¹) | A | 207,47±46,1 | 188,50±19,9 | 176,72±13,9 | 190,90±16,17 | | | |
| | B | 380,57±123,6 | 192,50±24,3 | 219,00±18,8 | 264,02±45,9 | 0,1409 | 0,0257 | 0,4321 |
| | C | 265,12±56,9 | 180,75±24,7 | 180,25±13,1 | 208,71±22,6 | | | 40,35 |
| | Média | 284,39±48,46 ^a | 187,25±12,1 ^b | 191,99±9,9 ^b | | | | |
| LDH (U L ⁻¹) | A | 345,44±80,3 | 277,27±79,5 | 215,75±19,5 | 279,49±38,1 | | | |
| | B | 498,43±138,9 ^a | 229,21±57,1 ^b | 291,50±68,8 ^{ab} | 339,71±60,7 | 0,2556 | 0,0023 | 0,4516 |
| | C | 360,23±86,0 | 230,65±40,8 | 224,25±35,0 | 271,71±35,9 | | | 35,77 |
| | Média | 401,37±58,7 ^a | 245,71±32,7 ^b | 243,83±26,1 ^b | | | | |
| PPT (g dL ⁻¹) | A | 5,65±0,2 ^{ab} | 6,92±0,6 ^a | 5,05±0,5 ^b | 5,87±0,3 | | | |
| | B | 6,65±0,8 | 6,17±0,3 | 5,05±0,2 | 5,96±0,3 | 0,6574 | 0,0011 | 0,1737 |
| | C | 5,92±0,2 | 5,97±0,3 | 5,17±0,5 | 5,69±0,2 | | | 12,35 |
| | Média | 6,08±0,3 ^a | 6,36±0,3 ^a | 5,09±0,3 ^b | | | | |
| Ácido Úrico (mg dL ⁻¹) | A | 8,0±0,2 ^a | 8,53±1,1 ^a | 4,75±0,3 ^b | 6,96±0,6 | | | |
| | B | 7,28±0,5 | 6,00±1,3 | 4,50±0,3 | 5,93±0,6 | 0,0563 | <0,0001 | 0,2845 |
| | C | 7,53±0,6 ^{ab} | 8,18±1,0 ^a | 4,83±0,2 ^b | 6,84±0,6 | | | 17,69 |
| | Média | 7,60±0,3 ^a | 7,48±0,7 ^a | 4,69±0,2 ^b | | | | |
| Ureia (mg dL ⁻¹) | A | 8,5±0,9 | 10,00±4,3 | 4,75±0,8 | 7,75±1,5 | | | |
| | B | 7,25±0,5 | 9,00±0,6 | 6,25±1,1 | 7,50±0,5 | 0,8709 | 0,0549 | 0,7407 |
| | C | 6,25±0,9 | 8,50±1,4 | 6,50±1,2 | 7,08±0,7 | | | 41,98 |
| | Média | 7,33±0,5 ^{ab} | 9,17±1,4 ^a | 5,83±0,6 ^b | | | | |

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases.
AST – Aspartato aminotransferase sérica; LDH – Lactato desidrogenase; PPT – Proteína plasmática total; CV – Coeficiente de Variação

TABELA 2 – Parâmetros hematológicos (média ± erro padrão) de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), nos distintos tratamentos e fases experimentais.

| Parâmetros | Nível | Fase | | | Média | Probabilidade | | CV (%) |
|---|-------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------|---------------|----------|--------|
| | | I | II | III | | Nível (N) | Fase (F) | |
| Hemoglobina (g dL ⁻¹) | A | 11,75±0,3 | 10,43±2,1 | 15,00±0,2 ^B | 12,39±0,9 | | | |
| | B | 12,38±0,4 | 17,78±2,6 | 16,03±0,6 ^A | 15,39±1,1 | 0,0305 | 0,0079 | 0,0796 |
| | C | 11,53±0,6 | 15,60±2,1 | 15,20±1,0 ^{AB} | 14,11±0,9 | | | 18,08 |
| | Média | 11,89±0,3 ^b | 14,60±1,5 ^a | 15,41±0,4 ^a | | | | |
| Hematócrito (%) | A | 43,00±1,1 | 50,33±5,0 | 46,75±3,8 | 46,36±2,0 | | | |
| | B | 47,75±3,8 | 43,25±2,3 | 47,50±2,9 | 46,17±1,7 | 0,6979 | 0,4569 | 0,7401 |
| | C | 39,75±3,7 | 45,75±2,9 | 47,00±3,1 | 44,17±2,0 | | | 19,15 |
| | Média | 43,50±1,9 | 46,09±1,9 | 47,08±1,7 | | | | |
| Eritrócitos Totais (x10 ³ µL ⁻¹) | A | 2088,75±254,7 | 2421,25±233,6 | 2038,75±242,1 | 2182,92±137,1 | | | |
| | B | 2332,50±276,4 | 3213,75±774,7 | 1856,67±160,5 | 2523,18±325,6 | 0,7420 | 0,0433 | 0,2709 |
| | C | 2041,25±78,8 | 2418,75±68,6 | 2323,75±58,6 | 2261,25±108,3 | | | 27,05 |
| | Média | 2154,17±122,0 ^{ab} | 2684,58±269,6 ^a | 2092,73±146,4 ^b | | | | |
| Leucócitos Totais (x10 ³ µL ⁻¹) | A | 21,00±2,4 | 25,50±3,1 | 37,25±4,2 | 27,92±2,7 | | | |
| | B | 16,25±1,5 | 46,75±18,6 | 33,25±1,7 | 32,08±6,8 | 0,7621 | 0,0216 | 0,2597 |
| | C | 22,00±3,7 | 27,50±4,6 | 38,50±4,2 | 29,33±3,0 | | | 46,93 |
| | Média | 19,75±1,6 ^b | 33,25±6,5 ^{ab} | 36,33±2,0 ^a | | | | |
| CHCM (%) | A | 27,33±0,4 | 30,45±5,6 | 32,71±2,6 | 30,16±2,0 | | | |
| | B | 26,34±1,9 | 41,37±6,5 | 33,97±1,6 | 33,89±2,8 | 0,4213 | 0,0404 | 0,4083 |
| | C | 29,65±2,8 | 33,98±3,2 | 32,35±0,2 | 31,99±1,4 | | | 21,19 |
| | Média | 27,77±1,1 ^b | 35,27±3,1 ^a | 33,01±0,9 ^{ab} | | | | |
| VCM (fL) | A | 214,95±26,6 | 156,46±35,5 | 232,35±9,2 | 201,25±16,8 | | | |
| | B | 217,38±39,3 | 156,13±32,4 | 201,55±69,4 | 191,69±27,1 | 0,9509 | 0,2827 | 0,9237 |
| | C | 195,06±16,9 | 189,31±11,5 | 213,99±34,8 | 199,45±12,6 | | | 39,69 |
| | Média | 209,13±15,5 | 167,30±15,6 | 215,96±23,9 | | | | |

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases. CHCM – Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; VCM – Volume Corpuscular Médio; CV – Coeficiente de Variação

TABELA 3 – Leucograma (média ± erro padrão) de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), nos distintos tratamentos e fases experimentais.

| Parâmetros | Nível | Fase | | | Média | Probabilidade | | CV (%) |
|---|-------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------|---------------|----------|--------|
| | | I | II | III | | Nível (N) | Fase (F) | |
| Leucócitos Totais ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | A | 21,00±2,4 | 25,50±3,1 | 37,25±4,2 | 27,92±2,7 | | | |
| | B | 16,25±1,5 | 46,75±18,6 | 33,25±1,7 | 32,08±6,8 | 0,7621 | 0,0216 | 0,2597 |
| | C | 22,00±3,7 | 27,50±4,6 | 38,50±4,2 | 29,33±3,0 | | | 46,93 |
| | Média | 19,75±1,6 ^b | 33,25±6,5 ^{ab} | 36,33±2,0 ^a | | | | |
| Linfócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | A | 9,93±2,2 | 12,53±3,0 | 19,83±1,8 | 14,09±1,8 | | | |
| | B | 9,79±1,5 | 21,45±8,2 | 20,36±2,7 | 17,20±3,1 | 0,4642 | 0,0015 | 0,6252 |
| | C | 10,25±2,5 | 11,19±2,6 | 21,13±5,4 | 14,19±2,5 | | | 4,33 |
| | Média | 9,99±1,1 ^b | 15,06±3,1 ^{ab} | 20,44±1,9 ^a | | | | |
| Heterófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | A | 10,32±1,1 | 12,50±1,5 | 16,02±4,9 | 12,95±1,7 | | | |
| | B | 5,90±0,3 | 14,25±3,4 | 11,65±2,8 | 10,27±1,6 | 0,3589 | 0,0218 | 0,6385 |
| | C | 10,82±3,8 | 15,40±3,6 | 16,16±1,2 | 14,13±1,76 | | | 39,73 |
| | Média | 9,02±1,4 ^b | 14,03±1,6 ^a | 14,61±1,9 ^a | | | | |
| Eosinófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | A | 0,00±0,0 | 0,11±0,1 | 0,70±0,5 | 0,27±0,2 | | | |
| | B | 0,00±0,0 ^b | 0,47±0,2 ^a | 0,33±0,0 ^a | 0,27±0,1 | 0,2391 | 0,0002 | 0,3356 |
| | C | 0,16±0,2 | 0,44±0,1 | 0,31±0,1 | 0,30±0,1 | | | 31,60 |
| | Média | 0,10±0,1 ^b | 0,34±0,1 ^a | 0,45±0,2 ^a | | | | |
| Monócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | A | 0,66±0,1 | 0,26±0,3 | 0,41±0,1 | 0,44±0,1 | | | |
| | B | 0,44±0,1 | 0,31±0,2 | 0,83±0,2 | 0,53±0,1 | 0,6072 | 0,4617 | 0,644 |
| | C | 0,55±0,3 | 0,27±0,1 | 0,60±0,4 | 0,47±0,2 | | | 35,15 |
| | Média | 0,55±0,1 | 0,28±0,1 | 0,61±0,1 | | | | |
| Basófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | A | 0,01±0,1 | 0,11±0,1 | 0,30±0,1 | 0,17±0,1 | | | |
| | B | 0,12±0,0 | 0,32±0,2 | 0,08±0,1 | 0,17±0,1 | 0,1649 | 0,9740 | 0,3330 |
| | C | 0,22±0,0 | 0,20±0,1 | 0,31±0,1 | 0,24±0,0 | | | 35,07 |
| | Média | 0,15±0,0 | 0,21±0,1 | 0,23±0,1 | | | | |

^aMédias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases.
CV – Coeficiente de Variação

TABELA 4 – Consumo de ração e pesos corporais (média ± erro padrão) de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*) nos distintos tratamentos e fases experimentais.

| Parâmetros | Nível | Fase | | | Média | Probabilidade | | CV (%) |
|-------------|-------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------|---------------|----------|--------|
| | | I | II | III | | Nível (N) | Fase (F) | |
| Consumo (g) | A | 29,52±5,3 ^a | 27,87±3,3 ^{ab} | 22,38±4,3 ^b | 26,59±2,5 | 0,0386 | 0,0009 | 0,0227 |
| | B | 31,60±3,2 | 29,20±2,9 | 28,09±2,2 | 29,63±1,5 | | | |
| | C | 33,12±1,6 ^a | 24,61±2,3 ^b | 29,20±1,0 ^{ab} | 28,97±1,4 | | | |
| | Média | 31,41±2,0 ^a | 27,23±1,6 ^b | 26,55±1,7 ^b | | | | |
| Peso (g) | A | 383,50±13,7 ^B | 245,50±18,4 ^B | 402,50±14,0 ^B | 397,20±8,6 | <0,0001 | 0,0777 | 0,3794 |
| | B | 451,75±32,6 ^A | 478,50±27,6 ^A | 464,50±27,5 ^A | 464,92±15,7 | | | |
| | C | 403,00±15,7 ^{AB} | 401,00±21,9 ^B | 399,50±26,3 ^B | 401,17±11,4 | | | |
| | Média | 412,75±14,5 | 428,33±16,1 | 422,17±15,2 | | | | |

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases.
CV – Coeficiente de Variação

4. Discussão

4.1 Análises bioquímicas

Os valores de referência utilizados para discussão dos resultados deste estudo constam do Anexo. Para as variáveis de análises bioquímicas, as referências encontradas referiram-se ao gênero *Amazona* (exceto para proteína plasmática total, no qual uma referência foi para a espécie *Amazona aestiva*).

Na avaliação da função hepática são utilizadas as determinações de concentrações de aspartato aminotransferase (AST) e de lactato desidrogenase (LDH). O AST é encontrado em muitos tecidos de aves (fígado, musculatura esquelética, rim, cérebro e coração), tendo alta atividade no fígado. É uma das ferramentas para avaliar disfunções hepáticas ou danos musculares (Harris, 2000; Campbell, 2004). É ainda pouco utilizada na medicina veterinária por falta de valores de referência (Schmidt et al., 2007).

Foram observadas diferenças entre as fases na média geral para AST. Os tratamentos B e C corroboraram a literatura e o tratamento A apresentou médias acima das literaturas consultadas (Lumeij, 1987; Lumeij e Overduin, 1990 e Fudge, 2000), nas fases II e III. Na fase I, o tratamento A esteve acima dos valores encontrados por Lumeij e Overduin (1990) e enquadrou-se nos valores dos demais.

Encontrado no músculo cardíaco e esquelético, fígado, rim, ossos e eritrócitos, o LDH é uma das ferramentas para auxiliar no diagnóstico de doenças hepatocelulares. E por sua presença nos eritrócitos, níveis superiores de LDH sanguíneo podem, conseqüentemente, indicar hemólise (Campbell, 2004).

Foi possível inferir que a própolis atuou como reguladora do LDH no tratamento B. Ao comparar as fases I e III com os resultados da literatura, verificou-se que foram superiores às referências e que a fase II corroborou a citação de Lumeij (1987).

A atuação da própolis como hepatoprotetora foi sugerida por El-Khatib e colaboradores (2002), em estudo com ratos desafiados com tetracloreto de carbono (CC14), tendo havido redução dos níveis de LDH.

Já em estudos sem desafios, camundongos com diferentes níveis de própolis não apresentaram diferenças para as concentrações de AST e LDH (Sforcin et al., 2002), fato também constatado por Mani e colaboradores (2006) que trabalharam com diferentes tipos de solventes (extratos de própolis alcoólica e aquosa) com a mesma espécie animal.

As concentrações elevadas de proteínas plasmáticas totais (PPT) podem indicar condições inflamatórias agudas ou crônicas, pelo aumento das globulinas e diminuição da albumina. A proteína presente na dieta, ou uma desidratação, também podem influenciar as concentrações de PPT, especialmente de albumina (Schmidt et al., 2007).

A fase I não se diferenciou das demais nas concentrações de PPT para as aves do tratamento A, mas observou-se diminuição entre as fases II e III. Comparando os valores do tratamento A com a literatura, as fases I e III apresentaram valores normais e a fase II superior, sugerindo que a alteração pode ter ocorrido por uma variação normal diária no consumo de ração. As concentrações de todos os tratamentos na fase III também se enquadram como normais, e as diferenças evidenciadas pelo tratamento A para PPT, refletiram-se nas médias gerais.

As aves são uricotélicas, sendo o ácido úrico o principal catabólito do metabolismo de nitrogênio. A determinação de suas concentrações sanguíneas é utilizada como ferramenta para diagnóstico de doenças renais e desidratação, mas pode variar com a dieta, principalmente com o consumo de alimentos proteicos (Campbell, 2007).

Nas fases I e II as concentrações de ácido úrico de todos os tratamentos (incluindo as médias gerais entre as fases) ficaram acima apenas dos resultados publicados por Lumeij e Overduin (1990) e corroboraram valores de Lumeij (1987) e Fudge (2000). Houve redução na concentração de ácido úrico para as aves do tratamento A e C, entre as fases II e III, sugerindo alteração ocasionada pela nutrição, através do fornecimento de alimentação balanceada. Para este parâmetro, a média geral da fase III foi inferior à fase II. O resultado da fase III está de acordo com a literatura consultada (Lumeij, 1987; Lumeij e Overduin, 1990; Fudge, 2000).

A partir de subprodutos de proteínas, a ureia é sintetizada no fígado e é excretada por filtração glomerular. Por este motivo, sua concentração é influenciada pela ingestão de proteína e útil em testes de azotemia pré-renal (Campbell, 2004; Schmidt et al., 2007).

As concentrações de ureia encontradas em todos os tratamentos e fases corroboram os resultados de Lumeij (1987) e foram superiores aos valores reportados por Fudge (2000), com exceção da fase III do tratamento A. Houve diferença entre as médias gerais das fases II e III. Estas concentrações indicaram que a dieta oferecida e o estado hídrico atenderam as necessidades das aves.

4.2 Análises hematológicas

O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e a heparina são os anticoagulantes mais comuns utilizados para análises hematológicas em aves e têm suas vantagens e desvantagens. O EDTA possibilita coloração adequada das células e não predispõe à aglomeração de leucócitos, mas os exames hematológicos devem ser realizados o mais breve possível para evitar artefatos. A heparina possibilita fornecer sangue total para hematologia e plasma para exames bioquímicos, entretanto pode colorir inadequadamente e, por consequência, ocasionar contagem errônea de leucócitos. (Campbell, 2004)

No presente estudo, o EDTA foi utilizado e a literatura consultada utilizou como anticoagulante a heparina (Polo et al., 1998; Goulart, 2006; Paula et al., 2008). Por esta razão, possíveis diferenças entre os valores encontrados e os da literatura consultada podem ser advindos desta diferença nas análises hematológicas.

Fudge (2000) e Campbell (2007) referiram-se ao gênero *Amazona spp.*; todas as outras citações (Polo et al. 1998; Schmidt et al., 1999; I.S.I.S., 2002; Goulart, 2006; Paula et al., 2008) referiram-se ao papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*).

4.2.1 Série vermelha

A hemoglobina é responsável pelo transporte de oxigênio nos eritrócitos. Em aves, a ligação entre a hemoglobina e o oxigênio é mais instável do que em mamíferos, permitindo que o oxigênio esteja disponível mais rapidamente para os tecidos. A diminuição em sua concentração pode indicar anemia (Campbell, 2004).

Os valores da fase I para concentração de hemoglobina estão de acordo (Fudge, 2000; Campbell, 2007; Paula et al., 2008) ou foram inferiores à literatura (Polo et al., 1998; Schmidt et al., 1999; Goulart, 2006). Na fase II, a concentração de hemoglobina para o tratamento A foi considerada normal apenas quando comparada com o estudo de Paula e colaboradores (2008), e menor frente aos demais. Para o tratamento B na mesma fase, o valor foi considerado elevado quando comparado com resultados relatados por alguns autores (Schmidt et al., 1999; Goulart, 2006; e Campbell, 2007) e de acordo com outros (Polo et al., 1998; Fudge, 2000; Paula et al., 2008). No tratamento C, as concentrações de hemoglobina foram superiores às concentrações obtidas por Polo e colaboradores (1998) e Goulart (2006); e inferiores quando comparadas às relatadas por Schmidt e colaboradores (1999), tendo corroborado os resultados dos demais autores consultados (Polo et al., 1998; Fudge, 2000; Goulart, 2006; Campbell, 2007; Paula et al., 2008).

Em poedeiras tratadas com própolis, não foram encontradas diferenças para as concentrações de hemoglobina (Çetin et al., 2010). Em trutas arco-íris, Talas e Gulhan (2009) sugeriram que altos níveis de própolis foram prejudiciais e que o menor nível foi suficiente para manter as concentrações das variáveis hematológicas similares aos animais-controle.

O método mais rápido e prático de avaliação de massa eritrocitária em aves é o hematócrito. No presente estudo, não houve efeito de tratamento nem de fase para este parâmetro e os resultados foram considerados normais quando comparados à literatura para papagaios-verdadeiros (Polo et al., 1998; Schmidt et al., 1999; Goulart, 2006; Paula et al., 2008) e o gênero *Amazona spp.* (Fudge, 2000).

Não foram detectadas diferenças entre os grupos e as fases para as contagens totais de eritrócitos. Todavia, quando comparadas à literatura, o tratamento B apresentou valores inferiores na fase I (Goulart, 2006) e III (Polo et al., 1998; Schmidt et al., 1999; Goulart, 2006; Campbell, 2007), sugerindo que a própolis manteve os níveis desta variável em patamares normais. As médias gerais de eritrócitos na fase II se assemelharam aos resultados publicados por Polo e colaboradores (1998) e Campbell (2007); foram superiores aos de Schmidt e colaboradores (1999); inferiores aos de Goulart (2006).

Em estudo com ratos que receberam própolis, o aumento da produção de eritrócitos ocorreu pela melhor utilização do ferro consumido e por regeneração eficiente da hemoglobina (Haro et al., 2000).

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) é associada à coloração da hemácia. O tamanho da hemácia é mensurado pelo volume corpuscular médio (VCM). Ambos os parâmetros podem caracterizar o tipo de anemia em aves (Campbell, 2004).

Houve diferença entre as fases I e II, sendo ambas semelhantes à fase III para a CHCM, nas médias gerais de fases. Esta diferença reflete o aumento das concentrações de hemoglobina que apresentaram a mesma variação.

Apesar de não ter havido diferenças estatísticas, o VCM da fase I e III do tratamento A, assim como a fase I do tratamento B apresentaram-se superiores a todas as referências para papagaios-verdadeiros (Polo et al., 1998; Goulart, 2006) e para o gênero *Amazona spp.* (Fudge, 2000; Campbell, 2007). A fase II dos tratamentos A e B apresentaram valores inferiores a todas as referências para papagaios-verdadeiros e para o gênero *Amazona spp.*

As fases I e II do tratamento C corroboraram os valores de Polo e colaboradores (1998) e Fudge (2000), e apresentaram-se superiores a duas literaturas consultadas (Goulart, 2006; Campbell, 2007).

Analisando simultaneamente os resultados de eritrócitos e hematócritos, pôde-se inferir que, apesar de algumas diferenças, as aves não apresentaram anemia nas distintas fases e tratamentos.

4.2.2 *Série branca*

A contagem total de leucócitos é utilizada como ferramenta para avaliar a saúde das aves e o bem-estar. Em todas as fases e tratamentos os resultados encontrados estiveram acima dos valores de referência para papagaio-verdadeiro (Polo et al., 1998; Schmidt et al., 1999; I.S.I.S. 2002; Goulart, 2006) e para o gênero *Amazona spp.* (Fudge, 2000; Campbell, 2007). Na média geral, houve diferença entre as fases I e III, ambas semelhantes à fase II.

A imunomodulação pode ser exercida mediante a potencialização ou supressão de elementos do sistema imunológico (Kirkley, 1999). A própolis exerce este efeito, que pode ocorrer de forma contraditória, provavelmente, dentre outros fatores, devido à variedade de seus componentes químicos (Fischer et al., 2008).

A atuação da própolis depende da concentração, período e vias de administração (Sforcin, 2007). A proliferação de linfócitos de camundongos *in vitro*, pôde ser inibida por um dos componentes químicos da própolis (Sá-Nunes et al., 2003). Outro experimento com camundongos *in vivo* demonstrou que altas concentrações de óxido nítrico (NO) prejudicaram a proliferação de células T (Gherardi et al., 2000). A redução no número de células T também pode ocorrer através da ação de um composto ativo da própolis, o éster feniletílico do ácido cafeico (CAPE) (Park et al., 2004). Em dois recentes trabalhos com ratos, pôde-se observar a atuação da própolis como anti-inflamatória (Orsatti et al., 2010a) e pró-inflamatória (Orsatti et al., 2010b). Embora demonstrada a ação da própolis como imunomoduladora, o presente estudo não evidenciou tal ação.

Os heterófilos fazem parte da primeira linha de defesa do organismo. São extremamente eficientes no processo de envolver a bactéria, deixando aos monócitos a tarefa de processar os tecidos mortos (Tizard, 2000). Em todos os tratamentos e fases não houve diferenças para as contagens de heterófilos, tendo ocorrido diferença somente nas médias gerais, sendo a fase I a mais baixa e as fases II e III as mais altas e semelhantes entre si.

Todas as fases e tratamentos apresentaram resultados das contagens de heterófilos superiores às reportadas na literatura para papagaios-verdadeiros (Polo et al., 1998; Schmidt et al, 1999; I.S.I.S., 2002; Goulart, 2006) e para o gênero *Amazona spp.* (Fudge, 2000; Campbell, 2007), com exceção da fase I do tratamento B, cujo resultado foi inferior às contagens encontradas por Schmidt e colaboradores (1999) e Goulart (2006).

As respostas de eosinófilos em aves doentes, raramente são mencionadas pela dificuldade da diferenciação destas células, embora a indicação de eosinopenia, por vezes é aparente (Latimer e Bienzle, 2010).

Quando comparados à literatura para o gênero *Amazona spp.* (Fudge, 2000; Campbell, 2007), as fases I e II do tratamento A, a fase I do tratamento B e as médias gerais enquadraram-se, enquanto os demais tratamentos e fases apresentaram-se superiores. Para a comparação com a literatura referente a papagaios-verdadeiros, apenas a fase I dos tratamentos A e B corroboraram Polo e colaboradores (1998), Schmidt e colaboradores (1999) e Goulart (2006). Os demais tratamentos e fases apresentaram-se superiores aos resultados destes autores e enquadraram-se em apenas uma citação (I.S.I.S., 2002).

O aumento da contagem de eosinófilos, entre as fases I e II do tratamento B, indicou a atuação da própolis como imunomoduladora. Porém, os eosinófilos não têm uma função definida para as aves (Campbell, 2007). Em humanos, eles são estimulados por NO (Silva et al., 2004). Poder-se-ia inferir então que a elevação dos eosinófilos ocorreu por meio da imunomodulação da própolis pelo incremento de NO.

Não houve diferenças entre as fases e tratamentos para as contagens de monócitos. Todos os resultados foram superiores aos encontrados por Fudge (2000) e Campbell (2007) para o gênero *Amazona spp.* e aos de Polo e colaboradores (1998) e Goulart (2006) para papagaios-verdadeiros, corroborando apenas os valores de I.S.I.S. (2002) para *Amazona aestiva*.

As contagens de basófilos não diferiram entre fases ou tratamentos, e os resultados enquadraram-se à literatura consultada para papagaios-verdadeiros (I.S.I.S, 2002) e para o gênero *Amazona spp.* (Campbell, 2007). Quando comparados aos outros autores, há divergências entre tratamentos e fases: a fase I do tratamento A é a única que concorda com os dados de Polo e colaboradores (1998), ficando inferior aos valores relatados por Schmidt e colaboradores (1999) e Goulart (2006). A fase II do tratamento A apresentou-se superior aos resultados publicados por Polo e colaboradores (1998) e Goulart (2006) e inferior aos de Schmidt e colaboradores

(1999); e a fase III teve resultados superiores a todos os consultados na literatura, com exceção dos já citados (I.S.I.S., 2002; Campbell, 2007) aos quais os resultados se enquadraram.

4.3 Consumo de ração e pesos corporais

A diferença de consumo de ração das aves do tratamento C pode ser justificada pelo hábito alimentar de papagaios, que têm preferência a alimentos com maior teor de açúcar (Koutsos et al., 2001). A própolis tem como propriedade o sabor amargo, que foi sentido pelos animais e evidenciado pela redução do consumo na fase II deste tratamento.

Há uma possível hipótese que pode justificar a redução do consumo das aves do tratamento A, entre as fases I e III: antes do início do experimento, foi realizado exame coproparasitológico, que evidenciou a presença de parasitas. O tratamento foi realizado com êxito e deu-se o início do experimento uma semana após a aplicação do vermífugo. Neste período, as aves poderiam estar na fase de consumo aumentado, para compensar o período em que estiveram parasitadas, e a redução ocorreu gradativamente, até que atingissem a normalidade.

Apesar das diferenças observadas nos pesos corporais dos papagaios, pôde-se considerá-los normais e de acordo com os valores relatados por Fudge (2000).

5. Conclusões

Pode-se concluir que a inclusão de própolis (0,5%) na ração de papagaios-verdadeiros melhora os parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos.

A ração com 1,0% de própolis reduziu o consumo de ração das aves.

6. Referências

- Campbell, T.W., 2007. Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology. (3rd ed) Iowa: Blackwell Publishing. 287p.
- Campbell, T.W., 2004. Hematologia de aves. In: THRALL, M.A. et al. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 215-247.
- Çetin, E. et al., 2010. Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. Poultry Sci., 89, 1703-1708.
- El-Khatib, A.M. et al., 2002. Prophylactic effect of aqueous propolis extract against acute experimental hepatotoxicity *in vivo*. Z. Naturforschung., 57, 379-385.
- Fudge, A.M., 2000. Laboratory medicine: Avian and Exotic Pets. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Fisher, G. et al. 2008. Imunomodulação pela própolis. Arq. Inst. Biol., 75, 2, 247-253.
- Gherardi, M.M. et al. 2000. Interleukin-12 (IL-12) enhancement of the cellular immune response against human immunodeficiency virus type 1 env antigen in a DNA prime/vaccine virus boost vaccine regimen is time and dose dependent: suppressive effects of IL-12 boost are mediated by nitric oxide. J. of Virology, 74 (4), 6278-6286.
- Goulart, C.E.S., 2006. Valores hematológicos de referência para papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva* – Psittacidae) mantidos em cativeiro. 80p. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- Haro, A. et al., 2000. Beneficial effect of pollen and/or propolis on the metabolism of iron, calcium, phosphorus, and magnesium in rats with nutritional ferropenic anemia. J. Agric. Food Chem., 48, 5715 – 5722.

- Harris, D. J. 2000. Clinical tests. In: Avian medicine. Tully, T. N., Lawton, M. P. C. and Dorrestein, G. M. (eds.). Oxford, England: Butterworth and Heinemann, 43–51.
- Hawkins, M.G. et al., 2006. Comparison of biochemical values in serum and plasma, fresh and frozen plasma, and hemolyzed samples from orange-winged Amazon parrots (*Amazona amazonica*). *Veterinary Clinical Pathology*. 35 (2), 219-225.
- I.S.I.S. - International Specimen Information System. 2002. Disponível em <<http://www.isis.org>>. Acesso em: 15 jun. 2011.
- Jain, N. C., 1986. Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Lea and Febiger.
- Kirkley, S.A., 1999. Proposed mechanisms of transfusion-induced immunomodulation. *Clin. and Diagn. Lab. Immunology*, 6 (5) 652-657.
- Knapka, J.J; et al. 1995. Nutrition. In: Bennett, B.T.; Abee, C.R.; Henrickson, R. Nohuman primates in biomedical research: biology and management. San Diego: Academic Press, 211-248.
- Koutsos, E.A. et al., 2001. Nutrition of Birds in the Order Psittaciformes: a Review. *J. of Avian Medicine and Surgery*, v. 15, n. 4.
- Latimer, K.S.; Bienzle, D., 2010. Determination and interpretation of the avian leukogram. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. Schalm's Veterinary Hematology, 6th ed., Blackwell Publishing Ltd., 345-357.
- Lumeij, J.T.; Overduin, L.M., 1990. Plasma chemistry references values in psittaciformes. *Avian Pathology*, 19, 2, 235-244.
- Lumeij, J.T., 1987. The diagnostic value of plasma proteins and non-protein nitrogen substances in birds. *The Veterinary Quarterly*, 9 (3), 262-268.
- Mani, F. et al., 2006. Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. 105, 95-98.

- Orsatti, C.L. et al., 2010a. Propolis immunomodulatory action *in vivo* on Toll-like receptors 2 and 4 expression and on pro-inflammatory cytokines production in mice. *Phytother. Res.*, 24, 1141-1146.
- Orsatti, C.L. et al., 2010b. Th1/Th2 cytokines' expression and production by propolis-treated mice. *J. Ethnopharmacol.*, 129, 314-318.
- Park, J.H. et al. 2004. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. *International Immunopharmacology*, 4, 429-436.
- Paula, V.V. et al., 2008. Blood-gas and electrolyte values for Amazon parrots (*Amazona aestiva*). *Pesq. Vet. Bras.* 28 (2), 108-112.
- Polo, F.J. et al., 1998. Hematologic and Plasma Chemistry Values in Captive Psittacine Birds. *Avian Dis.*, 42, 3, 523-535.
- Sá-Nunes, A. et al. 2003. Propolis lymphocyte proliferation and IFN- γ production. *J. of Ethnopharmacology*, 87, 93-97.
- Saad, C.E.P.; Machado, P.A.R., 2000. Utilização de óleos e gorduras em rações para aves ornamentais e silvestres. *Aves – Revista Sul Americana de Ornitofilia*, Belo Horizonte, 4, 23-26.
- Saad, C.E.P. et al., 2007. Avaliação do gasto e consumo voluntário de rações balanceadas e semente de girassol para papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*). *Ciênc. Agrot.*, Lavras, 31, 4, 1176-1183.
- Schmidt, E. M. S. et al., 2007. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola (Revisão). *Arch. of Vet. Sci.*, 12 (3), 9-20.
- Schmidt, E.M.S. et al., 1999. Hematological Parameters and Total Plasma Protein of Parrots (*Amazona spp*) – Preliminary Results. *Arch. of Vet. Sci.*, 4 (1), 124.
- Sforcin, J.M. 2007. Propolis and the immune system: a review. *J. Ethnopharmacol.*, 113, 1-14.

- Sforcin, J.M. et al., 2002. Seasonal effect of Brazilian propolis on seric biochemical variables. *J. Venon. Anim. Toxins*, 8 (2), 244-254.
- Sforcin, J.M. et al., 2000. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *J. Ethnopharm.* , 73, 243–249.
- Silva, R.M. et al., 2004. Relação entre o óxido nítrico e alergia: efeitos dos inibidores de óxido nítrico sintase na migração de eosinófilos de pacientes com rinite alérgica. *Lecta-UFS*, 22, 27-35
- Sick, H., 1997. *Ornitologia Brasileira, uma Introdução*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro.
- Talas, Z.S. e Gulhan, M.F., 2009. Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicol. and Environ. Saf.*, 72, 1994-1998.
- Tizard, I.R. *Imunologia Veterinária – Uma Introdução*. (8ª ed). Rio de Janeiro: Elsevier; 2009.
- Zinkl, J.G., 1986. Avian hematology. In: Jain, N.C. (ed.). *Schalm's Veterinary Hematology*. (4th ed). Philadelphia, Pennsylvania: Lea and Febiger; 256 – 273.

CAPÍTULO III

Ação da própolis no bem-estar de papagaios-verdadeiros

(Amazona aestiva) em cativeiro

AÇÃO DA PRÓPOLIS NO BEM-ESTAR DE PAPAGAIOS-VERDADEIROS (*Amazona aestiva*) EM CATIVEIRO

RESUMO: O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do uso de diferentes níveis de própolis no bem-estar de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*). Para isto, 24 aves adultas (12 machos e 12 fêmeas) foram distribuídas aleatoriamente em gaiolas individuais, com livre acesso à água e a 60g diárias de ração comercial (Papagaio Mix – Biotron®). As aves foram divididas em três tratamentos com diferentes níveis de própolis (A=0,0%; B=0,5% e C=1,0%), em três fases distintas (I, II e III), com duração de 15 dias para as fases I e III e 30 dias para a fase II, totalizando 60 dias. Nas fases I e III, todas as aves receberam ração do tratamento A e na fase II receberam A, B ou C, sendo 8 aves por tratamento. Durante o experimento, foram colhidas sobras de ração diárias para avaliação do consumo e amostras de fezes para mensuração dos metabólitos de corticosterona fecal (MCF). A determinação de MCF foi realizada através da técnica de enzima imunoenensaio (EIA). Ao término de cada fase, quatro aves foram pesadas e realizou-se colheita de sangue para registro da razão heterófilo:linfócito (H:L). Para as variáveis analisadas foi utilizada ANOVA e o contraste entre as médias foi efetuado pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados indicaram que a razão H:L e os MCF não foram afetados pela própolis. O trabalho sugeriu que a própolis não interferiu na razão H:L e nos MCF . Houve redução do consumo de ração pelas aves quando adicionado 1% de própolis.

Palavras-chave: razão heterófilo:linfócito, metabólitos de corticosterona fecais, enzima imunoenensaio (EIA).

EFFECT OF BRAZILIAN PROPOLIS ON THE WELFARE OF CAPTIVE BLUE-
FRONTED AMAZON PARROTS (*Amazona aestiva*)

ABSTRACT :This study aimed to evaluate the effect of Brazilian propolis on the welfare of captive Blue-fronted Amazon parrots (*Amazona aestiva*). Twenty four adult birds (12 male and 12 female) were housed in individual cages receiving *ad libitum* water and each bird received 60g of a commercial diet (Papagaio Mix, Biotron®) daily. Birds were randomly distributed in three treatments which were: A-a commercial diet without Brazilian propolis (Papagaio Mix, Biotron®); B - the commercial diet with 0.5% of Brazilian propolis; and C - the commercial diet with 1.0% of Brazilian propolis. There were 8 repetitions per treatment and the parrot was the experimental unit. The trial lasted 60 days and was divided in three phases (I, II and III), phase I and III lasted 15 days and phase II 30 days. All birds were fed the diet of treatment A during phase I and III and in the phase II parrots were fed the three treatments. Fecal samples were collected during the whole experimental period for analyses of corticosterone metabolites (FCM) and food remains for evaluation of feed intake. FCM was determined through enzymatic immunoassay (EIA). At the end of each phase, blood samples were collected from 4 birds from each treatment (2 males and 2 females) to determine the heterophil:lymphocyte ration and birds were also weighted. The results were performed by ANOVA and the means were compared by Tukey test ($P \leq 0.05$). Results showed that Brazilian propolis did not affected the heterophil:lymphocyte ration and FCM. The feed intake was lower for birds from treatment C (1.0% of Brazilian propolis) during the phase II showing the low palatability of the diet with high level of propolis. Brazilian propolis can be used without affecting the parrots' welfare.

Key words: heterophil:lymphocyte ration, fecal corticosterone metabolites, enzymatic immunoassay

1. Introdução

O papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) destaca-se como a espécie mais popular entre os papagaios, por ser considerada uma ave sociável, inteligente e capaz de imitar palavras humanas (Sick, 1997).

O homem, ao torná-lo cativo, restringiu seu ambiente, promovendo redução de suas atividades diárias. O fornecimento de dietas desbalanceadas, como o uso de mistura de sementes multideficientes em nutrientes, facilita o desenvolvimento de doenças e de obesidade (Saad e Machado, 2000; Saad et al., 2007).

A nutrição exerce grande influência no crescimento, capacidade reprodutiva e longevidade dos animais, além de atuar também na habilidade em resistir a estresses ambientais e agentes patogênicos (Knapka et al., 1995).

Em situação de estresse aparente (automutilação por arrancamento de penas), níveis elevados de corticosterona foram encontrados em papagaio-cinzento (*Psittacus erithacus*) (Owen e Lane, 2011). Em trabalho com papagaios-de-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*), foi possível o monitoramento e a padronização anual de corticoides na excreta fecal, para avaliar o ciclo reprodutivo desta ave (Popp et al., 2008). Ambos os estudos demonstraram que a análise de metabólitos de corticosterona fecal, além de ser uma técnica simples, é eficiente no monitoramento de atividades adrenocorticais.

O fornecimento de um alimento balanceado adequadamente permite a redução do estresse (Butolo, 1998). Uma das alternativas para a redução dos efeitos do estresse é 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 (Ferraz, 2008).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da própolis no bem-estar de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*) em cativeiro.

2. Materiais e métodos

2.1. Local de estudo

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisa em Animais Silvestres (CEMPAS) do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Campus de Botucatu, São Paulo.

2.2. Animais e tratamentos

Foram utilizados vinte e quatro papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), 12 machos e 12 fêmeas, distribuídos em gaiolas individuais (1,40m x 0,60m x 0,40m), sendo todos adultos e de idade indefinida.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e oito repetições, com distribuição aleatória.

As aves tinham livre acesso à água e a ração foi fornecida na quantidade de 60 gramas diárias, às 8h00 e 17h00, dividida em duas porções de 30 gramas.

O projeto foi dividido em três fases:

- 1) Fase I: durante 15 dias, os animais dos três tratamentos receberam ração comercial Papagaio Mix (Biotron®), sem adição de própolis.
- 2) Fase II: com duração de 30 dias, os animais receberam distintos níveis de própolis adicionados na ração:
 - Tratamento A: 0,0% de própolis na dieta total.
 - Tratamento B: 0,5% de própolis na dieta total (0,30 gramas de própolis para 60 gramas de ração).
 - Tratamento C: 1,0% de própolis na dieta total (0,60 gramas de própolis para 60 gramas de ração).

3) Fase III: os animais dos três tratamentos receberam, durante 15 dias, ração sem adição de própolis.

Ao término de cada fase, quatro aves de cada grupo foram submetidas às colheitas de sangue e posterior análise da razão heterófilo:linfócito e o peso corporal foi registrado.

Diariamente, foram colhidos materiais urofecais. A cada sete dias, as amostras diárias deram origem a uma amostra composta, totalizando então duas amostras nas fases I e III, e quatro na fase II.

2.3. Própolis

A própolis em pó (produzida por abelhas *Apis mellífera L.*) adicionada à ração, foi adquirida de empresa comercial (Naturall®) e seus parâmetros físico-químicos estão descritos no Quadro 1.

2.4. Preparo das rações

A ração comercial extrusada para psitacídeos (Papagaio Mix® - Biotron®) foi utilizada durante todo o projeto. No processo de extrusão, após a fase de mistura, a ração foi separada em três frações de 200 kg cada uma. Em duas, foram adicionadas 750 g e 1.500 g de própolis para as rações de 0,5% e 1,0%, respectivamente; à fração restante, não foi adicionada própolis.

A composição da dieta e seus níveis nutricionais estão descritos nos quadros 2 e 3, respectivamente.

Quadro 1: Parâmetros físico-químicos da própolis utilizada no experimento.

| Parâmetro físico-químico | Valor |
|---|----------|
| Cera (%) | 7,3 |
| Sólidos solúveis (%) | 23,0 |
| Flavonóides expressos em quercetina (%) | 0,4 |
| Atividade de oxidação | 8,0 |
| Massa mecânica (%) | 41,0 |
| Compostos fenólicos (%) | 6,5 |
| Umidade (%) | 6,1 |
| Sais mineirais (%) | 4,7 |
| Acetato de chumbo * | Positivo |
| Hidróxido de sódio* | Positivo |
| Tetraciclina | Ausente |
| Clorotetraciclina | Ausente |
| Oxitetraciclina | Ausente |

Laudu emitido pelo Instituto de Biociências do Centro de Estudos de Insetos Sociais (C.E.I.S.) da Universidade Estadual Paulista – campus de Rio Claro.
 (*) Limite de detecção mínimo= 200 ppm

Quadro 2: Composição da ração Papagaio Mix®.

| Ingredientes | Quantidade (%) |
|-----------------------------|----------------|
| Milho amarelo moído | 49,90 |
| Milho amarelo laminado | 20,00 |
| Farelo de soja (46%) | 6,00 |
| Soja integral extratificada | 20,00 |
| Núcleo NP 4% | 4,00 |
| Corante amarelo Tartraz | 0,05 |
| Luctarom Sw 500 | 0,05 |

Quadro 3: Níveis nutricionais de garantia da ração Papagaio Mix®

| | Nível | | Nível | | Nível |
|--------------------------------------|----------|-------------------------------|--------|---------------------------|----------|
| Umidade (%) | 11,92 | Metionina total (%) | 0,26 | Vitamina A (UI/kg) | 6.900,00 |
| Proteína bruta (%) | 16,00 | Metionina + Cistina total (%) | 0,55 | Vitamina D3 (UI/kg) | 2.990,00 |
| Fibra bruta (%) | 3,79 | Triptofano total (%) | 0,15 | Vitamina E (mg/kg) | 10,00 |
| Matéria mineral (%) | 5,97 | Lisina Total (%) | 0,78 | Vitamina K (mg/kg) | 0,90 |
| Cálcio (%) | 1,21 | Ferro (mg/kg) | 167,76 | Vitamina B1 (mg/kg) | 0,28 |
| Fósforo total (%) | 0,60 | Iodo (mg/kg) | 1,2 | Vitamina B2 (mg/kg) | 4,50 |
| Fósforo disponível (%) | 0,40 | Manganês (mg/kg) | 92,44 | Niacina (mg/kg) | 15,00 |
| Energia metabolizável aves (Kcal/kg) | 3.238,82 | Selênio (mg/kg) | 0,4 | Ácido pantotênico (mg/kg) | 4,80 |
| Extrato etéreo (%) | 6,08 | Zinco (mg/kg) | 70 | Vitamina B6 (mg/kg) | 0,38 |
| Biotina (mg/kg) | 0,04 | Cobre (mg/ kg) | 8,00 | Vitamina B12 (mcg/kg) | 10,00 |
| Colina (mg/kg) | 240,80 | Sódio (%) | 1,23 | Ácido fólico (mg/kg) | 0,23 |

2.5 Análises

2.5.1. Análise da razão heterófilo:linfócito (H:L)

Para as colheitas das amostras sanguíneas foram utilizadas agulhas (13 x 0,45 mm) e seringas (1,0 mL) indicadas para aves de pequeno porte.

O sangue foi colhido por venopunção da jugular e utilizou-se EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) a 5% para realizar o esfregaço sanguíneo em lâmina. As lâminas foram identificadas e coradas com corante hematológico de Wright. Realizou-se a contagem de diferencial de leucócitos (heterófilos e linfócitos), com média de 200 células em microscopia óptica convencional na objetiva de imersão (1.000 x). A partir das contagens, dividiu-se o número de heterófilos pelo número de linfócitos para obtenção do valor da razão (Gross e Siegel, 1983).

2.5.2 Análise de metabólitos de corticosterona fecal (MCF)

Para avaliação fisiológica do estresse, os níveis de metabólitos de corticosterona fecal foram mensurados segundo Palme (2005).

As colheitas de material urofecal foram realizadas diariamente, no período da manhã, a partir das 8h00. O material foi armazenado em coletores universais de 80 mL e mantido em freezer (-15° C). A cada 7 dias foram trocados os coletores, para obtenção de uma amostra composta semanal, resultando em 1 coletor/semana/ave.

Ao término do experimento as amostras foram armazenadas em geladeira por 12 horas, para descongelamento. A seguir, obteve-se uma massa homogênea de cada coletor, separada em microtubos do tipo *ependorf*, de 2,0 mL, previamente identificados com a letra do animal e o momento.

Inicialmente, os microtubos contendo as alíquotas semanais foram preparados, sendo então abertos e recobertos com papel alumínio perfurado (para saída da água), dispostos em *racks* de papelão e levados ao freezer (- 80° C) por 24h. Após este período, as amostras foram liofilizadas e armazenadas em freezer (-15° C). A partir deste momento foi realizada a extração: 0,05 g das amostras ($\pm 0,001$) foram pesadas e alocadas em tubos de vidro, com adição de 1mL de metanol. As amostras foram homogeneizadas e alocadas em vórtex por 30 minutos e, posteriormente, o extrato foi centrifugado por 20 minutos a 2550 rpm. O sobrenadante foi transferido para microtubos do tipo *ependorf* e deste, 0,5 mL utilizado para posterior análise. Estas amostras foram enviadas para o Instituto de Bioquímica da Faculdade de Veterinária – Universidade de Viena – Áustria, no qual a mensuração por enzima imunoensaio (EIA) foi realizada segundo a rotina empregada pela equipe técnica do Instituto.

Após a mensuração por EIA, foi realizada conversão e correção dos valores, para que os mesmos fossem expressos em nanograma por grama de fezes seca, conforme as equações:

$$I) \quad X_1 = (B * 1050 * 1/10) / (0,05 * 30 * 1000) \text{ onde:}$$

X_1 - valor da primeira correção

B – valor fornecido após a primeira leitura por enzima imunoensaio.

II) $X_2 = (X_1/5)*4$ onde:

X_2 – valor final corrigido (metabólitos de corticosterona em nanograma por grama de fezes)

2.5.3 Avaliação diária do consumo de ração

Diariamente, antes de fornecer nova quantidade de ração no período da manhã, foram coletadas as sobras de alimento nos comedouros, bebedouros e na bandeja coletora de excretas, sendo que, na bandeja, foi realizada a separação de ração e excretas. As coletas foram realizadas individualmente e as sobras armazenadas em coletores identificados. Para extração da água da ração úmida, toda a sobra foi colocada em embalagens de alumínio, e mantidas por 24h em estufa com circulação forçada de ar, a 55°C. Registrou-se os pesos antes e após a retirada da estufa.

O consumo foi calculado da seguinte forma:

Consumo total (g) = total de ração fornecida (60g) – peso da sobra (g)

2.5.4 Índice de temperatura e umidade (THI)

Foram utilizados dados meteorológicos da Estação Meteorológica da Fazenda Experimental do Lageado – UNESP – Botucatu. Foi realizado o cálculo do THI (Índice de Temperatura e Umidade):

$$THI = Tbs + 0,36 \times Tbu + 41,5$$

em que Tbs = temperatura do bulbo seco, em °C; e Tbu = temperatura do bulbo úmido, em °C. Este índice foi utilizado para indicar se a condição climática do ambiente era de conforto às aves.

2.5.5 *Análise estatística*

Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada, inicialmente, pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Para as variáveis analisadas foi utilizada a ANOVA. Quando houve diferença significativa, aplicou-se o teste de Tukey para as médias entre grupos e dentro dos grupos ao longo do tempo. Em todos os cálculos foi fixado um nível crítico de 5% ($p < 0,05$), com auxílio do procedimento GLM do SAS 9.00 (2002). Para os dados que apresentaram coeficientes de variância inferior a 50%, foi realizada conversão para log na base 10, utilizando a fórmula abaixo:

$$VF = \log_{10} (D + 10)$$

Sendo:

VF - valor final utilizado no programa estatístico

D - dado obtido das análises realizadas.

3. Resultados

3.1 Análises da razão heterófilo: linfócito (H:L)

Os resultados da razão H:L encontram-se na Tabela 1. Não houve diferenças entre as fases ou tratamentos.

3.2 Análises dos metabólitos de corticosterona fecal (MCF)

Os resultados do MCF para 24 aves encontram-se na Tabela 2. Não houve diferenças entre as fases ou tratamentos.

3.3 Consumo de ração e pesos corporais

Os resultados do consumo de ração e do peso corporal das aves encontram-se na Tabela 3.

No tratamento A houve diferença entre as fases I ($29,52 \pm 5,3$ g) e III ($22,38 \pm 4,3$ g), e a fase II ($27,88 \pm 1,6$ g) não diferiu das anteriores. O maior valor de consumo para as aves do tratamento C ocorreu na fase I ($32,55 \pm 1,3$ g), que diferiu das fases II ($23,14 \pm 1,5$ g) e III ($26,03 \pm 1,7$ g), as quais foram semelhantes entre si. O mesmo ocorreu na média geral, no qual a fase I ($30,68 \pm 1,1$ g) apresentou maior valor frente às fases II ($26,34 \pm 1,0$ g) e III ($25,23 \pm 1,1$ g), também se assemelharam.

Na fase II o tratamento C ($23,14 \pm 1,5$ g) diferiu dos tratamentos A ($27,88 \pm 1,6$ g) e B ($28,01 \pm 1,9$ g), os quais foram iguais sob a ótica estatística, para o consumo.

Os animais diferiram em peso na fase I, sendo as aves do tratamento B ($451,75 \pm 32,6$ g) as mais pesadas, do tratamento A ($383,50 \pm 13,7$) as mais leves enquanto os do tratamento C ($403,00 \pm 15,7$) não diferiram de A, nem de B. Na fase II, o tratamento B ($478,50 \pm 27,6$ g) diferiu dos tratamentos A ($405,50 \pm 14,0$ g) e C ($401,00 \pm 21,9$ g). Na fase III, houve diferença entre o tratamento B ($464,92 \pm 15,7$ g) e os tratamentos A ($397,20 \pm 8,6$ g) e C ($399,50 \pm 26,3$ g). Os tratamentos A e C não diferiram nas fases II e III.

3.4 Análises dos índices de temperatura e umidade (THI)

Os índices de temperatura e umidade (THI) verificados no período experimental encontram-se na Tabela 4.

O maior valor de THI ocorreu na fase I ($72,69 \pm 0,6$), que diferiu das fases II ($70,16 \pm 0,8$) e III ($68,78 \pm 0,5$), as quais foram semelhantes entre si.

Tabela 1 – Razão heterófilo:linfócito (média ± erro padrão) de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), nos distintos tratamentos e fases experimentais.

| | Nível | Fase | | | Média | Probabilidade | | CV (%) |
|-----|-------|----------|----------|----------|----------|---------------|----------|--------|
| | | I | II | III | | Nível (N) | Fase (F) | |
| H:L | A | 1,21±0,3 | 1,14±0,3 | 0,86±0,3 | 1,07±0,2 | 0,0859 | 0,1303 | 1,65 |
| | B | 0,66±0,1 | 1,10±0,2 | 0,68±0,3 | 0,81±0,1 | | | |
| | C | 1,32±0,7 | 1,60±0,6 | 1,00±0,3 | 1,30±0,3 | | | |
| | Média | 1,06±0,2 | 1,28±0,2 | 0,85±0,2 | | | | |

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases.
H:L – Razão heterófilo: linfócito; CV – Coeficiente de Variação; n = 12.

Tabela 2 – Metabólitos de corticosterona (média ± erro padrão) de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), nos distintos tratamentos e fases experimentais.

| | Nível | Fase | | | Média | Probabilidade | | CV (%) |
|------------------------------|-------|----------|----------|----------|----------|---------------|----------|--------|
| | | I | II | III | | Nível (N) | Fase (F) | |
| MCF (ng g ⁻¹) | A | 0,54±0,3 | 0,60±0,3 | 0,50±0,2 | 0,55±0,1 | 0,7392 | 0,0847 | 1,11 |
| | B | 0,48±0,1 | 0,66±0,2 | 0,56±0,3 | 0,57±0,1 | | | |
| | C | 0,44±0,1 | 0,72±0,2 | 0,36±0,1 | 0,51±0,1 | | | |
| | Média | 0,49±0,1 | 0,66±0,1 | 0,47±0,1 | | | | |

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases.
MCF – Metabólitos de corticosterona nas fezes; CV – Coeficiente de Variação; n = 24.

Tabela 3 – Consumo de ração e peso corporal (média ± erro padrão) de papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*), nos distintos tratamentos e fases experimentais.

| | Nível | Fase | | | Média | Probabilidade | | CV (%) |
|-------------|-------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------|---------------|----------|--------|
| | | I | II | III | | Nível (N) | Fase (F) | |
| Consumo (g) | A | 29,27±2,5 ^a | 27,88±1,6 ^{Ab} | 23,34±2,0 ^b | 26,83±1,3 | | | |
| | B | 30,24±1,8 | 28,01±1,9 ^A | 26,33±2,3 | 28,19±1,1 | 0,2405 | <0,0001 | 0,0007 |
| | C | 32,55±1,3 ^a | 23,14±1,5 ^{Bb} | 26,03±1,7 ^b | 27,24±1,2 | | | 10,30 |
| | Média | 30,68±1,1 ^a | 26,34±1,0 ^b | 25,23±1,1 ^b | | | | |
| Peso (g) | A | 383,50±13,7 ^B | 245,50±18,4 ^B | 402,50±14,0 ^B | 397,20±8,6 | | | |
| | B | 451,75±32,6 ^A | 478,50±27,6 ^A | 464,50±27,5 ^A | 464,92±15,7 | <0,0001 | 0,0777 | 0,3794 |
| | C | 403,00±15,7 ^{AB} | 401,00±21,9 ^B | 399,50±26,3 ^B | 401,17±11,4 | | | 3,76 |
| | Média | 412,75±14,5 | 428,33±16,1 | 422,17±15,2 | | | | |

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases. CV – Coeficiente de Variação. Consumo: n=24; Peso: n=12.

Tabela 4 – Índice de temperatura e umidade (média ± erro padrão) nas distintas fases experimentais.

| | Fase | | | Probabilidade | CV (%) |
|-----|------------------------|------------------------|--------------------|---------------|--------|
| | I | II | III | | |
| THI | 72,69±0,6 ^a | 70,16±0,8 ^b | 68,78 ^b | 0,0011 | 3,48 |

*Médias seguidas por letras maiúsculas distintas indicam diferenças entre os tratamentos dentro da fase experimental; e as seguidas por letras minúsculas distintas representam diferenças do tratamento entre as fases. THI – Índice de temperatura e umidade.

4. Discussão

Os valores de referência utilizados para discussão dos resultados deste estudo constam do Anexo.

Ao interpretar a razão heterófilo:linfócito (H:L), é preciso lembrar que ela pode aumentar com heterofilia absoluta ou com linfopenia. A verdadeira resposta ao estresse, observada após a administração de corticosteroides, é caracterizada pela heterofilia em conjunto com o desenvolvimento de linfopenia. (Latimer e Bienzle, 2010). Pelo seu efeito imunomodulador, estudos indicaram que a própolis aumentou as quantidade de óxido nítrico (Orsi et al., 2000), um fator que pode estimular a produção de heterófilos (Tell et al., 1997). Por esta razão, a própolis poderia ocasionar alterar a razão H:L, indicando um falso quadro de estresse, o que não foi constatado neste estudo.

Na literatura não há dados para a razão H:L de papagaios-verdadeiros. Por este motivo, os valores de referência utilizados foram de trabalhos com frangos (*Gallus domesticus* – Jain, 1993; Simaraks et al., 2004), faisões (*Phasianus colchicus* – Schmidt et al., 2004), perus (*Meleagris gallopavo* – Schmidt et al., 2009) e pinguins adélie (*Pygoscelis adeliae* – Vleck et al., 2000).

Todos os resultados encontrados para a razão H:L foram superiores quando comparados aos encontrados por Jain (1993) e Simaraks e colaboradores (2004) para frangos e por Schmidt e colaboradores (2009) para perus. Apenas a fase I do tratamento A e as fases I e II do tratamento C foram superiores aos de Schmidt e colaboradores (2007) para faisão macho. Todos os valores corroboraram aos de Vleck e colaboradores (2000) para pinguins adélie.

A razão H:L evidenciou-se útil para testes com administração de corticosteroides (Gross e Siegel, 1983; Vleck et al., 2000; Latimer e Bienzle, 2010). Segundo Latimer e

Bienzle (2010), a razão H:L atualmente representa uma manipulação de valores clínicos limitados na avaliação de estresse em aves.

Os estudos da dosagem dos metabólitos de corticosterona fecal (MCF) em aves aumentaram na última década. Palme (2005) descreveu formas para padronização da dosagem destes metabólitos, a fim de não somente divulgar, mas incentivar o uso desta importante ferramenta na avaliação do bem-estar de aves e mamíferos, em geral.

A maior dificuldade atual é a padronização da técnica de análise de MCF, atribuída, sobretudo, à grande variedade de aves existentes. Como exemplo, tem-se a ordem Psittaciformes, que possui 80 gêneros e 358 espécies (Harcourt-Brown, 2000). Por esta razão, muitos trabalhos referentes à padronização e divulgação da técnica vêm sendo publicados (Möstl e Palme, 2002; Millspaugh e Washburn, 2004; Goymann, 2005; Klasing, 2005; Möstl et al., 2005; Palme, 2005; Touma e Palme, 2005).

Em psitacídeos, ainda são poucos os trabalhos relacionados a esta técnica. Popp e colaboradores (2008) descreveram padrões anuais de metabólitos de corticosterona para papagaios-da-cara-roxa (*Amazona brasiliensis*), tendo utilizado a mesma técnica deste estudo.

Owen e Lane (2011) determinaram os valores de MCF em dois grupos de papagaios-cinzento; o primeiro com estresse aparente (automutilação com arrancamento de penas); e o segundo em bem-estar. Os resultados demonstraram que os papagaios, ao realizar automutilação, estavam em estresse crônico. Tal comportamento não foi observado nas aves desta pesquisa.

A corticosterona é altamente metabolizável nos órgãos, especialmente no fígado, e é excretada através da bile para o intestino e pelos rins na urina. Parte desta corticosterona sofre ação de bactérias do intestino, que desempenham um papel

adicional na conversão dos metabólitos. Por esta razão, a quantidade de fibras fornecidas e os micro-organismos da flora intestinal podem influenciar as diferenças encontradas na quantidade de metabólitos de corticosterona fecal (Klasing, 2005; Möstl et al., 2005). No presente estudo, apenas o tratamento C na fase II corroborou os resultados encontrados por Popp e colaboradores (2008) em papagaios-da-cara-roxa. Todos os outros tratamentos e fases foram inferiores aos da literatura consultada.

A diferença de consumo das aves do tratamento C pode ser justificada pelo hábito alimentar de papagaios, que tem preferência por alimentos com maior teor de açúcar (Koutsos et al., 2001). A própolis tem como propriedade o sabor amargo, que foi sentido pelos animais e evidenciado pelo consumo na fase II. Esta redução de consumo entre as fases I e III não foi significativa a ponto de justificar a redução do peso corporal. Pode-se aventar a hipótese da queda do THI, da fase I à II, ter afetado o consumo das aves.

Apesar das diferenças entre os tratamentos em todas as fases, todos os pesos corroboram os valores encontrados por Fudge (2000).

Além da alimentação, o ambiente também é um fator de estresse para aves em cativeiro. Os índices de temperatura e umidade (THI) na área de permanência dos papagaios situaram-se próximos à faixa de conforto para frangos, que varia de 71 a 75 (Barbosa Filho, 2004). Em ambientes naturais, o papagaio-verdadeiro tem ampla distribuição geográfica, adaptando-se a diversos climas, portanto, inferiu-se que o fator climático não afetou negativamente a condição de bem-estar.

5. Conclusão

Pode-se concluir que a inclusão de própolis na ração não afetou os níveis de corticosterona e a razão H:L.

A ração com 1% de própolis reduziu o consumo de ração pelas aves.

6. Referências

- Barbosa Filho, J.A.D. 2004. Avaliação do bem-estar de aves poedeiras em diferentes sistemas de produção e condições ambientais utilizando análises de imagens. 123 p. Dissertação (Mestrado) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba.
- Butolo, J.E., 1998. Agentes antimicrobianos em rações de aves e suínos. In Reunião anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 35, Botucatu, SP. Anais... Botucatu: SBZ, 1998. P. 237-254.
- Ferraz, M.C., 2008. Própolis na dieta de primatas (*Callithrix sp*) submetidos ao estresse e mantidos em cativeiro. 68 p. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.
- Fudge, A.M., 2000. Laboratory medicine: Avian and Exotic Pets. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Goymann, W., 2005. Noninvasive monitoring of hormones in bird droppings - physiological validation, sampling, extraction, sex differences, and the influence of diet on hormone metabolite levels. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1046, 35–53.
- Gross, W.B.; Siegel, H.S., 1983. Evaluation of the heterophil/lymfocyte ratio as a measure of stress in chickens. Avian Dis. 27, 972-979.
- Harcourt-Brown, N.H. Psittacine birds. In: Tully TN; Dorrestein GM, Jones; AK, (eds). Handbook of Avian Medicine. (2nd ed).New York, NY: Elsevier; 2009, 112-143.
- Jain, N.C., 1993. Essential of Veterinary Hematology, Lea & Febriger. Philadelphia.
- Klasing, K. C., 2005. Potential impact of nutritional strategy on noninvasive measurements of hormones in birds. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1046, 5–16.
- Knapka, J.J; et al., 1995. Nohuman primates in biomedical research: biology and management. San Diego: Academic Press, 211-248.

- Koutsos, E.A. et al., 2001. Nutrition of birds in the order psittaciformes: a review. *J. Avian Med Surg.* 15 (4), 257-275.
- Latimer, K.S.; Bienzle, D. Determination and interpretation of the avian leukogram. In: Weiss, D.J.; Wardrop, K.J. (eds). *Shalm's Veterinary Hematology* (6th ed) Iowa: Wiley-Blackwell; 2010, 345-357.
- Millspaugh, J.J., Washburn, B.E., 2004. Use of fecal glucocorticoid metabolite measures in conservation biology research: considerations for application and interpretation. *Gen. & Compar. Endocrin.* 138, 189–199.
- Möstl, E. & Palme, R., 2002. Hormones as indicators of stress. *Dom. Anim. Endocrin.* 23, 67–74.
- Möstl, E., et al., 2005. Measurement of corticosterone metabolites in birds' droppings: an analytical approach. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1046, 17–34.
- Orsi, R.O. et. al. 2000. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *J.Venom. Anim. Toxin., Botucatu*, 6 (2), 295-219.
- Owen, D.J.; Lane, J.M. 2011. High levels of corticosterone in feather-plucking parrots (*Psittacus erithacus*) *Veterinary Record* 158, 804-805.
- Palme, R. 2005. Measuring fecal steroids - guidelines for practical application. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1046, 75–80.
- Popp, L.G., et al., 2008. Annual pattern of fecal corticoid excretion in captive Red-tailed parrots (*Amazona brasiliensis*). *J Comp Physiol B* 178, 487–493.
- Saad, C.E.P.; Machado, P.A.R., 2000. Utilização de óleos e gorduras em rações para aves ornamentais e silvestres. *Aves – Revista Sul Americana de Ornitofilia*, Belo Horizonte, 4, 23-26.
- Saad, C.E.P. et al., 2007. Avaliação do gasto e consume voluntário de rações balanceadas e semente de girassol para papagaios-verdadeiros (*Amazona aestiva*). *Ciênc. Agrot.* , Lavras, 31 (4), 1176-1183.

- Schmidt, E.M.S. et al., 2007. Hematological and serum chemistry values for the Ring-necked pheasant (*Phasianus cholchicus*): variations with sex and age. Int. J. Poult. Sci. 6 (2), 137-139.
- Schmidt, E.M.S. et al., 2009. Hematology of the bronze turkey (*Meleagris gallopavo*): variations with age and gender. Int. Poult. Sci. 8 (8), 752-754.
- Sick, H., 1997. Ornitologia Brasileira, uma Introdução. Nova Fronteira, Rio de Janeiro.
- Simaraks, S.O. et al., 2004. Hematological, electrolyte and serum biochemical values of the Thai indigenous chickens (*Gallus domesticus*) in northeastern, Thailand. Songklanakarin J. Sci. Tec. 26, 425-430.
- Tell., L.A. et al. 1997. Flow cytometric quantitation of oxidative product formation by heterophils from orange-winged amazon parrots (*Amazona amazonica amazonica*). Comparative Haematology International 7,197-201.
- Touma, C.; Palme, R. 2005. Measuring fecal glucocorticoid metabolites in mammals and birds: the importance of validation. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1046, 54–74.
- Vleck, C.M. et al., 2000. Stress Corticosterone, and Heterophil to Lymphocyte Ratios in Free-Living Adélie Penguins. The Condor 102 (2), 392 – 4

ANEXOS

Anexo I – Parâmetros bioquímicos de referência para papagaios do gênero *Amazona* spp.

| | Lumeij, 1987 | | Lumeij e Overduin, 1990 | | Fudge, 2000 | |
|------------------------------------|--------------|-------|-------------------------|-------|-------------|-----|
| | Mín | Máx | Mín | Máx | Mín | Máx |
| AST (U L ⁻¹) | 100 | 250 | 57 | 194 | 130 | 350 |
| LDH (U L ⁻¹) | | | 46 | 208 | | |
| Ácido úrico (mg dL ⁻¹) | 2,37 | 93,31 | 1,21 | 5,25 | 2,3 | 10 |
| Ureia (mg dL ⁻¹) | 2,37 | | 2,52 | 12,89 | 3,1 | 5,3 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo; AST – Aspartato aminotransferase sérica; LDH – Lactato desidrogenase

Anexo II - Parâmetros hematológicos e bioquímicos de referência para papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*)

| | Polo et al., 1998 | | | Schmidt et al., 1999 | | | Paula et al., 2008 | | | Goulart, 2006 | |
|--|-------------------|------|------|----------------------|------|-----|--------------------|-----|-----|---------------|-------|
| | Média | DP | Máx | Média | DP | Máx | Média | DP | Máx | Média | DP |
| Hemoglobina (g dL ⁻¹) | 17,3 | 0,9 | 18,4 | 14,87 | 1,00 | 17 | 13,2 | 2,1 | 8,2 | 16,28 | 1,13 |
| Hematócrito (%) | 50,6 | 6,2 | 58 | 53 | 7,71 | 50 | 38,7 | 6,2 | 24 | 44,66 | 4,45 |
| Proteína plasmática total (g dL ⁻¹) | | | | 4,08 | 0,72 | | | | | | |
| Eritrócitos (x10 ⁶ µL ⁻¹) | 2,92 | 0,55 | 2,11 | 2,07 | 0,32 | | | | | 3,2 | 0,18 |
| CHCM % | 34,3 | 2,6 | 31,7 | | | | | | | 36,51 | 2,9 |
| VCM fL | 180 | 19,7 | 163 | | | | | | | 179,99 | 32,15 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo; CHCM – Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; VCM – Volume Corpuscular Médio

Anexo III - Parâmetros hematológicos e bioquímicos de referência para papagaios do gênero *Amazona* spp.

| | Lumeij, 1987 | | Lumeij e Overduin, 1990 | | Fudge, 2000 | | Campbell, 2007 | |
|--|--------------|-----|-------------------------|-----|-------------|------|----------------|-----|
| | Mín | Máx | Mín | Máx | Mín | Máx | Mín | Máx |
| Hemoglobina (g dL ⁻¹) | | | | | 11 | 17,5 | 11 | 16 |
| Hematócrito(%) | | | | | 37 | 50 | | |
| Proteína plasmática total (g dL ⁻¹) | 2,3 | 5,3 | 3,3 | 5,5 | 3 | 5 | | |
| Eritrócitos (x10 ⁶ µL ⁻¹) | | | | | | | 2,5 | 4,5 |
| CHCM % | | | | | 22 | 32 | 29,1 | 31 |
| VCM fL | | | | | 85 | 200 | 160 | 175 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo; CHCM – Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; VCM – Volume Corpuscular Médio

Anexo IV – Valores de referência do leucograma para papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*)

| | Polo et al, 1998 | | Schmidt et al, 1999 | | ISIS, 2002 | | | Goulart, 2006 | | |
|--|------------------|------|---------------------|------|------------|------|------|---------------|-------|------|
| | Média | DP | Média | DP | Média | DP | Mín | Máx | Média | DP |
| Leucócitos (x10 ³ µL ⁻¹) | 6,50 | 2,40 | 15,88 | 2,03 | 8,83 | 3,42 | 3,8 | 15,3 | 7,01 | 4,15 |
| Heterófilos (x10 ³ µL ⁻¹) | 2,00 | | 6,41 | 2,34 | 4,63 | 2,46 | 1,4 | 9,5 | 3,4 | 2,05 |
| Linfócitos (x10 ³ µL ⁻¹) | 4,36 | | 8,79 | 2,31 | 3,59 | 1,8 | 1,07 | 8,88 | 3,37 | 2,83 |
| Eosinófilos (x10 ³ µL ⁻¹) | 0,02 | | 0,04 | 0,14 | 0,35 | 0,54 | 0,03 | 1,44 | 0,02 | 0,05 |
| Monócitos (x10 ³ µL ⁻¹) | 0,11 | | 0,46 | 0,4 | 0,46 | 0,33 | 0,11 | 1,37 | 0,16 | 0,16 |
| Basófilos (x10 ³ µL ⁻¹) | 0,01 | | 0,15 | 0,15 | 0,26 | 0,13 | 0,12 | 0,52 | 0,08 | 0,09 |

* Mín – Mínimo; Máx – Máximo; DP – Desvio padrão

Anexo V – Valores de referência do leucograma para papagaios do gênero *Amazona* spp.

| | Fudge, 2000 | | Campbell, 2007 | |
|--|-------------|------|----------------|------|
| | Mín | Máx | Mín | Máx |
| Leucócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | 6 | 11 | 6 | 11 |
| Heterófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | 3,3 | 8,8 | 1,8 | 8,25 |
| Linfócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | 1,2 | 4,95 | 1,2 | 7,15 |
| Eosinófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | 0 | 0,11 | 0 | 0,11 |
| Monócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | 0 | 0,33 | 0 | 0,33 |
| Basófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$) | 0 | 0,11 | 0 | 0,55 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo

Anexo VI – Valores de referência da razão heterófilo:linfócito (média±desvio padrão) para diferentes espécies de aves.

| Espécie | Jain, 1993 | Simaraks et al., 2004 | Vleck et al., 2000 | Schmidt et al., 2007 | Schmidt et al., 2009 |
|---------|------------|-----------------------|--|--|--|
| | | | Frango (<i>Gallus domesticus</i>) | Pinguim (<i>Pygoscelis adeliae</i>) | Faisão (<i>Phasianus colchicus</i>) |
| | Mín. Máx. | Machos Fêmeas | Mín. Máx. | Machos adultos Fêmeas adultas | Machos adultos Fêmeas adultas |
| H:L | 0,23 0,57 | 0,43±0,12 0,36±0,21 | 0,16 8,09 | 1,14±0,75 2,12±1,07 | 0,5±0,1 0,6±0,2 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo; H:L – Razão heterófilo:linfócito

Anexo VII – Valores de referência de metabólitos de corticosterona (média±erro padrão) do gênero *Amazona* spp.

| | Popp et al, 2008 | |
|----------------------------|------------------|-----------|
| | Mín | Máx |
| MCF (ng g^{-1}) | 0,67±0,04 | 1,32±0,06 |

* Mín – Mínimo; Máx – Máximo; MCF – Metabólitos de corticosterona fecais

Anexo VIII – Peso de referência para papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*)

| Fudge, 2000 | |
|-------------|-----|
| Mín | Máx |
| Peso (g) | 510 |

* Mín – Mínimo; Máx – Máximo

Anexo IX – Valores mínimos e máximos dos parâmetros bioquímicos de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) nas distintas fases e tratamentos.

| Fase Tratamento | I | | | II | | | III | | | |
|---|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C | |
| AST (UI L ⁻¹) | Mín | 127,40 | 183,20 | 159,40 | 136,00 | 146,00 | 130,00 | 138,00 | 182,00 | 143,00 |
| | Máx | 340,40 | 433,40 | 367,60 | 220,00 | 260,00 | 228,00 | 200,00 | 257,00 | 199,00 |
| LDH (UI L ⁻¹) | Mín | 205,36 | 244,79 | 216,22 | 118,12 | 121,55 | 118,87 | 176,00 | 155,00 | 163,00 |
| | Máx | 575,71 | 804,49 | 609,59 | 440,00 | 385,55 | 298,93 | 266,00 | 415,00 | 325,00 |
| Proteína Plasmática Total (g dL ⁻¹) | Mín | 5,20 | 5,20 | 5,50 | 5,50 | 5,60 | 5,20 | 4,00 | 4,80 | 4,10 |
| | Máx | 6,00 | 8,70 | 6,20 | 8,20 | 6,90 | 6,40 | 6,40 | 5,50 | 6,40 |
| Ácido úrico (mg dL ⁻¹) | Mín | 7,55 | 5,92 | 6,36 | 6,64 | 3,88 | 5,37 | 4,06 | 3,86 | 4,27 |
| | Máx | 8,34 | 8,16 | 9,05 | 18,17 | 9,69 | 9,75 | 5,43 | 5,23 | 5,05 |
| Ureia (mg dL ⁻¹) | Mín | 7,00 | 7,00 | 4,00 | 9,00 | 8,00 | 5,00 | 3,00 | 4,00 | 4,00 |
| | Máx | 10,00 | 8,00 | 8,00 | 21,00 | 10,00 | 12,00 | 6,00 | 9,00 | 9,00 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo; AST – Aspartato aminotransferase sérica; LDH – Lactato desidrogenase

Anexo X – Valores mínimos e máximos dos parâmetros hematológicos de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) nas distintas fases e tratamentos.

| Fase | I | | | II | | | III | | |
|---|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| Hemoglobina (g dL ⁻¹) | Mín | 11,10 | 11,70 | 10,50 | 10,80 | 10,50 | 14,70 | 14,60 | 12,30 |
| | Máx | 12,50 | 13,50 | 13,10 | 13,50 | 22,20 | 15,50 | 17,60 | 16,70 |
| Hematócrito (%) | Mín | 41,00 | 39,00 | 31,00 | 28,00 | 40,00 | 40,00 | 40,00 | 38,00 |
| | Máx | 46,00 | 54,00 | 48,00 | 60,00 | 50,00 | 56,00 | 54,00 | 52,00 |
| Eritrócitos (x10 ⁶ µL ⁻¹) | Mín | 1,63 | 2,24 | 1,85 | 1,84 | 2,18 | 1,60 | 1,54 | 1,51 |
| | Máx | 2,81 | 3,04 | 2,21 | 2,97 | 5,15 | 2,64 | 2,06 | 2,83 |
| CHCM (%) | Mín | 26,74 | 21,67 | 24,42 | 15,36 | 25,61 | 26,25 | 30,00 | 32,00 |
| | Máx | 28,33 | 30,51 | 37,42 | 31,40 | 52,86 | 37,25 | 36,67 | 32,92 |
| VCM (fL) | Mín | 152,75 | 144,50 | 145,88 | 152,17 | 72,53 | 211,72 | 177,74 | 171,94 |
| | Máx | 281,35 | 317,65 | 217,72 | 202,02 | 228,83 | 255,45 | 350,64 | 317,88 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo; CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; VCM – Volume Corpuscular Médio

Anexo XI – Valores mínimos e máximos do leucograma de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) nas distintas fases e tratamentos.

| Fase | I | | | II | | | III | | | |
|---|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C | |
| Leucócitos (x10 ³ µL ⁻¹) | Mín | 18,00 | 13,00 | 12,00 | 19,00 | 24,00 | 14,00 | 30,00 | 30,00 | 31,00 |
| | Máx | 28,00 | 17,00 | 29,00 | 34,00 | 35,00 | 35,00 | 48,00 | 38,00 | 48,00 |
| Heterófilos (x10 ³ µL ⁻¹) | Mín | 7,20 | 4,93 | 4,56 | 8,36 | 10,56 | 6,86 | 4,00 | 6,40 | 13,92 |
| | Máx | 11,78 | 6,40 | 21,75 | 15,25 | 54,06 | 23,25 | 27 | 18,81 | 18,29 |
| Linfócitos (x10 ³ µL ⁻¹) | Mín | 6,08 | 6,63 | 6,24 | 9,12 | 12,48 | 6,44 | 16,74 | 12,54 | 10,54 |
| | Máx | 15,96 | 13,00 | 17,16 | 21,42 | 45,90 | 16,50 | 24,90 | 24,64 | 33,12 |
| Eosinófilos (x10 ³ µL ⁻¹) | Mín | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,24 | 0,14 | 0,00 | 0,30 | 0,00 |
| | Máx | 0,00 | 0,00 | 0,63 | 0,19 | 1,02 | 0,70 | 0,48 | 0,38 | 0,48 |
| Monócitos (x10 ³ µL ⁻¹) | Mín | 0,36 | 0,26 | 0,00 | 0,19 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,60 | 0,00 |
| | Máx | 0,95 | 0,75 | 1,08 | 0,34 | 0,72 | 0,42 | 0,62 | 1,32 | 1,55 |
| Basófilos (x10 ³ µL ⁻¹) | Mín | 0,00 | 0,00 | 0,12 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| | Máx | 0,38 | 0,15 | 0,29 | 0,24 | 0,26 | 0,35 | 0,48 | 0,30 | 0,48 |
| H:L | Mín | 0,69 | 0,42 | 0,50 | 0,57 | 0,81 | 0,76 | 0,17 | 0,26 | 0,42 |
| | Máx | 1,94 | 0,90 | 3,26 | 1,61 | 1,54 | 3,26 | 1,39 | 1,50 | 1,74 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo ; H:L – Razão heterófilo : linfócito

Anexo XII – Valores mínimos e máximos dos metabólitos de corticosterona de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) nas distintas fases e tratamentos.

| Fase | I | | | II | | | III | | |
|---------------------------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| MCF (ng g ⁻¹) | Mín | 0,11 | 0,10 | 0,13 | 0,16 | 0,25 | 0,13 | 0,09 | 0,07 |
| | Máx | 2,13 | 1,19 | 1,27 | 2,13 | 1,54 | 1,83 | 1,85 | 2,62 |

*Mín – Mínimo ; Máx – Máximo; MCF – Metabólitos de corticosterona fecais

Anexo XIII – Valores mínimos e máximos do consumo de ração (12 e 24 aves) e pesos corporais de papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) nas distintas fases e tratamentos.

| Fase | I | | | II | | | III | | | |
|---------------------|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C | |
| Consumo (g) n=12 | Mín | 21,73 | 23,83 | 30,14 | 22,10 | 21,92 | 17,93 | 14,84 | 23,81 | 26,99 |
| | Máx | 44,02 | 38,57 | 36,68 | 37,14 | 34,62 | 27,82 | 32,70 | 33,42 | 31,61 |
| Consumo (g) n=24 | Mín | 21,73 | 23,67 | 26,41 | 22,10 | 21,51 | 17,93 | 14,84 | 13,80 | 16,95 |
| | Máx | 44,02 | 38,57 | 36,68 | 37,14 | 34,62 | 27,82 | 32,70 | 33,42 | 31,61 |
| Peso (g) | Mín | 356,00 | 369,00 | 358,00 | 370,00 | 398,00 | 364,00 | 376,00 | 392,00 | 346,00 |
| | Máx | 408,00 | 526,00 | 430,00 | 456,00 | 522,00 | 454,00 | 442,00 | 524,00 | 468,00 |

*Mín – Mínimo; Máx – Máximo ; n=12 ou 24 – número de aves

CAPÍTULO IV

Implicações

IMPLICAÇÕES

Na natureza, o papagaio-verdadeiro tem diversos desafios ambientais e suas exigências nutricionais, principalmente para energia, são altas. Com o número crescente de papagaios como pet, o seu ambiente é alterado e estudos sobre exigências nutricionais, assim como métodos de avaliação de saúde e bem-estar são necessários.

A própolis surge neste cenário como um importante produto ao melhorar a resposta imune das aves e auxiliar na nutrição, permitindo um bom estado sanitário em cativeiro. Neste trabalho, sugeriu-se que a própolis atuou nos níveis de LDH e contagem de eosinófilos com a adição de 0,5%. Por esta razão, futuros estudos com subníveis de própolis na ração são necessários para definir a quantidade ótima deste produto.

A razão heterófilo:linfócito e as análises de metabólitos de corticosterona sugeriram que as aves não estavam estressadas. A correlação destes fatores foi importante para comprovar que técnicas não invasivas poderão ser amplamente utilizadas para mensuração do bem-estar animal.