

INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL

**FONTES DE SELÊNIO NA DIETA DE VACAS LACTANTES E SEUS
EFEITOS NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE, OCORRÊNCIA DE
MASTITE E PARÂMETROS FISIOLÓGICOS**



Carlos Eduardo Oltramari

Instituto de Zootecnia

Nova Odessa
Fevereiro – 2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO

**SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS**

INSTITUTO DE ZOOTECNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL

**FONTES DE SELÊNIO NA DIETA DE VACAS LACTANTES E SEUS
EFEITOS NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE, OCORRÊNCIA DE
MASTITE E PARÂMETROS FISIOLÓGICOS**

Carlos Eduardo Oltramari

Orientador: Dr. Irineu Arcaro Júnior

Co-orientadora: Dra. Maria da Graça Pinheiro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Zootecnia – APTA/SAA – como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Produção Animal Sustentável.

Instituto de Zootecnia

Nova Odessa

Fevereiro – 2010

Ficha elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação do Instituto de Zootecnia.

OI8f

Oltramari, Carlos Eduardo

Fontes de selênio na dieta de vacas lactantes e seus efeitos na produção e qualidade do leite, ocorrência de mastite e parâmetros fisiológicos / Carlos Eduardo Oltramari. -- Nova Odessa, 2010.

81 f.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Zootecnia – APTA/SAA, Nova Odessa.

Área de Concentração: Produção Animal Sustentável.

Orientador: Dr. Irineu Arcaro Júnior.

Bibliografia.

1. Bovinos leiteiros. 2. Selênio-levedura. 3. Estresse térmico. 4. Variáveis fisiológicas. I. Título. II. Instituto de Zootecnia.

CDD 636.21108

**GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DA AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL SUSTENTÁVEL**

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**FONTES DE SELÊNIO NA DIETA DE VACAS LACTANTES E SEUS
EFEITOS NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DO LEITE, OCORRÊNCIA DE
MASTITE E PARÂMETROS FISIOLÓGICOS**

CARLOS EDUARDO OLTRAMARI

Orientador: Dr. Irineu Arcaro Júnior

Co-orientadora: Dra. Maria da Graça Pinheiro

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em Zootecnia. Área de concentração em Produção Animal Sustentável, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Irineu Arcaro Júnior (Orientador)

Prof. Dra. Cecília José Veríssimo

Prof. Dr. Paulo Roberto Leme

Data da realização: 22 de fevereiro de 2010

Presidente da Comissão Examinadora
Prof. Dr. Irineu Arcaro Júnior (Orientador)

Tudo resume-se a prioridade e objetividade

Dedico este trabalho:

À minha mãe, meu pai e minhas irmãs pelo amor incondicional e por sempre estarem de braços e sorrisos abertos esperando eu voltar pra casa. Dedico, também, ao Tio Beto e Tia Andréia por acreditarem em meu trabalho e me apoiarem no momento mais importante da minha vida.

Agradecimentos

Ao Instituto de Zootecnia – IZ/APTA/SP, em especial aos Professores e funcionários que tanto me ajudaram e ensinaram.

Ao Professor Dr. Irineu Arcaro Júnior e à Professora Dra. Maria da Graça Pinheiro, pela orientação, confiança e conselhos valiosos nos momentos mais difíceis desta caminhada.

À *Alltech*[®], à FAPESP e a KONNAN pelo apoio financeiro para execução desse trabalho.

Ao Edmar, Creusa, Ana, Donizette, Mariana, Goiano, Izildinha e demais funcionários do CAPTA Bovinos de Leite, pela presteza e dedicação.

À Professora Dra. Juliana Rodrigues Pozzi Arcaro e à pesquisadora Dra. Luciandra Macedo de Toledo pela paciência e conhecimentos repassados.

Aos Professores Dr. Luis Alberto Ambrósio e Dra. Claudia Paro da Paz pelas análises estatísticas.

À Professora Dra. Keila Maria Roncato Duarte e à Marta Joana Paiva Perissinoto pelos esclarecimentos e “galhos quebrados” durante este período.

Ao Professor Antônio e à Professora Mayra, pela base, força e carinho durante todo tempo em que trabalhamos juntos na UDESC.

Aos Mamados e Boi Babenses pela amizade, risadas e churrascos inesperados.

À Sheila, Luciano, Thiago, Fred, Maria Luisa e Gabi pela ajuda e companheirismo.

Aos meus queridos e inesquecíveis colegas, que estudaram e riram comigo durante essa inesquecível empreitada.

Ao meu grande amigo e colega Claiton André Zotti pela parceria, paciência e conselhos. Profissional da mais alta competência, por quem tenho grande admiração.

Ao Pai, Mãe, Ana e Kelli pela união, confiança, paciência e amor incondicional, que possibilitou a conclusão dessa etapa tão importante pra mim. São vocês a minha energia e determinação.

SUMÁRIO

RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Selênio	3
2.1.1 <i>Absorção, Excreção e Toxidez do Selênio</i>	4
2.1.2 <i>Selênio nos Alimentos</i>	5
2.1.3 <i>Selênio e Resposta Produtiva</i>	6
2.1.4 <i>Selênio e Resposta Imune</i>	8
2.1.5 <i>Selênio e Estresse Térmico</i>	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Animais e Instalações	19
3.2 Tratamentos e Dietas	20
3.3 Coleta de Dados	22
3.3.1 <i>Produção de leite</i>	22
3.3.2 <i>Determinação do Selênio no Leite</i>	23
3.3.3 <i>Composição e Contagem de Células Somáticas do Leite</i>	25
3.3.4 <i>Mastite e Identificação Microbiológica</i>	25
3.3.5 <i>Variáveis Climáticas</i>	26
3.3.6 <i>Variáveis Fisiológicas</i>	30
3.4 Análise Estatística	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Produção de Leite	35
4.2 Qualidade do Leite	37
4.2.1 <i>Selênio no Leite</i>	37
4.2.2 <i>Sólidos do leite e CCS</i>	38
4.3 Ocorrência de Mastite	41
4.3.1 <i>Mastite Clínica</i>	41
4.3.2 <i>Mastite Sub-clínica</i>	43
4.3.3 <i>Microbiologia do Leite</i>	46
4.4 Variáveis Fisiológicas	49
5. CONCLUSÕES	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

ANEXO

RESUMO

Fontes de selênio na dieta de vacas lactantes e seus efeitos na produção e qualidade do leite, ocorrência de mastite e parâmetros fisiológicos

Com o objetivo de avaliar os efeitos da suplementação de Selênio (Se) orgânico na dieta de vacas lactantes sobre a produção e qualidade do leite, ocorrência de mastite e parâmetros fisiológicos indicadores do estresse térmico, foram utilizadas 24 vacas em lactação, pluríparas, das raças Holandesa Preta e Branca e Parda Suíça, com produção média diária de 18 kg de leite. Os animais foram distribuídos em um delineamento experimental de blocos pareados ao acaso. Os animais receberam duas fontes distintas de Se, configurando os tratamentos *Se inorgânico* (selenito de sódio) e *Se orgânico* (Se levedura). O tratamento *Se orgânico* aumentou a porcentagem de gordura, diminuiu a contagem de células somáticas e não alterou a porcentagem de proteína, lactose, extrato seco desengordurado, sólidos totais e produção total de leite. Na fase pré-experimental identificou-se em cada tratamento um animal com mastite clínica. Ao fim do experimento, 18 semanas depois, no tratamento *Se inorgânico* houve dois casos e no tratamento *Se orgânico* nenhum animal apresentou mastite clínica. A mastite sub-clínica, realizada através do CMT, não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos, porém ambos diminuíram a incidência de mastite subclínica positiva e fortemente positiva entre as fases pré-experimental e experimental. A colheita de amostras de leite de todos os quartos mamários para identificação microbiológica dos agentes causais da mastite demonstrou que os gêneros *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Corynebacterium* sp. foram os mais prevalentes e não houve diferença entre tratamentos. A temperatura de bulbo seco e a umidade relativa do ar, mensuradas a cada 15 minutos, oscilaram durante o período experimental, havendo dias de estresse térmico moderado e sem estresse. A temperatura retal (TR), frequência respiratória (FR) e temperatura de pelame (TP) foram tomadas uma vez por semana (às 14h) e não houve diferença para a TR. O tratamento *Se inorgânico* diminuiu a FR e o tratamento *Se orgânico* diminuiu significativamente a TP.

Palavras-chave: Selênio levedura, estresse térmico, bovinos leiteiros, variáveis fisiológicas.

ABSTRACT**Selenium sources on lactating dairy cows diet and their effects on milk production and quality, mastitis occurrence and physiological parameters**

To evaluate the effects of organic Selenium (Se) supplementation on milk production and quality, mastitis occurrence and physiological parameters indicators of thermal stress, 24 lactating dairy cows were used, pluriparous, Holstein-Friesian and Brown Swiss, with a daily average production of 18 kg of milk. Animals were distributed in a randomized blocks experimental design. Animals received two different Se sources, setting treatments *Se inorganic* (sodium selenite) and *Organic Se* (selenium yeast). *Organic Se* treatment increased fat percentage, decreased somatic cell count and did not change the percentage of protein, lactose, solids not fat, total solids and total milk production. On pre-experimental phase, in each treatment, one animal with clinical mastitis was identified. At the end of experiment, 18 weeks later, treatment *Se inorganic* increased up to two cases and in *organic Se* treatment none animal presented clinical mastitis. Subclinical mastitis, made through CMT, did not show significative differences between treatments, nevertheless both decreased the incidence of positive subclinical mastitis and strongly positive between pre-experimental and experimental phases. Milk sampling of all mammary quarters to microbiological identification of mastitis causative agents demonstrated that *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. and *Corynebacterium* sp. genus were the most prevalent, with no difference between treatments. Dry bulb temperature and air relative humidity, measured every 15 minutes, showed during experimental period some days of moderate and no stress. Rectal temperature, respiratory frequency and haircoat temperature (HT) were measured once a week (at 2 p.m.), with no difference to rectal temperature. Treatment *Se inorganic* decreased respiratory frequency and *organic Se* treatment decreased HT significantly.

Keywords: Selenium yeast, thermal stress, dairy cattle, physiological variables.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas experimentais (valores expressos em porcentagem da matéria-seca).	21
Tabela 2. Programa de aquecimento empregado na digestão ácida de leite assistida por radiação micro-ondas.	24
Tabela 3. Parâmetros de operação do GF-AAS na determinação de Selênio nas amostras de leite bovino.	24
Tabela 4. Produção de leite registrada (PL registrada) e corrigida para 4% de gordura (PL 4% de gordura) de vacas recebendo selenito de sódio (<i>Se inorgânico</i>) e selênio levedura (<i>Se orgânico</i>) durante os 124 dias experimentais.	35
Tabela 5. Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), mediana, diferenças das medianas (DM), número de observações utilizadas para aplicação do teste de Wilcoxon (N Teste), estatística de Wilcoxon (EW), probabilidade (P) e mediana estimada das diferenças (MED) da variável selênio no leite (Se leite) de animais recebendo selenito de sódio (<i>Se inorgânico</i>) e Selênio levedura (<i>Se orgânico</i>).	37
Tabela 6. Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), mediana, diferenças das medianas (DM), número de observações utilizadas para aplicação do teste de Wilcoxon (N Teste), estatística de Wilcoxon (EW), probabilidade (P) e mediana estimada das diferenças (MED) das variáveis de qualidade do leite de animais recebendo selenito de sódio (<i>Se inorgânico</i>) e Selênio levedura (<i>Se orgânico</i>).	39
Tabela 7. Ocorrência de mastite clínica (%), realizada pelo teste TAMIS, em 20 vacas em lactação e 80 quartos mamários na semana pré-experimental e na última semana da fase experimental (18ª Semana).	41
Tabela 8. Resultado microbiológico de 304 amostras de leite coletadas na fase pré-experimental (Pré-exp.) e 306 na última semana experimental (18 semanas) de 20	

vacas da raça Holandesa suplementadas com selenito de sódio (*Se inorgânico*) e selênio levedura (*Se orgânico*), durante o período experimental..... 46

Tabela 9. Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), mediana, diferenças das medianas (DM), número de observações utilizadas para aplicação do teste de Wilcoxon (N Teste), estatística de Wilcoxon (EW), probabilidade (P) e mediana estimada das diferenças (MED) das variáveis frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e temperatura de pelame (TP) de animais recebendo selenito de sódio (*Se inorgânico*) e selênio levedura (*Se orgânico*)..... 50

Tabela 10. Teste de normalidade e homogeneidade da variável produção de leite registrada (PL registrada) e corrigida para 4% de gordura (PL 4% de gordura)..... 64

Tabela 11. Teste de normalidade e homogeneidade das variáveis gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado (ESD) e contagem de células somáticas (CCS)..... 64

Tabela 12. Teste de homogeneidade das variâncias e normalidade da variável Selênio no leite (Se leite)..... 65

Tabela 13. Teste de homogeneidade das variâncias e normalidade das variáveis fisiológicas frequência respiratória (FR), temperatura de pelame (TP) e temperatura retal (TR)..... 65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sala de espera.	22
Figura 2. Sala de ordenha.	23
Figura 3. Registrador digital utilizado nas medidas de temperatura e umidade	26
Figura 4. Média da temperatura de bulbo seco (TBS) e umidade relativa do ar (UR) registrada a cada hora nos tratamentos <i>Se inorgânico</i> e <i>Se orgânico</i> no período de 29 de novembro de 2008 a 01 de abril de 2009 em Nova Odessa/SP.....	27
Figura 5. Valores médios do índice de temperatura e umidade (ITU) registrado a cada hora nos tratamentos <i>Se inorgânico</i> e <i>Se orgânico</i> e o ITU normal de acordo com Wiersma (1990) citado por Armstrong (1994).	29
Figura 6. Termômetro clínico veterinário utilizado para aferição da TR.	30
Figura 7. Vista lateral e frontal do termômetro infravermelho digital	31
Figura 8. Locais de aferição da temperatura de pelame (TP).	32
Figura 9. Número de quartos mamários com (+, ++ e +++) ou sem (Negativo) mastite sub-clínica nos tratamentos <i>Se inorgânico</i> e <i>Se orgânico</i> aferidos na fase pré-experimental através do <i>California Mastitis Test</i> (CMT).....	43
Figura 10. Número de quartos mamários com (+, ++ e +++) ou sem (Negativo) mastite sub-clínica nos tratamentos <i>Se inorgânico</i> e <i>Se orgânico</i> aferidos na décima oitava semana experimental (18 semanas) através do <i>California Mastitis Test</i> (CMT).	44
Figura 11. Frequência (%) de <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp. e <i>Corynebacterium</i> sp. isolados de 304 amostras de leite coletadas na fase pré-experimental e 306 na última semana experimental (18 semanas) de 20 vacas suplementadas com selenito de sódio (<i>Se inorgânico</i>) e selênio levedura (<i>Se orgânico</i>) durante o período experimental.	48

Figura 12. Temperatura de pelame e índice de temperatura e umidade (ITU) médio aferidos às 14 h nas diferentes semanas experimentais. 51

1. INTRODUÇÃO

A produção de leite representa significativa parcela da economia nacional e mundial, sendo que essa atividade vem sofrendo transformações no que diz respeito à elevação dos índices zootécnicos, qualidade do produto, sanidade dos animais, melhoramento genético, entre outros. No entanto, para se conseguir o máximo desempenho animal, deve-se garantir um manejo nutricional adequado, bem como prover um ambiente ótimo de criação.

Segundo dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América – USDA (2009), o Brasil teve uma produção de 28.890 mil toneladas de leite no ano de 2008, classificando-se na sexta colocação mundial (considerando a União Européia). A projeção para 2009 é de 30.335 mil toneladas, atingindo um crescimento de cerca de 5% na produção de leite nesse ano, o que representa um aumento superior a 1,5 bilhão de litros em comparação a 2008.

O Brasil tem cerca de 65% de sua área em região tropical, e o estresse calórico é um grande desafio à produção leiteira. Tal estresse, além de diminuir a ingestão de alimentos e, conseqüentemente, a produção dos animais, aumenta a produção de radicais livres, conduzindo a um estresse oxidativo. O estresse oxidativo tem um impacto negativo principalmente nas funções imune e reprodutiva de vacas leiteiras, podendo-se citar o aumento de casos de mastite, diminuição de fertilidade, aumento de morte embrionária, retenção de placenta, entre outros.

O Se, por sua vez, é componente das selenoproteínas, as quais apresentam importantes funções enzimáticas, funcionando como um importante centro redutor (principalmente na neutralização de radicais livres), através da ação da glutathione peroxidase e do sistema tireodoxina redutase. No entanto, o teor de Se na dieta de uma vaca é influenciado pelo meio ambiente em que a planta, que dará origem à dieta do animal, cresce. Cozzolino (2007), afirma que há níveis de ingestão de Se completamente diferentes quando se trata de regiões distintas. No Brasil, os Estados de São Paulo e Mato Grosso são os de menor concentração de Se no solo, onde se constata as maiores deficiências alimentares desse nutriente.

A suplementação de Se para bovinos leiteiros é necessária em qualquer fase de crescimento ou estado fisiológico dos animais, e fontes orgânicas podem ser mais biodisponíveis que fontes inorgânicas devido a capacidade de utilizar vias de captação de peptídeos ou aminoácidos, ao invés das vias normais de captação de íons no intestino delgado (McDOWELL, 1996). Acredita-se que essa característica do Se orgânico possa se traduzir em elevação na produção de leite, melhor resposta imune, diminuição do estresse térmico e maior concentração de Se no leite.

Na saúde humana, o Se tem participação importante na prevenção e tratamento do câncer, problemas cardiovasculares, função tireoidiana, pancreatite, doenças neurodegenerativas e no tratamento de pacientes portadores dos vírus da hepatite A, B e AIDS (SARMENTO, 2009). Por esses motivos, vacas suplementadas com Se podem produzir leite enriquecido com Se, auxiliando na prevenção e tratamento de determinadas doenças dos seres humanos.

Apesar da relevância do tema, no Brasil existem limitadas publicações sobre fontes orgânicas de Se envolvendo vacas leiteiras. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos de fontes orgânicas e inorgânicas de Se na dieta de vacas lactantes sobre a produção e qualidade do leite (teores de Se, gordura, proteína, lactose, extrato seco desengordurado, sólidos totais e contagem de células somáticas), ocorrência de mastite (clínica e subclínica) e sobre os parâmetros fisiológicos indicadores do estresse térmico (temperatura retal, frequência respiratória e temperatura de pelame).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Selênio

O Se é um semimetal (ou metalóide) de número atômico 34 e peso atômico de 78,96 (McDOWELL, 1996). Encontra-se na mesma coluna da tabela periódica que o Enxofre, sendo um elemento químico único no metabolismo animal se comparado a outros elementos como o Zinco, Cobre e Cobalto (BURK, 2003). De acordo com Zanetti et al. (1998), o Se foi descoberto em 1817, e foi por muito tempo relacionado apenas a problemas de toxidez. Schwarz e Foltz (1957), citados por Zanetti et al. (1998), afirmam que a essencialidade desse elemento foi verificada quando se descobriu que o “fator 3”, que protegia ratos da necrose múltipla, era constituído por Se. A partir daquela data, mudou-se radicalmente o enfoque a respeito do Se, que passou a ser pesquisado como elemento essencial. Mais tarde descobriu-se que o Se agia por intermédio da glutathione peroxidase (enzima anti-oxidante), quando se verificou que esta possuía quatro átomos de Se e era decisiva na destruição dos peróxidos formados no organismo animal. Inicialmente, as pesquisas comprovaram que a deficiência de Se provocava nos ruminantes a doença do músculo branco e problemas reprodutivos, como retenção de placenta.

O Se é um nutriente essencial na dieta de bovinos, e está envolvido no sistema fisiológico do organismo através da ação das selenoproteínas, onde destaca-se a função antioxidante exercida pela enzima glutathione peroxidase. A glutathione peroxidase é uma metaloenzima que contém Se em sua estrutura (selenodependente), sendo que este elemento apresenta 4g por mol de enzima (McDOWELL, 1996).

Como análogo dos aminoácidos sulfurados, a forma orgânica de Se está presente como um produto direto da incorporação de Se em aminoácidos (principalmente Metionina e Cisteína) no lugar do enxofre, o que difere das metaloproteínas ou quelatos, nos quais ocorre simplesmente uma complexação com grupos funcionais das proteínas (SUZUKI, 2005).

As formas orgânicas de Se estão disponíveis normalmente em plantas ou como leveduras enriquecidas, que crescem sobre um substrato contendo pouco enxofre e muito Se, sendo basicamente SeMet. Quando incorporado a tecidos vegetais, de acordo com Olson et al. (1975), cerca de 50% do Se encontrado é na forma de SeMet.

2.1.1 Absorção, Excreção e Toxidez do Selênio

A absorção do Se ocorre principalmente no duodeno por transporte ativo. Quando o Se encontra-se em formas orgânicas, como SeMet e SeCis, ocorre um aumento significativo da absorção, chegando, segundo McDowell (1996), a 91 e 81%, respectivamente.

A SeMet é absorvida de forma similar aos mecanismos de transporte da Metionina. No mesmo sentido, a SeCis é absorvida igualmente à Cisteína (COMBS e COMBS, 1986). Após a absorção intestinal, SeMet e SeCis entram na corrente sanguínea, podendo formar selenoproteínas, como a glutathione peroxidase, ou serem incorporadas diretamente em outros tecidos, como na glândula mamária, onde farão parte da fração proteica do leite (COMBS e COMBS, 1986). McDowell (1996) afirmou que suplementação de Se orgânico provindo de cereais (0,5 ppm por kg MS) resultou em 4 a 5 vezes mais de Se presente no tecido muscular quando comparado a fontes inorgânicas (selenito de sódio).

Quando há deficiência dietética de Se, ou ocorre um período longo de estresse oxidativo, as formas biológicas de Se apresentam-se como importante reserva orgânica. De acordo com Thatcher (2006), o Se orgânico, por ser complexado com aminoácidos, pode ser armazenado no organismo, sendo utilizado em períodos de deficiência. No entanto, quando os animais são suplementados com formas inorgânicas de Se, estas, se não forem incorporadas pelos microrganismos nos pré-estômagos, não são armazenadas no corpo, sendo excretadas pelo animal.

As rotas primárias de excreção de Se são urina, fezes e exalação. Quando o Se é provido oralmente, ocorre maior concentração nas fezes, porém, se injetado, maior concentração ocorrerá na urina (McDOWELL, 1996). A excreção de excedentes de Se

ocorre pela transformação do elemento em formas metiladas menos tóxicas que selenito, selenato e selenoaminoácidos, como o trimetilselenônio, dimetilselenito ou selenoaçúcares (FRANCESCONI e PANNIER, 2004), e a rota que predomina, neste caso, é a expiração na forma de dimetilselenito (GOFF, 2006).

A toxidez por Se pode ocorrer de duas formas: aguda e crônica. A intoxicação aguda pelo Se está associada a lesões hepática e renal e podem induzir a exsudato hemorrágico nos pulmões (GOFF, 2006). Este mesmo autor afirma que teores na dieta acima de 8 a 10mg por kg de MS podem ser tóxicos, contudo, em ruminantes, a atividade microbiana do rúmen influencia a forma com que o Se chega ao intestino delgado para absorção, diminuindo o risco de intoxicação (CRISTALDI et al., 2005).

2.1.2 Selênio nos Alimentos

A presença de Se no sistema alimentar é influenciada pela concentração deste elemento no solo, proveniente da decomposição de rochas vulcânicas, pelo uso de fertilizantes com Se ou ainda pela água. Em algumas partes do mundo, como no Brasil, Dinamarca, Finlândia, Nova Zelândia e China, as concentrações de Se no solo são baixas. Outras regiões (Estados Unidos, Canadá, parte da Irlanda, Colômbia e Venezuela), pelas altas concentrações, são chamadas de seleníferas (COMBS, 2001).

A remoção do Se do solo é feita pelos vegetais e por microrganismos, os quais podem depositá-lo nos tecidos e/ou convertê-lo a algum metabólito, como o dimetilselenito. Essa mobilização é influenciada pelo pH do solo, sendo que o alcalino favorece a conversão de Se inorgânico para selenato (Se^{+6}) que não é fixado no solo e o ácido favorece o surgimento do selenito (Se^{+4}) que não é absorvido pela argila presente no solo, é fortemente fixado pelo hidróxido de ferro. A disponibilidade de Se para plantas também é afetado pela umidade do solo, numa relação inversa (COMBS, 2001).

As diferenças entre as fontes de Se orgânico e inorgânico são de grande importância dentro da função fisiológica animal. Enquanto a forma predominante de suplementação do Se é feita pelo selenito de sódio, a principal forma de ocorrência

natural nos alimentos é a L-selenometionina, um análogo do aminoácido metionina. Os vegetais, as algas marinhas, as bactérias e as leveduras podem sintetizar ambos (metionina e selenometionina), porém os animais não o podem (BRITO, 2007).

O teor de Se nos grãos ou forrageiras depende da presença deste oligoelemento no solo, aonde essas plantas se desenvolveram, e podem haver variações pontuais entre determinadas regiões. (STEVENS, 1985). Países nórdicos apresentam solos pobres em Se, resultando em forragens deficientes nesse mineral (JUKOLA et al. 1996). Estes mesmos autores relataram que a média de Se em amostras de feno na Finlândia foi 0,014 mg por kg de MS (variou entre 0,002 a 0,048 mg por kg de MS) e em amostras de cereais foi 0,007 mg por kg de MS (variou entre 0,002 a 0,085 mg por kg de MS).

Nos Estados Unidos, onde há regiões consideradas seleníferas, as pastagens podem chegar a 0,14 mg por kg de MS e os cereais a 0,66 mg por kg de MS (COMBS, 2001). De acordo com Catânia et al. (2009), nos Estados Unidos, 99% da população têm concentrações séricas de Se acima do necessário para maximizar a atividade da glutathione peroxidase, portanto, a suplementação com Se é desnecessária e, possivelmente, pode ser danosa ao organismo.

No Brasil, amostras de milho apresentaram teores de Se que variaram de 0,01 a 0,05 mg por kg de MS. Essa quantidade é considerada baixa quando comparada a outra matéria-prima muito usada na fabricação de concentrados para bovinos, o farelo de soja. Tal composto pode apresentar teores de Se que variam de 0,20 e 0,40 mg Se por kg de MS. Quando se trata de volumosos, os teores de Se variam consideravelmente, ficando entre 0,01 a 0,12 mg Se por kg de MS (MEYER et al., 1995).

2.1.3 Selênio e Resposta Produtiva

As recomendações para suplementação de Se para bovinos leiteiros varia entre 0,1 a 0,3 mg por kg de MS, independente da idade e estado fisiológico do animal, não sendo feita referência quanto a forma com que o Se é suplementado, ou seja, se o

mesmo é de origem orgânica ou inorgânica (NRC, 2001; GOFF, 2006). No entanto, McDowell (1996) reportou que os requerimentos de Se são maiores quando leguminosas estão presentes na dieta, visto que a quantidade de enxofre ingerido é mais alta, havendo uma baixa inclusão de vitamina E na dieta. Este mesmo autor afirmou ainda que a elevada produção de ácidos graxos insaturados pode elevar a concentração de peróxidos, necessitando aumentar as concentrações de Se na dieta para auxiliar na ação antioxidante do organismo.

De acordo com Wang et al. (2009), os quais suplementaram 28 vacas da raça Holandesa com 0, 0,15, 0,30 e 0,45 mg por kg de MS de Se levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) durante 45 dias, não houve diferenças significativas para produção de gordura, proteína e lactose. Este mesmos autores constataram que os animais que receberam 0,15 e 0,30 mg por kg de MS de Se levedura elevaram a produção de leite e a concentração de propionato ruminal ($P < 0,05$), sugerindo que as leveduras ricas em Se melhoram a flora microbiana ou auxiliam as enzimas digestivas, visto que a ingestão de MS destes tratamentos não se elevou quando comparados aos tratamentos que receberam 0 e 0,45 mg por kg de MS de Se levedura.

Juniper et al. (2006) não verificaram diferenças significativas para a gordura, proteína, lactose, e CCS em vacas sendo suplementadas com 0,15, 0,27, 0,33 e 0,40 mg por kg MS de Se levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) e 0,25 mg por kg MS de selenito de sódio. Heard et al. (2007) ao suplementar 0, 4, 8, 12 e 16 mg por dia de Se levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) durante a primavera (vacas em pico de lactação) não encontraram diferenças significativas para gordura, proteína, lactose e CCS. No entanto, quando os mesmos animais foram avaliados no outono (média de 238 dias em produção) os tratamentos que receberam 12 e 16 mg por dia de Se levedura produziram 5,01 e 5,00% de lactose, respectivamente. Este valor é significativamente maior que o produzido pelos animais que receberam 0 e 4 mg por dia (4,85 e 4,78%, respectivamente). Os animais que receberam 8 mg por dia de Se levedura produziram 4,95% de lactose, sendo este valor estatisticamente igual aos demais tratamentos.

De acordo com Hemken et al. (2007), vacas da raça Holandesa que receberam dietas com adição de Se levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060)

apresentaram ingestão de MS significativamente maior (22,2 kg vs 20,8 kg) quando comparado aos animais que receberam selenito de sódio, porém a elevação no consumo não se traduziu em aumento na produção de leite. Esses mesmos autores afirmam que a biodisponibilidade do Se orgânico é cerca de duas vezes maior quando comparado ao selenito de sódio, aumentando assim a eficiência imunológica dos animais.

Lacetera et al. (1996) verificaram aumentos significativos na produção de leite, de 24,5 para 27,7 kg por dia, 12 semanas pós-parto, em vacas suplementadas diariamente com 30 mg de selenito de sódio quando comparadas à vacas não suplementadas. Efeito positivo da suplementação com Se inorgânico na produção de leite também foi verificado por Fisher et al. (1980).

No entanto, a suplementação com Se nem sempre resulta em aumento da produção animal. Gierus et al. (2002) verificaram que a suplementação de vacas de leite com selenito de sódio influenciou o teor de Se no leite e plasma, mas não houve incrementos na produção de leite, assim como não houve alteração na composição do leite. A atividade da glutathione peroxidase não aumentou significativamente além da dose de Se considerada adequada para bovinos leiteiros, representada pelo segundo nível de suplementação neste experimento, que foi de 0,20 mg Se por kg MS (4 mg por animal por dia).

2.1.4 Selênio e Resposta Imune

De acordo com Catania et al. (2009), no processo celular de obtenção de energia (cadeia respiratória) ocorre uma sequência de reações geradoras de eletronegatividade, onde o oxigênio é o aceptor final de elétrons. Dessa sequência oxidativa resultam compostos como o ânion superóxido, o radical hidroperoxila, o peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila que, de forma conjunta, são denominados espécies reativas de oxigênio. O termo radical livre é empregado quando um átomo ou uma molécula apresentam um ou mais elétrons não pareados, constituindo-se espécies

instáveis, com meia-vida muito curta e que reagem rapidamente com diversos alvos celulares.

Reações oxidativas ocorrem, portanto, fisiologicamente no organismo, porém, são contrabalançadas pela ação de antioxidantes tanto endógenos como provenientes da dieta. O desequilíbrio no estado de óxido-redução, em favor das reações pró-oxidativas, que causam dano celular, é chamado de estresse oxidativo. O organismo é dotado de mecanismos para manter o equilíbrio entre compostos pró e antioxidantes. Quando há insuficiência do potencial antioxidante em contrabalançar aumentos na formação de espécies reativas de oxigênio, há danos oxidativos celulares. Dos mecanismos de defesa antioxidante para prevenir ou reduzir os efeitos do estresse oxidativo, participam enzimas endógenas (superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase) e outras substâncias disponíveis na dieta, como os carotenoides, o alfa-tocoferol, o ácido ascórbico e compostos fenólicos, entre outros. O sistema enzimático representa a primeira defesa antioxidante endógena contra as espécies reativas de oxigênio. No entanto, para impedir os danos celulares decorrentes de estresse oxidativo persistente, o aporte exógeno de substâncias com potencial antioxidante é de fundamental interesse (CATANIA et al., 2009).

De acordo com Goff (2006), os níveis de glutathione peroxidase no soro apresentam alta correlação com as concentrações do Se dietético. Este mesmo autor afirma que a vitamina E também pode neutralizar os peróxidos, mas a ação da vitamina E fica limitada às membranas celulares. O Se, por sua vez, pode poupar vitamina E, capturando radicais livres antes que eles cheguem às membranas celulares.

No período periparturiente, menor frequência das infecções intrauterinas e na glândula mamária têm sido relacionadas com a suplementação de Se e vitamina E. Na lactação, a maior incidência de alta contagem de células somáticas tem sido relacionada com a deficiência de Se (PASCHOAL et al., 2003).

Thatcher (2006), em pesquisa realizada na Flórida durante o verão, utilizou dois tipos de dietas, uma com Se orgânico (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) e outra com Se inorgânico (selenito de sódio). Verificou-se que o Se orgânico melhorou significativamente ($P < 0,05$) a taxa de prenhes no segundo serviço, a saúde uterina, a função neutrófila e a resposta imune.

Sánchez et al. (2007) avaliaram os efeitos da suplementação de selenato de bário (1 mg de Se por kg de peso corporal via injeção subcutânea) na resistência à mastite clínica de cabras leiteiras criadas em solos pobres em Se. Foram realizados testes microbiológicos, o *California Mastitis Test* (CMT) e análises para detecção de mastite clínica (formação de grumos no leite, rubor, edema e calor do úbere). Como resultado, os autores não encontraram diferenças na composição do leite, porém, encontraram incremento significativo da ação da glutathione peroxidase, apresentando efeitos benéficos na lactação subsequente. Além disso, a CCS e a incidência de mastite clínica foi significativamente menor no grupo tratado com Se, concluindo que a suplementação de Se é indispensável para prevenção de mastite, principalmente em áreas deficientes deste mineral no solo.

O processo inflamatório da glândula mamária pode se manifestar nas formas de mastite clínica, com alterações visíveis da glândula mamária e ou da secreção, ou mastite subclínica, sem alterações visíveis (COSTA et al., 1995). Pode apresentar natureza fisiológica, traumática, alérgica, metabólica, e infecciosa, sendo esta última a mais importante, pois numerosos microrganismos tem sido isolados da glândula mamária (COSTA, 2001).

A prova mais utilizada para detectar a mastite clínica é o TAMIS (teste da caneca de fundo preto). Para diagnosticação da mastite subclínica, recursos indiretos se fazem necessários. O *Califórnia Mastitis Test* (CMT) é um método de avaliação da quantidade de células somáticas do leite e se baseia na atuação de um detergente aniônico sobre a membrana celular, que provoca a sua ruptura, liberação dos ácidos nucleicos e a sua gelificação com o detergente (ROSENBERG, 1983).

De acordo com Fagliari et al. (1983), amostras reagentes ao CMT nos graus 1+, 2+ e 3+ concordaram com o exame bacteriológico em 22,4%, 74,4% e 85,6%, respectivamente. A mastite subclínica é 15 a 40 vezes mais prevalente que a forma clínica. Usualmente a mastite clínica é de longa duração, reduz significativamente a produção e leite, altera a composição do leite e constitui-se de importante fonte de infecção de patógenos que podem provocar a sua disseminação no rebanho (PHILPOT; NICKERSON, 1991). Estima-se que para cada caso clínico da enfermidade ocorram 35 casos de mastite subclínica (FONSECA e SANTOS, 2000).

A glândula mamária, por sua vez, é protegida por um sistema complexo de mecanismos de defesa primário e secundário. Os mecanismos de defesa primários são aqueles que impedem a entrada de patógenos pelo esfíncter do teto, os quais possuem propriedades defensivas como um mecanismo de oclusão relativamente eficiente, a roseta de *Furstenberg*, e ainda proteínas bactericidas (PRESTES et al., 2002). Os mecanismos de defesa secundários incluem componentes químicos, celulares e imunológicos localizados dentro da glândula mamária (PARK e LINDBERG, 2006).

A imunidade celular é conferida pelos leucócitos que incluem: granulócitos (neutrófilos polimorfonucleares-PMN, basófilos e eosinófilos), fagócitos, linfócitos (células T e células B) e monócitos (GIRAUDO, 1996). Uma vez que o agente atravessou o canal do teto e alcança a cisterna mamária, passa a atuar especialmente os fatores solúveis e as células fagocíticas da imunidade inespecífica.

Cerri et al., (2008), estudando a influência de duas fontes de Se (orgânica e inorgânica) utilizadas na dieta de vacas da raça Holandesa (inclusão de 0,3 mg Se por kg de MS), observaram que não houve diferenças no *status* de Se no sangue, saúde uterina, taxa de fertilização e qualidade embrionária. No entanto, tal pesquisa foi realizada com os animais recebendo dietas já contendo o nível basal de Se recomendado, o que pode explicar a ausência de resultados, visto que fontes orgânicas apresentam-se mais eficientes em casos de deficiência crônica ou em períodos de suplementação ineficiente (GIERUS, 2007).

Os principais microrganismos (agentes etiológicos) da mastite foram convencionalmente classificados, quanto à sua origem e modo de transmissão, em dois grupos: microrganismos contagiosos ou transmissíveis, transmitidos principalmente durante a ordenha, que são aqueles também chamados “vaca-dependentes”, presentes principalmente no corpo do animal com ou sem mastite; e os chamados microrganismos ambientais, ubiqüitários, presentes no ar, cama, água e fezes. Estão incluídos no primeiro grupo: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus* e outros *Staphylococcus* spp e *Corynebacterium bovis*. No segundo grupo encontram-se: *Streptococcus uberis* e os outros estreptococos, à exceção dos já citados, bactérias da família Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Enterobacter* sp, *Klebsiella* sp, *Serratia* sp etc.), *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas* sp e outros

microrganismos ubiqüitários tais como fungos, principalmente leveduras e ainda algas aclorofiladas (*Prototheca* sp) (MÜLLER, 2002).

Malbe et al. (2005) afirmaram que, para que haja uma resposta imune efetiva contra o desenvolvimento bacteriano, vacas devem ser suplementadas com Se, ou seja, são animais selenodependentes. Estes mesmos autores, visando elucidar o papel do Se nos mecanismos de defesa da glândula mamária contra *Staphylococcus aureus*, suplementaram seis vacas com 4 mg de Se levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) por um período de 8 semanas. As vacas do tratamento controle receberam a mesma quantidade de levedura, porém, livre de Se em sua dieta. Todas as vacas antes do início do experimento tinham contagem de células somáticas relativamente baixa (<300.000 células por mL de leite), exames bacteriológicos negativos e atividade da glutatona peroxidase no sangue inferior a 1,02 microkat por grama de Hb. Os resultados desta pesquisa demonstraram que as vacas que não receberam suplementação com Se apresentaram desenvolvimento de *S. aureus*. Por outro lado, 50% dos animais suplementados com Se orgânico inibiram o crescimento bacteriano, sendo que o efeito inibitório foi mais profundo em animais que tiveram atividade da glutatona peroxidase acima de 4 microkat grama de Hb.

2.1.5 Selênio e Estresse Térmico

O estresse térmico, além de acarretar mudanças nas reações fisiológicas e comportamentais, também desencadeia alterações agudas e crônicas nas concentrações plasmáticas de cortisol e hormônios tireoidianos, triiodotironina (T₃) e tiroxina (T₄). Esses hormônios regulam uma variedade de processos envolvidos no desenvolvimento, diferenciação, crescimento, reprodução e adaptação às mudanças no meio ambiente (ARCARO, 2005). O Se, por sua vez, tem importante papel na atividade dos hormônios tireoidianos através da selenoproteína 5'deiodinase, a qual converte o hormônio inativo tiroxina (T₄) para Triiodotironina (T₃) em condições de estresse térmico (HEBRAHIMI et al., 2009).

Lovem (1988) e Mitchell e Russo (1983) afirmam que alguns dos efeitos deletérios da temperatura elevada é o aumento da produção de oxigênio celular derivado de radicais livres. Estes radicais livres, quando presentes em quantidades maiores que as toleradas pela célula, provocam danos ao DNA, às proteínas e peroxidação lipídica. Evidências sugerem ainda que o aumento da concentração de radicais livres, provocadas pela elevação da temperatura ambiente, pode afetar o desenvolvimento embrionário e causar lesão no epitélio mamário, contribuindo para elevação da contagem de células somáticas e ocorrência de mastites, além de um decréscimo na produção de leite (ELVINGER et al, 1992; JOHNSON et al, 1991).

Em situações que os bovinos leiteiros não conseguem manter a homeotermia instala-se o estresse térmico, o qual provoca mudanças comportamentais seguida de alterações fisiológicas. Dependendo do nível de estresse, há diminuição nas secreções dos hormônios do crescimento, tiroxina e triiodotironina, com conseqüente declínio na produção de leite, sobretudo nos estádios iniciais da lactação. Essas alterações metabólicas possibilitam o equilíbrio de certas funções orgânicas relacionadas à termorregulação, porém, podem ocorrer prejuízos aos processos de síntese e secreção do leite (MORAIS et al., 2008).

Segundo Silanikove (2000), o estresse calórico atua no hipotálamo estimulando a saciedade e inibindo a fome, o que induz o animal a reduzir o consumo de alimento. Neste sentido, o NRC (2001) descreve que, em condições de estresse calórico há uma queda no consumo de matéria seca (MS) de até 55%, quando comparado ao consumo em temperaturas dentro da zona de conforto, aumentando com isso de 7 a 25% as exigências de manutenção. Além disso, tal estresse eleva a produção de radicais livres no organismo, comprometendo o sistema imune do animal, o qual leva a aumento na ocorrência de mastites, contagem de células somáticas entre outros (ROUSSEL, 1969).

De acordo com Armstrong (1994), a prioridade para manter a temperatura corporal dentro dos limites normais impera sobre as funções produtivas, como a lactação. Este mesmo autor afirmou que as respostas de vacas lactantes ao estresse térmico incluem (1) redução na ingestão de MS, produção e porcentagem de gordura no leite, (2) aumento das necessidades de manutenção, (3) diminuição da atividade, especialmente durante o dia, (4) aumento da frequência cardíaca e respiratória, (5)

temperatura corporal elevada e (6) aumento da taxa de sudorese e aumento do consumo de água.

A faixa de temperatura na qual os animais encontram-se em conforto térmico é denominada de zona de termoneutralidade. Nesta faixa, os animais não sofrem estresse por frio ou calor e o sistema termorregulador não é acionado, seja para fazer termólise (perda de calor endógeno) ou termogênese (produção de calor), mantendo uma variação normal de temperatura corporal e de frequência respiratória. O apetite é normal, assim, o gasto de energia para manutenção é mínimo, resultando em máxima eficiência produtiva. Os limites da zona de termoneutralidade são a temperatura crítica inferior, abaixo da qual o animal entra em estresse pelo frio, e a temperatura crítica superior, acima da qual a situação é de estresse pelo calor (BACCARI JR., 2001).

De acordo com Moraes et al. (2008), animais da raça Holandesa requerem temperaturas ambiente entre 5 e 18 °C para a máxima expressão de seu potencial genético. Huber (1990), por sua vez, considerou como adequadas para o conforto térmico de vacas Holandesas em lactação temperatura do ar entre 4 e 26 °C. Fuquay (1997) afirmou que para o gado europeu o valor da temperatura crítica máxima entre 25 a 27 °C. Já para Nääs (1989), em função da umidade relativa do ar e radiação solar local, a faixa de termoneutralidade de vacas da raça Holandesa em lactação poderia ser restringida em termos de temperatura do ar, entre 7 °C e 21 °C.

O somatório do calor metabólico e do calor adquirido do ambiente cria fluxos de calor variáveis que visam manter o equilíbrio térmico entre os corpos. De acordo com Silva (2000), o animal e o ambiente permutam calor nas formas sensível (através da radiação, condução e convecção) e latente (através da vaporização da água).

A perda de calor sensível necessita de um gradiente térmico para seu fracionamento, e dentro da zona de conforto para bovinos leiteiros representa 75% das perdas de calor. Em condições de temperaturas elevadas é acionado o mecanismo de transferência de calor por processos evaporativos, podendo chegar a 80% do calor total trocado (SILVA, 2000).

Quando os mecanismos de termólise não são eficientes, a soma da produção de calor metabólico com a fração de calor absorvida do meio passa a ser maior que a quantidade de calor eliminada pelas vias latente e sensível e, em consequência, os

animais passam a estocar calor, aumentando sua temperatura retal. Sob essas condições, a termólise evaporativa é o único meio efetivo de dissipação do excesso de calor corporal (MAIA e SILVA, 2005).

Taxas de evaporação cutânea e respiratória de vacas em lactação foram medidas por Maia et al. (2008) em condições tropicais, onde observaram que um aumento da temperatura de 10 °C para 36 °C e queda da umidade relativa de 90 para 30%, fez com que aumentasse a evaporação respiratória de 5 para 57 W por m² e a evaporação na superfície corporal passou de 30 para 350 W por m². Estes dados comprovam que a eliminação do calor latente é o principal mecanismo de perda de energia térmica sob altas temperaturas (> 30 °C), e a evaporação cutânea é responsável por 85% da perda total de calor.

Segundo Baccari Jr. (2001) as variáveis fisiológicas mais relevantes para determinação do estresse calórico de animais são a frequência respiratória, temperatura retal e temperatura superficial.

Frequência Respiratória (FR)

A maioria das espécie de animais homeotermos utiliza a frequência respiratória como meio evaporativo de perda de calor a fim de manter a homeotermia cada vez que a temperatura ambiente ultrapasse os limites desejáveis (BROWN-BRANDL et al., 2003).

O aumento da frequência respiratória por um período de tempo, caracteriza-se por um método eficiente de perda de calor, entretanto se esse mecanismo passa a ser exigido por um período prolongado, pode interferir na ingestão de alimentos e ruminação, proporcionar aumento do calor endógeno em função da atividade muscular (ofegação), desviar energia de outros processos metabólicos; o aumento da frequência respiratória causa diminuição da pressão parcial de CO₂ (pCO₂) no sangue, conseqüentemente ocorrerá diminuição da concentração de ácido carbônico, resultando em alcalose respiratória (BENJAMIN, 1981).

Em condições de termoneutralidade, a frequência respiratória normal da vaca em lactação varia de 18 a 28 movimentos por minuto (mov/min) e começa a elevar-se

significativamente a partir da temperatura crítica maior que 26 °C (ANDERSON, 1988), podendo ultrapassar os 160 mov/min. Para Hahn e Mader (1997), frequência respiratória em torno de 60 mov/min indica animais em situação de conforto térmico, acima de 120 mov/min estão sob carga excessiva de calor e, em situações que a FR ultrapassar 160 mov/min, os animais encontram-se em situação de emergência.

Temperatura Retal (TR)

O equilíbrio entre o ganho e a perda de calor do organismo resulta na temperatura corporal. Segundo Baccari Junior (2001), o calor necessário para manter a temperatura deriva do metabolismo e da absorção da radiação solar direta ou indireta. Mota (1997) afirmou que o equilíbrio entre o ganho e a perda de calor do corpo pode ser entendido pela TR, sendo esta medida usada frequentemente como índice de adaptabilidade fisiológica aos ambientes quentes, pois seu aumento mostra que os mecanismos de liberação de calor tornaram-se insuficientes para manter a homeotermia.

McDowell et al. (1954) evidenciaram que a TR normal aceita para todas as raças bovinas é de 38,3 °C, com alguma variação de acordo com a raça, idade, estágio de lactação, nível nutricional e estágio reprodutivo. Segundo Kolb (1987), a TR média para bovinos acima de um ano é de 38,5 +/- 1,5 °C. Esta temperatura é mantida mediante regulação cuidadosa do equilíbrio entre a formação de calor e sua liberação do organismo. Já Stober (1993) afirma que a temperatura retal normal da vaca leiteira, em termoneutralidade e em repouso, varia, geralmente, entre 38,0 °C e 39,5 °C.

Thatcher (2006), em pesquisa realizada na Flórida durante o verão, utilizou dois tipos de dietas, uma com Se orgânico (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) e outra com Se inorgânico (selenito de sódio). Este autor afirma ainda que a temperatura retal das vacas multíparas que receberam Se orgânico manteve-se adequada (< 39,5 °C) e a produção de leite melhorou significativamente durante os meses de verão.

Temperatura de Pelame (TP)

O pelame dos animais possui funções adaptativas, sendo elas (1) isolamento térmico – efeito do pelame nos processos de termólise de origem puramente física, como condução, convecção e radiação; (2) termólise evaporativa – esse efeito ocorre através da formação de um “colchão” de ar entre a pele úmida e o ar ambiente, dificultando o processo de evaporação, processo que está associado à convecção; (3) atributos termorreguladores correlacionados – características do pelame que são associadas a mecanismos termorreguladores, como a associação entre o tipo de pelame e as dimensões e nível de atividade das glândulas sudoríparas; (4) atributos não termorreguladores associados – associação do pelame com produção, ganho de peso, reprodução e outras características não ligadas diretamente à termorregulação (SILVA, 2000).

A temperatura de superfície corporal depende, principalmente, das condições ambientes de umidade e temperatura do ar e vento, e das condições fisiológicas, como vascularização e evaporação pelo suor. Assim, contribui para a manutenção da temperatura corporal mediante trocas de calor com o ambiente em temperaturas amenas. Os bovinos dissipam calor para o ambiente através da pele por radiação, condução e convecção, ou seja, perda de calor sensível (CUNNINGHAM, 1999).

O estresse térmico imposto pelo ambiente depende da carga térmica interna e de fatores que governam a troca de calor. Estes últimos são dependentes dos gradientes de temperatura e de pressão de vapor da atmosfera e da resistência ao fluxo de calor entre estes gradientes, e bovinos alcançam o equilíbrio térmico em ambientes quentes preferencialmente por vasodilatação periférica, e, então, por evaporação da água na respiração ou na superfície cutânea (HUTCHINSON e BROWN, 1969; KOVARIK, 1973).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi conduzida entre 28 de novembro de 2008 e 01 de abril de 2009 nas dependências do Centro de Análise e Pesquisa Tecnológica do Agronegócio Bovinos de Leite, pertencente ao Instituto de Zootecnia, localizado no município de Nova Odessa/SP. A região de Nova Odessa situa-se na latitude 22 ° 46'39" Sul e longitude 47 ° 17'45" Oeste, com altitude média de 570 m. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo CWa, tropical, com inverno relativamente seco e verão quente e chuvoso. A precipitação pluviométrica é de 1.317 mm por ano e a temperatura oscila entre 10 °C e 35 °C, com média de 26 °C. A média anual da umidade relativa do ar é de aproximadamente 75%.

3.1 Animais e Instalações

Para as avaliações dos tratamentos foram utilizadas 24 vacas em lactação, 18 da raça Holandesa Preto e Branco, e seis Pardo Suíça, com peso médio de 600 kg e produção média diária de leite 18 kg. As 24 vacas foram pareadas pelas características de raça, estágio e ordem de lactação, sendo formado dois grupos de animais (tratamentos). Para tanto, procedeu-se o sorteio dos 12 animais de cada par para cada tratamento, sendo o delineamento experimental de blocos pareados ao acaso (*Randomized Paired Design*).

Durante o período experimental, os animais permaneceram em instalação do tipo *free-stall* com 36 m de comprimento e 12 m de largura, laterais abertas, com corredor central de 2,5 m, pé direito de 3,80 m, área de circulação de 2,90 m² por animal, piso de concreto e telhado de duas águas com cobertura de telha de barro. A linha de alimentação compreendia toda extensão do galpão, que era guarnecido com seis bebedouros de alvenaria e 28 camas de descanso (1,10 m de largura e 2,12 m de comprimento).

3.2 Tratamentos e Dietas

Os 24 animais utilizados foram divididos em dois grupos de 12 através de pareamento e sorteio. Cada grupo recebeu um dos seguintes tratamentos:

1. Dieta com adição de Selênio inorgânico (*Se inorgânico*);
2. Dieta com adição de Selênio orgânico (*Se orgânico*).

Antes do início do experimento foram coletadas amostras dos alimentos, as quais foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 55 °C durante 72 h. Em seguida, todas as amostras foram moídas em peneira de 2 mm, retirando-se uma sub-amostra para análise de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM), segundo AOAC (1990). Também foram realizadas as análises de fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com a metodologia proposta por Goering e Van Soest (1970).

Cada tratamento recebeu uma fonte específica de Se misturada à mesma dieta basal, balanceada segundo recomendações do NRC (2001). A dieta foi fornecida na forma de mistura total, permitindo sempre uma sobra de 10% com o objetivo de não limitar o consumo voluntário. Na Tabela 1 apresentam-se os ingredientes e a composição química das dietas experimentais.

Tabela 1. Ingredientes e composição química das dietas experimentais (valores expressos em porcentagem da matéria-seca).

Ingredientes	Dieta (%)
Silagem de milho	53,6
Milho triturado	18,4
Farelo de soja	6,0
Caroço de algodão	10,8
Núcleo proteico*	11,2
Composição Química	
MS (%)	54,56
PB (%)	17,55
EE (%)	4,70
MM (%)	7,78
FDN (%)	38,87
FDA (%)	24,94
NDT (%)	78,22
Selênio (mg por kg de MS)**	0,2778

* Composição do produto: matéria seca (MS) 92%; proteína bruta (PB) 40%; nutrientes digestíveis totais (NDT) 60%; extrato etéreo (EE) 1,8%; Cálcio (Ca) 45 g/kg; Fósforo (P) 14 g/kg; magnésio (Mg) 10 g/kg; potássio (K) 10 g/kg; sódio (Na) 16 g/kg; enxofre (S) 12 g/kg; zinco (Zn) 520 mg/kg; cobre (Cu) 180 mg/kg; manganês (Mn) 145 mg/kg; iodo (I) 10 mg/kg; selênio (Se) 2,5 mg/kg; cobalto (Co) 10 mg/kg; ferro (Fe) 360 mg/kg; vitamina A 30000 unidades internacionais (UI) por kg; vitamina D3 1500 UI/kg; vitamina E 500 UI/kg.

** No tratamento *Se inorgânico* a fonte de selênio foi selenito de sódio (45% de Se elementar). No tratamento *Se orgânico* o selenito de sódio foi substituído por selênio levedura – Sel-Plex® (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) da Alltech® (0,1% de Se elementar).

Os animais comeram, em média, 18 kg de MS por dia onde 53,7% era composto por volumoso e 46,3% por concentrado e eram oferecidas duas vezes ao dia (às 7 e 16 h).

A quantidade de Se na dieta experimental foi, aproximadamente, 5,198 mg por vaca por dia, onde 5 mg provieram da suplementação de selenito de sódio ou Se levedura e 0,198 mg do Se presente naturalmente nos alimentos concentrados e volumosos que compuseram a dieta.

3.3 Coleta de Dados

3.3.1 Produção de leite

Durante o período experimental, 124 dias de lactação, os animais foram ordenhados mecanicamente duas vezes ao dia (6 h e 30 min e às 15 h), tendo suas produções registradas. A sala de espera e de ordenha podem ser visualizadas nas Figuras 1 e 2.



Figura 1. Sala de espera.



Figura 2. Sala de ordenha.

3.3.2 Determinação do Selênio no Leite

Para determinação dos teores de Se no leite foram colhidas três amostras por animal (início, meio e fim do experimento). As análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP – Jaboticabal, e os teores totais de Se no leite foram determinados nas amostras segundo procedimento previamente desenvolvido e descrito por Silva et al. (2001), empregando-se o forno com radiação micro-ondas modelo *Multiwave 3000 Microwave Reaction System, Anton Paar GmbH – Graz (Áustria)* equipado com vasos de PTFE-TFM (politetrafluoretileno, modificado) para mineralização das amostras.

A uma alíquota de 5,0 g da amostra de leite foi adicionado 2,0 mL de H_2O_2 (30% m/m) e 4,0 mL HNO_3 concentrado suprapur (*Merck*) P.A. (para análise), e em seguida submetida a digestão em aparelho de micro-ondas conforme programa de aquecimento abaixo (Tabela 2).

Tabela 2. Programa de aquecimento empregado na digestão ácida de leite assistida por radiação micro-ondas.

Etapa	Potência (W)	Tempo (min)	Ventilação
1	90	10	(1) fraca
2	130	15	(1) fraca
3	1400	15	(3) forçada

Após a digestão, as amostras foram diluídas a 25 mL com água ultrapura, as concentrações de Se foram determinadas pelo instrumento espectrômetro de absorção atômica equipado com módulo de forno de grafite (GF-AAS) *Thermo Electron Corporation* modelo *Series Solar*, equipado com amostrador automático e corretor de fundo realizado por lâmpada de deutério, conforme parâmetros abaixo descritos (Tabela 3). Foram usados tubos de grafite protegidos piroliticamente com aquecimento longitudinal.

Como fonte de radiação foi utilizada lâmpada de catodo oco (HCL) monoelementar para a detecção de Se e o comprimento de onda selecionado foi 196,0 nm e largura da fenda 0,5 nm.

Foi usada mistura de soluções de modificadores químicos (1000 mg por L) de Pd e Mg a qual foi preparada a partir de solução estoque de 10.000 por L de Pd (NO₃)₂ e Mg(NO₃)₂ acidificada em 10 % de HNO₃.

Tabela 3. Parâmetros de operação do GF-AAS na determinação de Selênio nas amostras de leite bovino.

Fase	Temperatura (°C)	Rampa (°C s ⁻¹)	Tempo (s)	Fluxo de gás argônio (L min ⁻¹)
Secagem 1	90	20	3	0,3
Secagem 2	130	1	40	0,3
Pirólise	1400	100	8	0,3
Atomização	2500	0	3	0
Limpeza	2600	0	3	0,3

3.3.3 Composição e Contagem de Células Somáticas do Leite

Semanalmente (terças-feiras) foram colhidas amostras individuais de leite para a determinação dos componentes (gordura, proteína, lactose, extrato seco desengordurado e sólidos totais) e CCS. As concentrações de gordura, proteína, lactose, extrato seco desengordurado e sólidos totais foram determinadas por absorção infravermelha utilizando-se o equipamento Bentley 200* (BENTLEY INSTRUMENTS, 1998). A CCS foi determinada por citometria de fluxo, utilizando-se o equipamento Somacount 300* (BENTLEY INSTRUMENTS, 1998).

3.3.4 Mastite e Identificação Microbiológica

Por um período de quatro dias antes do início do experimento (24 a 27 de novembro de 2008) e na última semana experimental (23 a 26 de março de 2009), foram realizados os exames de TAMIS (caneca de fundo telado), de acordo com a metodologia proposta por Radostitis (1994), e o *California Mastitis Test* (CMT), através da metodologia descrita por Schalm e Noorlander (1957), para detecção da mastite clínica e subclínica, respectivamente.

Nos mesmos dias foram colhidas amostras de leite assepticamente de todos os quartos mamários para identificação microbiológica dos agentes causais da mastite. Antes da colheita o quarto era lavado com água e solução desinfetante, seco com papel toalha descartável e submetido à antisepsia com algodão embebido em álcool iodado (1000 mL de álcool 70% : 20 mL iodo 2,5%). A seguir, o leite (2 a 5 mL) era colhido e congelado em frascos estéreis para análise.

As amostras foram cultivadas em ágar sangue contendo 5% de sangue desfibrinado de carneiro, incubadas em aerobiose a 37 °C por 72 h com leituras às 24, 48 e 72 h, ágar *MacConkey*, e incubadas a 37 °C por 48 h e ágar *Sabouraud* dextrose incubados a temperatura ambiente por 7 dias, para identificação de fungos e leveduras. As técnicas microbiológicas para a identificação das bactérias foram empregadas conforme descrito por Murray et al. (1999). Para identificação dos gêneros

Staphylococcus sp., *Streptococcus* sp. e *Corynebacterium* sp. foi utilizada a prova da catalase e o método de coloração de gram.

Para identificação da mastite clínica e subclínica e dos agentes causais da mastite foram considerados 10 animais de cada tratamento, totalizando 20 animais e 10 pares.

3.3.5 Variáveis Climáticas

A temperatura de bulbo seco (TBS) e a umidade relativa do ar (UR) foram registradas por meio de dois registradores digitais automáticos (Testo[®], modelo Testostor[®] 171 - Figura 3), posicionados um em cada tratamento, com intervalos de 15 minutos durante todo período experimental.



Figura 3. Registrador digital utilizado nas medidas de temperatura e umidade relativa do ar no interior do *free-stall*.

A variação média da TBS e da UR nas diferentes horas do dia e tratamentos podem ser analisadas na Figura 4.

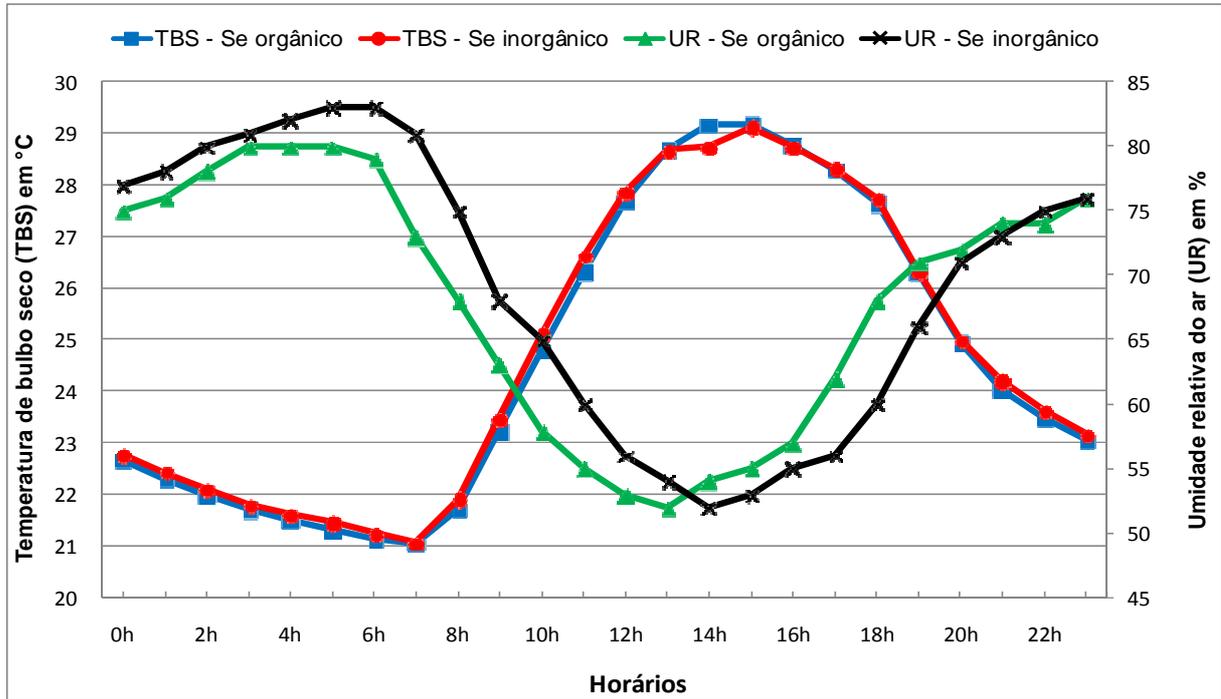


Figura 4. Média da temperatura de bulbo seco (TBS) e umidade relativa do ar (UR) registrada a cada hora nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico* no período de 29 de novembro de 2008 a 01 de abril de 2009 em Nova Odessa/SP.

Às 7 h os valores médios de TBS nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico* foram, respectivamente, 21,07 °C e 21,05 °C, e foram as menores temperaturas observadas. Das 7 h às 14 h houve aumento da TBS, que chegou a 29,19 °C e 29,18 °C nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico*, respectivamente. Após às 14 h a TBS voltou a diminuir gradativamente até às 7 h.

A temperatura mínima média observada durante todo o período experimental nos dois tratamentos foi 15,95 °C, e a temperatura máxima média encontrada nas mesmas condições, 35,25 °C. Estes dados atestam que os animais passaram por situações de estresse por calor em determinados dias e horários e, por outro lado, houve momentos de termoneutralidade. No entanto, como a diferença de TBS entre tratamentos foi muito baixa, tais variações climáticas não influenciaram nas respostas das demais variáveis analisadas.

Com relação a UR, observou-se valores similares entre os tratamentos. No entanto, durante o dia houve variações acentuadas, e o pico de umidade deu-se entre às 5 h (80% para o tratamento *Se orgânico* e 83% para o tratamento *Se inorgânico*), e

os menores valores ocorreram às 13 h (52% para o tratamento *Se orgânico* e 54% para o tratamento *Se inorgânico*) e 14 h (54% para o tratamento *Se orgânico* e 52% para o tratamento *Se inorgânico*).

A partir dos valores de TBS e UR foi calculado o Índice de Temperatura e Umidade (ITU), utilizando-se a equação descrita por McDowell e Johnson (1971):

$$\text{ITU} = t_s - 0,55 (1-UR) (t_s-58) \quad (\text{eq. 1})$$

Em que:

- t_s = temperatura de bulbo seco, em graus Fahrenheit (°F);
- 0,55 = constante;
- 1 = constante;
- UR = umidade relativa do ar, expressa em valor decimal;
- 58 = constante.

Na Figura 5 são apresentados os valores médios do ITU a cada hora nos diferentes tratamentos.

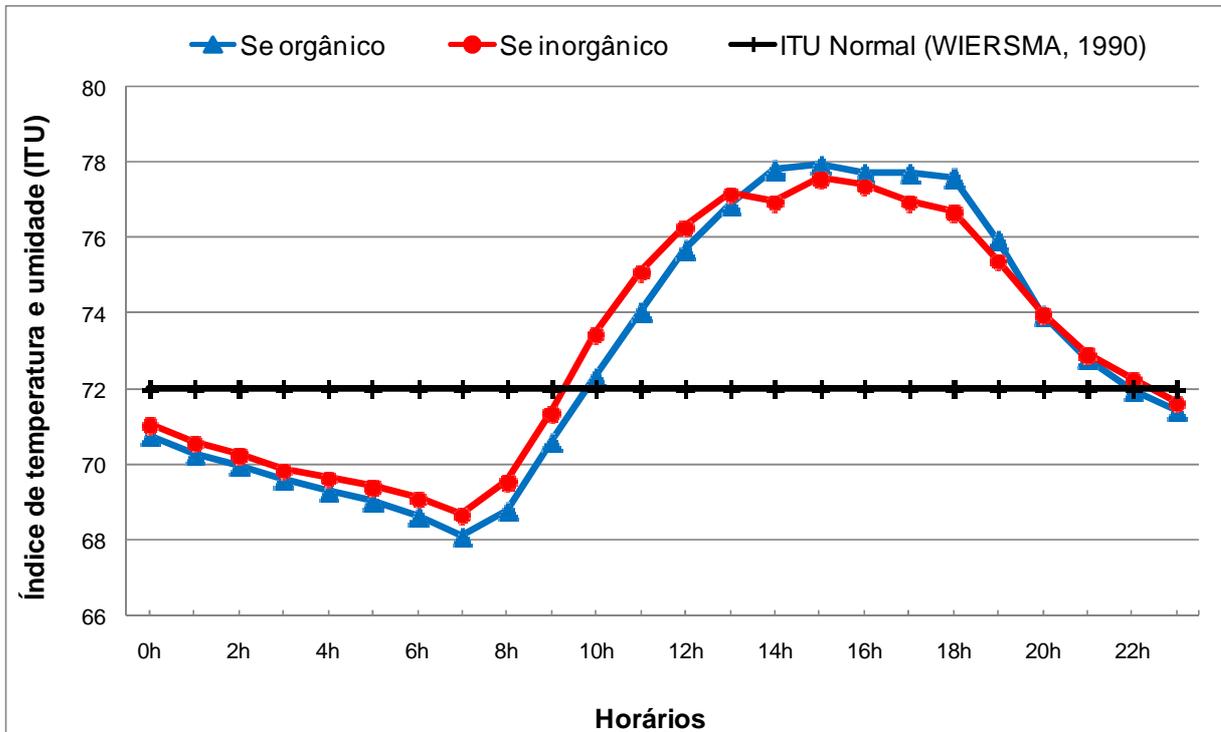


Figura 5. Valores médios do índice de temperatura e umidade (ITU) registrado a cada hora nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico* e o ITU normal de acordo com Wiersma (1990) citado por Armstrong (1994).

O ITU demonstrou-se mais elevado nos horários que compreendem das 10 às 21 h. Entre tratamentos o ITU apresentou pouca diferença, sugerindo que este fator não influenciou as demais variáveis analisadas na pesquisa.

Durante o período experimental, houve dias de ITU elevado, seguidos de dias mais amenos. Tais variações super ou subestimam médias finais do ITU. Para aumentar a precisão e acurácia das análises, a TBS e UR foram aferidas a cada 15 minutos durante os 124 dias da pesquisa e geraram um total de 11.902 valores de ITU (dois foram descartados em virtude dos dados estarem sendo descarregados dos *data loggers*). Observou-se com esses resultados que, segundo a classificação proposta por Wiersma (1990) e citada por Armstrong (1994), em 51,08% das vezes (6.077 observações) os animais estavam em ambientes ótimos, ou seja, ITU abaixo de 72. Em 39,20% das análises (4.666 observações) o estresse era considerado ameno (ITU entre 72 e 78) e em 9,72% dos casos (1.159 observações) os animais estavam sujeitos ao estresse moderado (ITU entre 78 e 88). Em nenhum momento da pesquisa os animais

passaram por situações de estresse severo (89 a 98), e perigo (acima de 98), que está associado à morte do rebanho.

3.3.6 Variáveis Fisiológicas

Para avaliar os efeitos do Se orgânico na dieta sobre o conforto térmico dos animais foram tomadas a frequência respiratória e as temperaturas de pelame e retal, às 14 h, uma vez por semana (nos mesmos dias em que eram coletadas as amostras de leite).

A frequência respiratória (FR) foi aferida visualmente por meio da contagem de movimentos do flanco direito de todos animais, durante 20 segundos. Depois de registrada a FR em 20 segundos, os valores foram multiplicados por três para se obter o valor referente a um minuto.

A temperatura retal (TR) foi obtida através de termômetro clínico digital (Figura 6), durante aproximadamente um minuto. Tal procedimento era realizado em todos os animais, a seis centímetros de profundidade, e com o bulbo metálico do termômetro em contato com a mucosa retal.



Figura 6. Termômetro clínico veterinário utilizado para aferição da TR.

A TP foi mensurada a uma distância de 0,5 m da cabeça, do dorso, da canela e do úbere, de todos os animais, por meio de termômetro de infravermelho digital da marca Fluke®, o qual pode ser visualizado na Figura 7, abaixo.



Figura 7. Vista lateral e frontal do termômetro infravermelho digital utilizado para aferição da temperatura de pelame.

O cálculo da TP foi realizado por meio da média ponderada de cada local aferido (Figura 8), atribuindo-se peso de 10% para a cabeça, 70% para o dorso, 12% para a canela e 8% para o úbere, conforme metodologia descrita por Pinheiro et al. (2005).

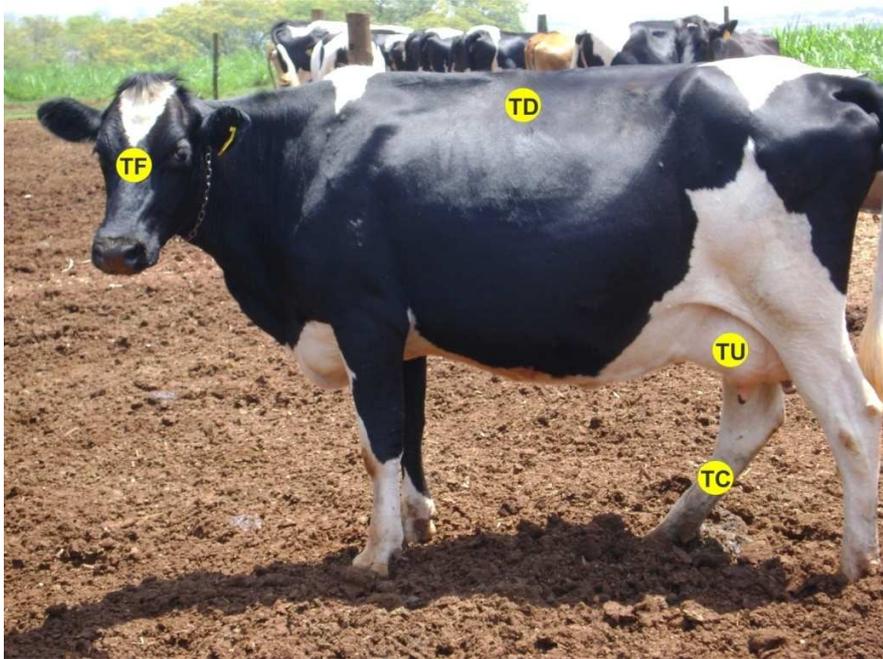


Figura 8. Locais de aferição da temperatura de pelame (TP).

3.4 Análise Estatística

A análise estatística paramétrica, tal como a análise da variância, tem como suposição a homogeneidade de variâncias entre os grupos (ou amostras) a serem comparados. Para testar a homogeneidade das variâncias entre as distribuições das variáveis para os dois tratamentos (*Se inorgânico* e *Se orgânico*), adotou-se o Teste de Levene (CONAGIN et al., 2009) com 95% de confiança. O Teste de Levene tem como hipótese nula $H_0: \sigma_1 = \sigma_2$ e hipótese alternativa $H_a: \sigma_1 \neq \sigma_2$.

A análise da variância tem como suposição a existência de distribuição normal dos dados. Para testar a normalidade da distribuição dos dados das variáveis adotou-se o Teste de Anderson-Darling (AD) que é um teste de aderência para modelos contínuos. A hipótese nula considera que existe normalidade na distribuição (H_0 : Y tem distribuição normal e H_a : Y não tem distribuição normal), portanto variáveis em que a estatística AD apresentar valor de probabilidade (P) maior que 5% o teste é não significativo e não rejeita-se a hipótese de normalidade.

Os resultados referentes aos teste de homogeneidade e normalidade das diferentes variáveis estudadas podem ser analisados no ANEXO.

O teste de Wilcoxon para dados pareados é um teste não paramétrico que não requer suposições sobre a distribuição dos dados. O Teste de Wilcoxon se baseia na diferença entre dois pares de medianas. Testou-se as hipóteses nula de H_0 : mediana *Se inorgânico* = mediana *Se orgânico* e a hipótese alternativa de H_a : mediana *Se inorgânico* \neq mediana *Se orgânico*, com 95% de confiança.

A comparação entre os efeitos médios dos tratamentos sobre a produção e a qualidade do leite e as variáveis fisiológicas foi realizada pelo teste F (com 95% de confiança) da análise da variância, considerando o modelo estatístico para o delineamento de blocos pareados ao acaso (*One-way Blocked ANOVA*) com medidas repetidas no tempo. Para tanto foram verificadas as suposições da existência de normalidade da distribuição e homogeneidade das variâncias (ANEXO). Quando não ocorreu normalidade dos dados foi aplicado o teste não-paramétrico de Wilcoxon para dados pareados, conforme Conagin et al. (2009).

No modelo estatístico (equação 2) para o delineamento em blocos pareados (*One-way Blocked ANOVA*) os pares têm efeitos aleatórios, não há interações e não há repetições. Quando o tratamento possui apenas dois níveis, o teste F é similar ao teste t pareado para testar a hipótese nula (H_0 : $u_1 = u_2$) tendo como hipótese alternativa H_a : $u_1 \neq u_2$.

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} \quad (\text{eq. 2})$$

Onde, y_{ij} é a produção total de leite para o tratamento i e para o par j , para $i = 1$ a 2 e para $j = 1$ a 9 ; μ (média) é a constante associada ao modelo, τ_i é o efeito fixo do tratamento i ; β_j é o efeito aleatório do par j ; e ε_{ij} é o erro experimental suposto NID ($0, \sigma^2$) isto é, os desvios são normais e independentemente distribuídos com média 0 e variância σ^2 , conforme Montgomery (2004).

Para avaliação da ocorrência de agentes infecciosos da glândula mamária e variáveis qualitativas de mastite clínica e subclínica foram considerados 20 animais (10 de cada tratamento). O teste utilizado foi o qui-quadrado (χ^2) em nível de significância de 5%.

As análises estatísticas foram realizadas no *software* Minitab, versão 13.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 24 animais que iniciaram a pesquisa, quatro foram descartados devido a problemas sanitários (três do tratamento *Se inorgânico* e um do tratamento *Se orgânico*). Dessa forma, três pares foram excluídos das análises estatísticas, totalizando 9 pares analisados durante os 124 dias de pesquisa.

4.1 Produção de Leite

A variável produção de leite apresentou normalidade na distribuição dos valores pelo teste de Anderson-Darling e homogeneidade da variância pelo teste de Levene a 5% de probabilidade (anexo). Em função disso, realizou-se o teste F da análise da variância para comparar os efeitos dos tratamentos sobre a produção de leite. Na Tabela 4 são apresentados os valores das médias, medianas, desvios-padrão (DP), erros médios e probabilidade (P) da variável produção de leite registrada (sem correção para gordura) e produção de leite corrigida para 4% de gordura nos dois tratamentos durante os 124 dias de pesquisa.

Tabela 4. Produção de leite registrada (PL registrada) e corrigida para 4% de gordura (PL 4% de gordura) de vacas recebendo selenito de sódio (*Se inorgânico*) e selênio levedura (*Se orgânico*) durante os 124 dias experimentais.

Variável	Tratamento	N	Média	Mediana	DP	Erro médio	P
PL registrada	Se inorgânico	9	2247,3 ns	2147,8	295,4	98,4	0,95
	Se orgânico	9	2251,9 ns	2299,1	286	95,3	
PL 4% de gordura	Se inorgânico	9	2233,8 ns	2134,9	293,6	97,8	0,39
	Se orgânico	9	2302,6 ns	2350,8	292,4	97,4	

ns: Não significativo pelo Teste F a 5% de probabilidade.

A produção de leite registrada foi 2.247,3 kg e 2.251,9 kg para os tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico*, respectivamente, sendo o resultado do teste F não

significativo a 5% de probabilidade ($P < 0,95$). Portanto, não rejeitou-se a hipótese nula de igualdade das médias de produção total de leite. Diferenças não significativas também foram observadas para produção de leite corrigida para 4% de gordura (2233,8 kg e 2302,6 kg de leite para os tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico*), sendo o valor de $P < 0,39$.

Juniper et al. (2006) avaliaram a suplementação da mesma cepa de levedura utilizada nesta pesquisa (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) nos níveis de 0,15, 0,27, 0,33 e 0,40 mg por kg de MS, além de um tratamento com suplementação com selenito de sódio (0,25 mg por kg MS), e não verificaram diferenças significativas na produção de leite diária, sendo, respectivamente, 31,3, 31,5, 30,4, 31,0 e 30,6 kg.

Wang et al. (2009), em estudo realizado na China, suplementaram 28 vacas da raça Holandesa com 0, 0,15, 0,30 e 0,45 mg de Se por kg de MS provindo de levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) durante 45 dias e constataram maior produção ($P < 0,05$) dos tratamentos que receberam 0,15 e 0,30 mg de Se por kg MS quando comparados aos animais que receberam 0 e 0,45 mg de Se por kg de MS. Efeito positivo da suplementação com Se na produção de leite também foi verificado por Thatcher (2006), que comparou as mesmas fontes de Se utilizadas nesta pesquisa.

Juniper et al. (2008), por sua vez, buscando estudar a tolerância de vacas leiteiras à suplementação de Se orgânico (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) verificaram que a produção de leite diária foi de 31,1 kg para os animais que receberam 3,4 mg Se por dia e 31,4 kg para os animais suplementados com 134,1 mg Se por dia (10 e 20 vezes mais que os níveis máximos permitidos pela União Européia e pelo *US Food and Drug Administration*, respectivamente), não diferindo significativamente entre si.

Essa divergência de resultados ocorre pelo fato das pesquisas serem desenvolvidas em diferentes regiões mundiais, onde a concentração de Se no solo e, conseqüentemente, nas plantas, é diferente. Além disso, existe divergências com relação à fonte e quantidade de Se suplementar, dietas basais utilizadas, genética dos animais, estágios de lactação, ambientes de produção, entre outros fatores, que contribuem para elevar a discordância dos resultados.

4.2 Qualidade do Leite

4.2.1. Selênio no Leite

A variável Se no leite apresentou homogeneidade da variância pelo teste de Levene, mas não apresentou normalidade na distribuição pelo teste de normalidade de Anderson-Darling a 5% de probabilidade.

Em função da falta da normalidade, embora apresentando homogeneidade das variâncias, optou-se por não transformar os valores das variáveis e nem retirar os *outliers* da análise e, por isto, o teste não paramétrico de Wilcoxon para dados pareados para comparar os efeitos dos tratamentos sobre a variável Se no leite foi aplicado (Tabela 5).

Tabela 5. Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), mediana, diferenças das medianas (DM), número de observações utilizadas para aplicação do teste de Wilcoxon (N Teste), estatística de Wilcoxon (EW), probabilidade (P) e mediana estimada das diferenças (MED) da variável selênio no leite (Se leite) de animais recebendo selenito de sódio (*Se inorgânico*) e Selênio levedura (*Se orgânico*).

Variável	Tratamento	N	Média ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DP	Mediana ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Teste de Wilcoxon Pareado				
						DM ($\mu\text{g L}^{-1}$)	N Teste	EW	P	MED
Se leite	<i>Se inorgânico</i>	27	6,499	3,829	5,54	1,66 ns	27	223	0,421	1,208
	<i>Se orgânico</i>	27	5,467	3,848	3,88					

ns: não significativo pelo Teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade.

A variável selênio no leite não foi afetada pelas dietas experimentais, sendo os valores das medianas 5,54 μg por L e 3,88 μg por L para os tratamentos *Se inorgânico* e *Se Orgânico*, respectivamente. Esses resultados contestam os encontrados por Juniper et al (2006), que ao suplementarem diariamente 40 vacas durante 35 dias com Se levedura (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) e selenito de sódio, na dose de 4,28 e 2,25 mg por animal, encontraram maior concentração de Se no leite para o tratamento que recebeu Se levedura.

De acordo com a meta-análise desenvolvida por Ceballos et al. (2009), os rebanhos americanos suplementados com 6 mg por dia de Se orgânico apresentam maior concentração de Se no leite 75 dias após o início das suplementação quando comparado com animais suplementados com Se inorgânico. No entanto, esses autores concluíram que existiu grande variação na concentração de Se no leite entre os trabalhos analisados. As principais fontes de variação foram o local onde as pesquisas foram conduzidas, o estágio de lactação dos animais, as fontes e doses de Se suplementar e, principalmente, a metodologia de determinação de Se no leite.

4.2.2 Sólidos do leite e CCS

As variáveis gordura e extrato seco desengordurado (ESD) apresentaram homogeneidade da variância pelo teste de Levene a 5% de probabilidade. No entanto, as demais variáveis (proteína, lactose, sólidos totais e CCS) não apresentaram. Nenhuma das variáveis de qualidade do leite apresentaram normalidade na distribuição pelo teste de normalidade de Anderson-Darling a 5% de probabilidade.

Em função da falta da normalidade em todas as variáveis e da falta de homogeneidade das variâncias para as variáveis proteína, lactose, sólidos totais e CCS, aplicou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon para dados pareados, para comparar os efeitos dos tratamentos sobre as variáveis de qualidade do leite. Os resultados obtidos por este teste podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6. Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), mediana, diferenças das medianas (DM), número de observações utilizadas para aplicação do teste de Wilcoxon (N Teste), estatística de Wilcoxon (EW), probabilidade (P) e mediana estimada das diferenças (MED) das variáveis de qualidade do leite de animais recebendo selenito de sódio (*Se inorgânico*) e Selênio levedura (*Se orgânico*).

Variável	Tratamento	N	Média	DP	Mediana	Teste de Wilcoxon Pareado				
						DM	N Teste	EW	P	MED
Gordura (%)	<i>Se inorgânico</i>	171	4,07	0,66	3,96	- 0,19*	171	5742,50	0,01	-0,135
	<i>Se orgânico</i>	171	4,17	0,62	4,15					
Proteína (%)	<i>Se inorgânico</i>	171	3,09	0,25	3,11	0,11 ns	169	7077,50	0,8	-0,005
	<i>Se orgânico</i>	171	3,09	0,35	3,00					
Lactose (%)	<i>Se inorgânico</i>	171	4,52	0,26	4,60	0,07 ns	170	7708,00	0,49	0,020
	<i>Se orgânico</i>	171	4,51	0,19	4,53					
Sólidos Totais (%)	<i>Se inorgânico</i>	171	12,62	0,89	12,56	-0,25 ns	171	6447,50	0,16	-0,125
	<i>Se orgânico</i>	171	12,72	0,97	12,81					
ESD (%)	<i>Se inorgânico</i>	171	8,55	0,39	8,55	-0,05 ns	170	7061,50	0,74	-0,015
	<i>Se orgânico</i>	171	8,55	0,42	8,60					
CCS (log ₂ /mL)	<i>Se inorgânico</i>	171	7,32	1,66	7,54	1,00*	168	8652,00	0,01	0,470
	<i>Se orgânico</i>	171	6,93	2,65	6,54					

O sinal * indica significância para diferença das medianas (DM) pelo Teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade e ns é não significativo.

De acordo com o Teste de Wilcoxon para dados pareados ao acaso, não houve diferenças significativas para as diferenças das medianas para as variáveis proteína (3,11% e 3,00%), lactose (4,60% e 4,53%), sólidos totais (12,56% e 12,81%) e extrato seco desengordurado (8,55% e 8,60%) entre o tratamento *Se inorgânico* e *Se orgânico*, respectivamente. Ausência de efeito da suplementação dietética de *Se orgânico* (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) na porcentagem de proteína e lactose concordam com pesquisas realizadas Wang et al. (2009), Paschoal (2007), Heard et al. (2007) e Juniper et al. (2006). De toda literatura consultada, nenhuma apresentou o efeito de fontes de Se sobre a porcentagem de sólidos totais e extrato seco desengordurado.

Os animais suplementado com *Se orgânico* elevaram significativamente ($P < 0,01$) a porcentagem de gordura do leite quando comparado aos animais que receberam a fonte inorgânica de Se, e as medianas foram 4,15% e 3,96%, respectivamente. Essa

elevação da concentração lipídica do leite dos animais alimentados com Se orgânico pode estar ligada à diminuição da CCS e dos casos de mastite clínica e sub-clínica positiva e fortemente positiva (++ e +++) que ocorreu nesse tratamento (Tabela 7 e Figuras 9 e 10). Segundo Duncan et al. (1991), animais com baixa incidência de mastite apresentam maior teor de gordura no leite devido à menor ação enzimática de lipases de origem leucocitária, a qual aumenta em condições de estresse imune.

O tratamento *Se orgânico* apresentou diminuição ($P < 0,01$) da CCS (\log_2) quando comparado ao tratamento *Se inorgânico* (6,54 e 7,54, respectivamente). Esse resultado é de grande relevância à produção leiteira, visto que a CCS é usada como parâmetro de saúde da glândula mamária, pois está correlacionada positivamente com a ocorrência de mastites e, conseqüentemente, com a qualidade do leite.

O fato que pode explicar a diminuição da CCS é a maior capacidade neutrófila contra agentes infecciosos causadores da mastite no tratamento que recebeu Se orgânico (IBEAGHA et al., 2009), visto que, de acordo com Ortman e Peharson (1999), quando o Se encontra-se em formas orgânicas, como SeMet e SeCis, ocorre um aumento significativo da absorção (91 e 81%, respectivamente), quando comparado a fontes inorgânicas como o selenito e o selenato de sódio.

Vários estudos (SILVESTRE et al., 2007; PASCHOAL et al., 2003; WEISS et al., 1990) têm reportado diferenças estatísticas entre a concentração de Se no sangue ou plasma e ocorrência de mastites, atividade neutrófila e CCS. Corroborando com esses resultados, Sánchez et al. (2007) constataram diminuição na CCS do leite de cabras ao suplementarem selenato de bário (1 mg de Se por kg de peso corporal via injeção subcutânea) nos animais criados em solos pobres em Se.

Diferenças não significativas da CCS para diferentes fontes e doses de Se foram reportadas por Heard et al. (2007), Paschoal (2007) e Juniper et al. (2006). No entanto, a falta de efeito da suplementação de Se nestas pesquisas se deve, possivelmente, ao baixo número de células somáticas no início dos experimentos.

4.3 Ocorrência de Mastite

4.3.1 Mastite Clínica

A porcentagem de mastite clínica observada em relação ao número de animais e quartos mamários de cada vaca em cada tratamento entre os dias 24 a 27 de novembro de 2008 (fase pré-experimental) e 23 a 26 de março de 2009 (última semana experimental) são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Ocorrência de mastite clínica (%), realizada pelo teste TAMIS, em 20 vacas em lactação e 80 quartos mamários na semana pré-experimental e na última semana da fase experimental (18ª Semana).

Tratamento		ANIMAIS		QUARTOS MAMÁRIOS	
		Pré-experimental	18ª Semana	Pré-experimental	18ª Semana
<i>Se inorgânico</i>	TAMIS	1 (10,0%)	2 (20,0%)	1 (2,5%)	2 (5,0%)
	Total	10	10	40	40
<i>Se orgânico</i>	TAMIS	1 (10,0%)	0 (0,0%)	1 (2,5%)	0 (0,0%)
	Total	10	10	40	40

Na fase pré-experimental 10,0% dos animais de ambos os tratamentos apresentavam mastite clínica. Este valor é superior ao preconizado e aceito internacionalmente (máximo de 3% do rebanho tratado por mês), porém é inferior ao relatado por Costa et al. (1995), que ao examinarem 574 vacas em 28 propriedades localizadas nos estados de São Paulo e Minas Gerais constataram que 17,45% dos animais tinham mastite clínica. Com relação ao número de quartos mamários infectados observou-se que 2,5% destes estavam infectados na fase pré-experimental.

As análises realizadas na última semana experimental revelaram que o tratamento *Se inorgânico* passou para dois animais e dois quartos mamários com mastite clínica. Todos os animais suplementados com *Se orgânico*, por sua vez, estavam livres de mastite clínica na última semana da fase experimental, o que evidencia a importância de fontes mais biodisponíveis na resposta imune dos animais.

A diminuição dos casos de mastite clínica do tratamento *Se orgânico* pode ser explicada pela prevenção da função dos neutrófilos, através da ação antioxidante do

Se. De acordo com Sordillo e Aitken (2009), sinais de infecções da glândula mamária fazem com que neutrófilos e macrófagos saiam da circulação sanguínea e entrem no tecido mamário para combater os patógenos. A fagocitose dos agentes infecciosos pelas células de defesa causam um aumento acentuado na produção de O_2 celular, que é altamente tóxico. Quando há presença de quantidades adequadas de Se circulante estes metabólitos tóxicos às células são neutralizados por enzimas antioxidantes, principalmente a glutathione peroxidase, elevando a capacidade fagocitária do organismo. Por outro lado, em situações de deficiência de Se, ocorre um acúmulo de O_2 que pode causar lesões ou até mesmo a lise celular.

Resultados semelhantes foram relatados por Weiss et al. (1990), que suplementou vacas leiteiras com níveis crescentes de selenito de sódio e constatou aumentos significativos na concentração de Se no sangue e diminuição da incidência de mastite clínica e CCS.

Cabras leiteiras que receberam selenato de bário via injeção subcutânea apresentaram menor incidência de mastite clínica que o grupo não suplementado com Se (SÁNCHEZ et al., 2007). Esses mesmos autores concluíram que a suplementação de Se é indispensável para prevenção de mastite em caprinos, principalmente em áreas deficientes desse mineral no solo.

Resultados discordantes foram relatados por Costa et al. (1997), que não observaram diferença significativa entre o tratamento com Se (1,8 mg selenito de sódio por animal por dia) e o grupo controle (sem suplementação) na incidência de mastite clínica (diagnosticada por meio da prova de TAMIS), mastite subclínica (diagnosticada pelo teste CMT) e infecções intramamárias. No entanto, esses resultados podem ser explicados pela suplementação diária relativamente baixa de Se, visto que recomendam-se até 5 mg de Se por animal. Segundo Paschoal et al. (2003) a suplementação diária com 5 mg de selenito de sódio, iniciada 30 dias antes do parto, diminui em 38 % a prevalência de mastite clínica nas 12 semanas de lactação.

Estima-se que o descarte de leite no Brasil pela incidência de mastite foi de 3,8 bilhões de litros no ano de 2009. Esse montante, se multiplicado ao preço pago ao produtor durante os meses de outubro de 2008 a outubro de 2009 (CEPEA, 2009), que foi de R\$ 0,66, gerou um prejuízo superior à 2,5 bilhões de reais. Isso demonstra a

importância da redução do processo inflamatório identificada nos animais suplementados com Se orgânico.

4.3.2 Mastite Sub-clínica

O número de quartos mamários de 20 vacas com mastite sub-clínica fracamente positiva, positiva e fortemente positiva (+, ++ e +++, respectivamente) ou sem mastite (negativo) nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico*, aferidos nos dias 24, 25, 26 e 27 de novembro de 2008 (fase pré-experimental), através do *California Mastitis Test* (CMT), podem ser analisados na Figura 9.

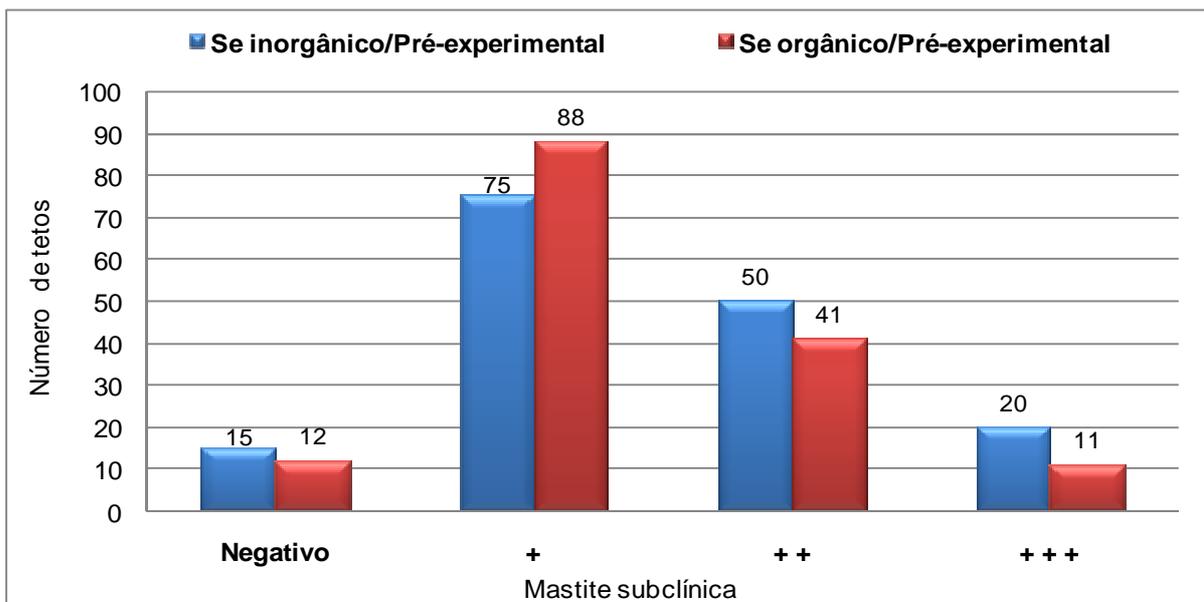


Figura 9. Número de quartos mamários com (+, ++ e +++) ou sem (Negativo) mastite sub-clínica nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico* aferidos na fase pré-experimental através do *California Mastitis Test* (CMT).

Comparando os quartos mamários dos dois grupos de animais na fase pré-experimental o teste de qui-quadrado não foi significativo. Portanto não se rejeita a hipótese de independência entre os dois grupos de animais e os níveis de CMT, demonstrando que os quartos mamários dos dois grupos de animais estavam nas mesmas condições de sanidade.

Como pode ser analisado na Figura 9, 15 quartos mamários dos animais do tratamento *Se inorgânico* e 12 do tratamento *Se orgânico* apresentaram CMT negativo nos quatro dias de aferição da fase pré-experimental. Na mesma época de aferição observou-se que o teste CMT fracamente positivo, representado por +, identificou 75 quartos mamários dos animais do tratamento *Se inorgânico* e 88 do tratamento *Se orgânico*. A mastite sub-clínica positiva (++) apresentou valores pré-experimentais de 50 e 41 quartos mamários infectados para os tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico*, respectivamente. Para a mastite fortemente positiva (representada por +++) os valores foram, respectivamente, 20 e 11 casos para os tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico*.

Na Figura 10 pode-se observar o efeito da suplementação de *Se orgânico* e *inorgânico* na saúde da glândula mamária, representada pela ocorrência de mastite subclínica.

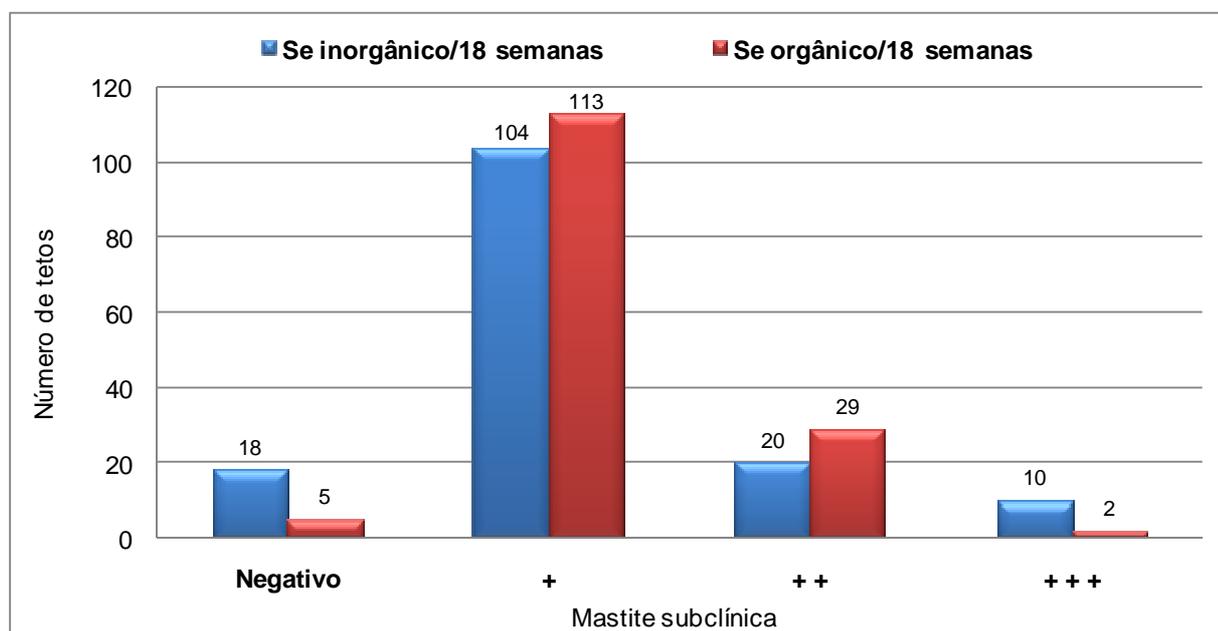


Figura 10. Número de quartos mamários com (+, ++ e +++) ou sem (Negativo) mastite sub-clínica nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico* aferidos na décima oitava semana experimental (18 semanas) através do *California Mastitis Test* (CMT).

O efeito da suplementação de *Se orgânico* e *inorgânico* demonstrou que ambos os tratamentos apresentaram diferenças significativas entre os valores das fases pré-

experimental e experimental dentro de cada grupo. Ou seja, o teste de qui-quadrado foi significativo ($P < 0,05$), rejeitando-se a hipótese de independência da ocorrência de mastite nos níveis negativo, +, ++ e +++.

O grupo *Se inorgânico* teve um acréscimo de 20% nos casos de CMT negativo entre as fases pré e experimental, passando de 15 para 18 quartos mamários livres de mastite subclínica. O tratamento *Se orgânico*, por sua vez, diminuiu de 12 casos negativos na fase pré experimental para 5 após a suplementação (58,3%). O leite obtido de quartos mamários de animais sadios contém de 50 a 200 mil células por mL de leite, podendo variar de acordo com a extensão da infecção e do tipo de microrganismo envolvido no processo inflamatório.

Com relação à mastite subclínica fracamente positiva (+), o grupo *Se inorgânico* apresentou aumento de 38,6% e o *Se orgânico* de 28,4% entre as duas fases pesquisadas. Zanetti et al. (1998) concluíram que a suplementação diária via oral com 5 mg de selenito de sódio por animal, no último mês de gestação, aumentou significativamente o nível sérico do mineral nas vacas leiteiras, reduzindo a incidência de mastite subclínica diagnosticada por intermédio do teste CMT quando comparado aos animais que não receberam suplementação. Além disso, os bezerros filhos de vacas suplementadas apresentaram níveis séricos de Se 66% superiores aos de bezerros filhos de vacas não suplementadas.

Houve diminuição de 50 tetos infectados com mastite subclínica positiva (++) para 20 no tratamento *Se inorgânico*, representando uma diminuição de 60% entre as fases pré-experimental e experimental. Considerando o mesmo nível de mastite e período, o tratamento *Se orgânico* diminuiu de 20 casos para 10, totalizando 50% de diminuição.

Com relação a mastite subclínica +++ observou-se diminuição de 20 para 10 tetos entre as fases pré-experimental e experimental para o tratamento *Se inorgânico*, totalizando 50% de diminuição. O tratamento *Se orgânico*, por sua vez, diminuiu 81,8% os casos de mastite subclínica fortemente positiva (de 11 para 2 tetos infectados).

Em estudo recente, Ibeagha et al. (2009) afirmaram que a suplementação de Se, principalmente na forma orgânica, promove aumento na ação neutrófila e, conseqüentemente, melhora a resposta imune dos animais através da fagocitose

intracelular, sendo essa a explicação da diminuição dos casos de mastite subclínica ++ e +++ (positiva e fortemente positiva, respectivamente).

4.3.3 Microbiologia do Leite

Na Tabela 8 são apresentadas as frequências de isolamentos dos principais gêneros de microrganismos nas amostras de leite colhidas dos quartos mamários nos diferentes tratamentos, durante as fases pré-experimental (dias 24, 25, 26 e 27 de novembro de 2008) e última semana experimental (23, 24, 25 e 26 de março de 2009).

Tabela 8. Resultado microbiológico de 304 amostras de leite coletadas na fase pré-experimental (Pré-exp.) e 306 na última semana experimental (18 semanas) de 20 vacas da raça Holandesa suplementadas com selenito de sódio (*Se inorgânico*) e selênio levedura (*Se orgânico*), durante o período experimental.

Resultado Microbiológico	<i>Se inorgânico</i>		<i>Se orgânico</i>	
	Pré-exp.	18 semanas	Pré-exp.	18 semanas
Negativo	79	72	93	72
Positivo	77	81	55	80
<i>Staphylococcus</i> sp.	43	43	36	41
<i>Streptococcus</i> sp.	23 **	11	13	17
<i>Corynebacterium</i> sp.	8 **	22	5*	17
<i>Staphy</i> sp./ <i>Strepto</i> sp.	1	1	1	3
<i>Staphy</i> sp./ <i>Coryne</i> sp.	0	0	0	2
<i>Strepto</i> sp./ <i>Coryne</i> sp.	0	1	0	0
<i>Strepto</i> sp./Bacilo	1	0	0	0
Levedura	1	0	0	0
Bacilo	0	3	0	0
Total	156	153	148	152

*P<0,13; **P<0,01.

Comparando a incidência de infecção dos quartos mamários dos dois grupos de animais na fase pré-experimental o teste de qui-quadrado não foi significativo. Portanto não se rejeita a hipótese de independência entre os dois grupos de animais, demonstrando que os quartos mamários dos dois tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico* estavam nas mesmas condições de sanidade antes do início do experimento.

O número de quartos mamários com resultado microbiológico negativo (sem presença de agentes infecciosos no leite) diminuiu em ambos os tratamentos entre a fase pré-experimental e décima oitava semana, não havendo diferença estatística entre si. Por consequência, o número de casos positivos subiu de 77 para 81 e 55 para 80 quartos mamários nos tratamentos *Se inorgânico* e *Se orgânico*, respectivamente. De acordo com Salman et al. (2009), o aumento nos casos de infecções microbiológicas deve-se ao fato da suplementação diária de Se abaixo do necessário, sendo recomendado pelos autores 10 mg por animal (0,6 mg de Se por kg de MS), que é o dobro do suplementado nesta pesquisa.

Os principais gêneros encontrados nas 609 amostras de leite dos dois tratamentos foram: *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Corynebacterium* sp. Estes gêneros são de grande importância para a bovinocultura leiteira já que apenas os gêneros *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. acumulam juntos um prejuízo de cerca de US\$ 2 bilhões por ano nos EUA (BECKER et al., 2009).

Os quartos mamários que apresentaram infecções simultâneas pelos gêneros *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp.; *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp.; *Streptococcus* sp. e *Corynebacterium* sp. e *Streptococcus* sp. e bacilos foram baixas (menor que 1% em média) tanto na fase pré-experimental como na décima oitava semana de pesquisa. Esse fato evidencia que na maioria das vezes os tetos são infectados por apenas um gênero de microrganismo. A quantidade de isolamentos de leveduras (0,3%) e bacilos (1,0%) foi baixo para o tratamentos *Se inorgânico* e não existiu no tratamento *Se orgânico*.

Na Figura 11 estão ilustrados os resultados relativos aos isolamentos dos três gêneros infecciosos mais encontrados nas amostras de leite na semana pré-experimental e última semana da fase experimental.

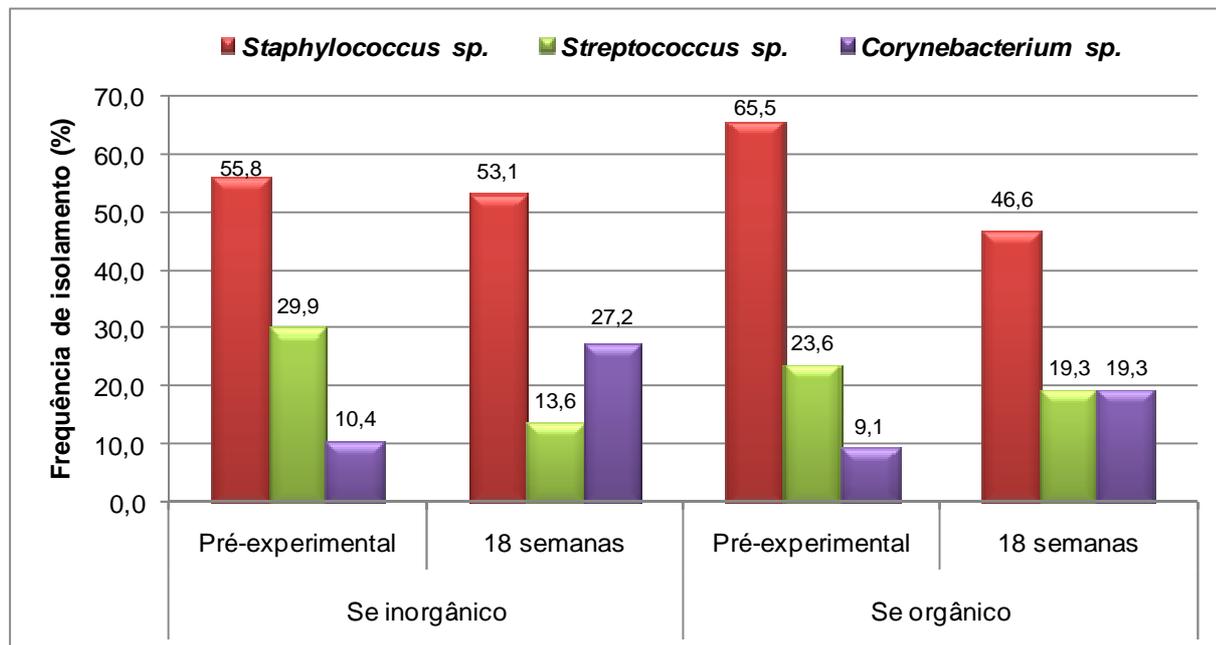


Figura 11. Frequência (%) de *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* e *Corynebacterium sp.* isolados de 304 amostras de leite coletadas na fase pré-experimental e 306 na última semana experimental (18 semanas) de 20 vacas suplementadas com selenito de sódio (*Se inorgânico*) e selênio levedura (*Se orgânico*) durante o período experimental.

Não houve diferenças significativas no isolamento do gênero *Staphylococcus sp.* entre e dentro de tratamentos nas fases pré-experimental e experimental. No entanto, notou-se uma diminuição de 4,8% na ocorrência desse gênero para o tratamento *Se inorgânico* e 28,8% para o tratamento *Se orgânico*. Esse resultado vai ao encontro ao relatado por Malbe et al. (2005) na Finlândia, os quais constataram que 50% das vacas suplementadas com 4 mg por dia de *Se orgânico* (*Saccharomyces cerevisiae* CNCM I-3060) apresentaram inibição no crescimento de *Staphylococcus aureus*, concluindo que a presença de quantidades adequadas de *Se orgânico* na dieta de vacas leiteiras é indispensável para que haja atividade antimicrobiana no leite.

O tratamento *Se orgânico* não alterou a ocorrência de *Streptococcus sp.* entre as duas fases analisadas. Por outro lado, o tratamento *Se inorgânico* diminuiu a incidência desse gênero de 29,9% para 13,6% entre as fases pré-experimental e última semana de pesquisa, sendo este valor significativo estatisticamente ($P < 0,01$).

O gênero *Corynebacterium sp.* apresentou elevação de 73,5% nos isolamentos da décima oitava semana quando comparado à fase pré-experimental no tratamento *Se inorgânico*, sendo essa diferença significativa ($P < 0,01$). O tratamento *Se orgânico*

também apresentou crescimento ($P < 0,12$) nos isolamentos de desse gênero nas duas fases estudadas, passando de 9,1% para 19,3%.

Segundo Chaneton et al. (2008), determinadas enzimas têm ação bactericida específica sobre diferentes agentes etiológicos causadores da mastite. Isso pode explicar a diminuição nos isolamentos de *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp. e o aumento dos casos de *Corynebacterium* sp. entre as fases pré-experimental e experimental.

4.4 Variáveis Fisiológicas

A variável FR não apresentou homogeneidade da variância pelo teste de Levene a 5% de probabilidade. As demais variáveis fisiológicas (TR e TP) apresentaram homogeneidade da variância. Nenhuma das variáveis fisiológicas apresentou normalidade na distribuição pelo teste de Anderson-Darling ($P < 0,05$).

Em função da falta de normalidade em todas as variáveis, optou-se por aplicar o teste não paramétrico de Wilcoxon para dados pareados para comparar os efeitos dos tratamentos sobre as variáveis fisiológicas. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Número de observações (N), média, desvio padrão (DP), mediana, diferenças das medianas (DM), número de observações utilizadas para aplicação do teste de Wilcoxon (N Teste), estatística de Wilcoxon (EW), probabilidade (P) e mediana estimada das diferenças (MED) das variáveis frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR) e temperatura de pelame (TP) de animais recebendo selenito de sódio (*Se inorgânico*) e selênio levedura (*Se orgânico*).

Variável	Tratamento	N	Média	DP	Mediana	Teste de Wilcoxon Pareado				
						DM	N Teste	EW	P	MED
FR (mov/min)	<i>Se inorgânico</i>	153	58,04	17,26	57,00 a	-3,00 *	135	3580,0	0,03	-1,500
	<i>Se orgânico</i>	153	59,90	14,77	60,00 b					
TR (°C)	<i>Se inorgânico</i>	153	38,98	0,59	39,00 a	-0,05 ns	140	4559,0	0,435	-0,050
	<i>Se orgânico</i>	152	39,08	0,55	39,05 a					
TP (°C)	<i>Se inorgânico</i>	153	35,88	1,33	36,22 b	0,14 *	152	7272,0	0,01	0,230
	<i>Se orgânico</i>	153	35,65	1,48	36,08 a					

O sinal * indica significância para diferença das medianas (DM) pelo Teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade e ns é não significativo.

O Teste de Wilcoxon para dados pareados mostrou que houve redução ($P < 0,01$) na temperatura de pelame dos animais do tratamento *Se orgânico* quando comparado aos do tratamento *Se inorgânico*. A Figura 12 demonstra a variação da TP aferida às 14 h, uma vez por semana, durante os meses de dezembro de 2008 e março de 2009. Os valores de ITU correspondem aos mesmos horários de aferição da TP. Durante as 17 semanas analisadas pode-se verificar dias com elevado (81) e baixo (73) ITU.

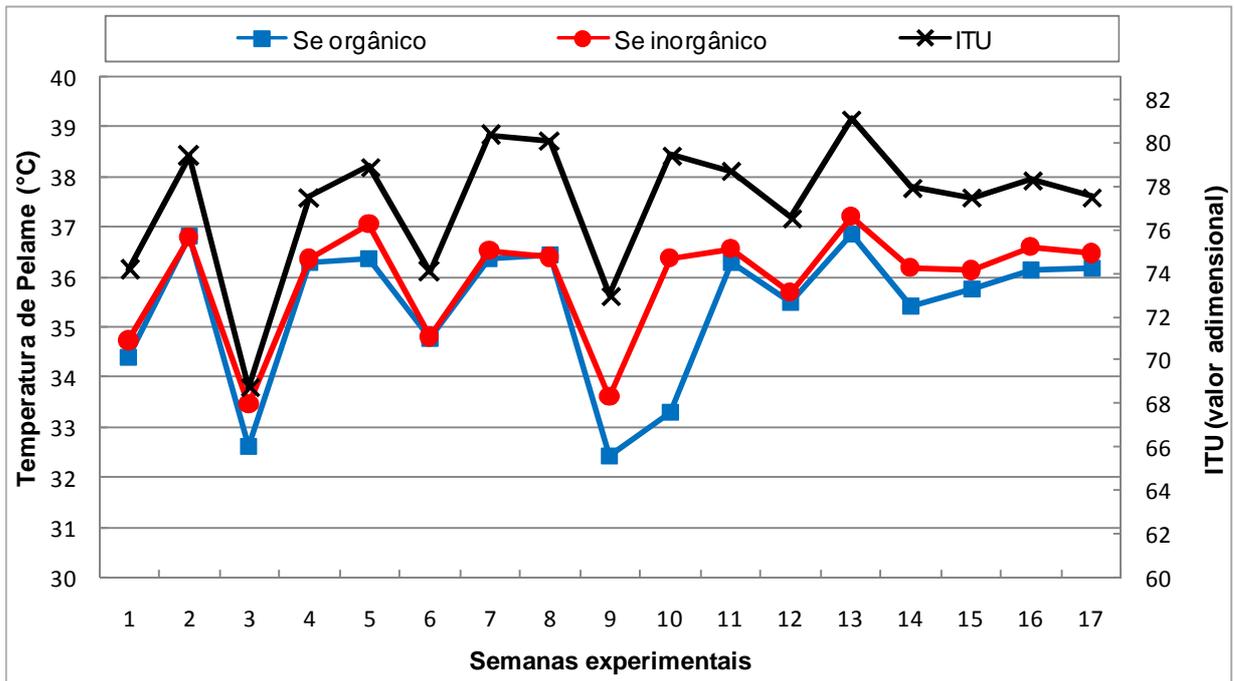


Figura 12. Temperatura de pelame e índice de temperatura e umidade (ITU) médio aferidos às 14 h nas diferentes semanas experimentais.

A FR de ambos os tratamentos encontrou-se acima dos níveis considerados normais para vacas adultas, que situa-se em torno de 24 mov/min em conforto térmico (18 °C) segundo Randall et al. (1997), o que sugere a necessidade de utilização da termólise respiratória visando manter a homeotermia. Observou-se que a FR dos animais do tratamento *Se inorgânico* (57 mov/min) foi estatisticamente menor que a dos animais do tratamento *Se orgânico* (60 mov/min).

A TR, por sua vez, foi estatisticamente igual entre os tratamentos *Se inorgânico* (39,00 °C) e *Se orgânico* (39,05 °C). De acordo com Baccari Jr. (1990), a temperatura corporal dos bovinos varia conforme a idade, raça e o estado fisiológico, sendo os valores considerados normais para vacas lactantes os que situam-se entre 38,8 e 39,5 °C. Nesse sentido, pode-se afirmar que em ambos os tratamentos a TR manteve-se dentro dos níveis ótimos, o que significa que as perdas de calor latente e sensível foram suficientes para manter a homeotermia.

5. CONCLUSÕES

Não houve diferenças entre tratamentos para a produção de leite, percentual de proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e teor de Se no leite. Porém, o tratamento *Se orgânico* proporcionou aumentos significativos no percentual de gordura do leite, diminuição da contagem de células somáticas, incidência de mastite clínica e subclínica (++ e +++) e redução de isolamentos de *Staphylococcus* sp. em 28,8% entre as fases pré-experimental e experimental. Esses resultados demonstram a importância da utilização de fontes orgânicas de Se na dieta de vacas lactantes na redução de processos inflamatórios da glândula mamária e, conseqüentemente, na produção de leite com maior teor de gordura e menor CCS.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, B. E. Regulação da temperatura e fisiologia animal. In: DUKES, H. H. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. cap.45, p.623-630, 1988.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of Analysis**. 15.ed. Washington, D.C.: 1990. 1141p.

ARCARO, J. R. P. **Efeitos do sistema de resfriamento adiabático evaporativo em free-stall sobre a produção, a fisiologia comportamento e ocorrência de mastite em vacas em lactação**. 2005. 123f. Tese doutorado (Nutrição Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. **J. of Dairy Sci.** Champaign, v.77. p.2044-2050, 1994.

AZEVEDO, M. et al. Estimativas de níveis críticos superiores do índice de temperatura e umidade para vacas leiteiras ½ sangue, 3/4, e 7/8 holandês-zebu, em lactação. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, MG, v.34, n.6, p.2000-2008, 2005.

BACCARI JR., F. A temperatura corporal dos bovinos. **Revista do Gado Holandês**, n.152, p.15-19, 1990.

BACCARI JR., F. **Manejo ambiental da vaca leiteira em climas quentes**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2001. p.142.

BECKER S. C. et al. Antimicrobials for mastitis causing pathogens that are refractory to resistance development. **BARC Poster Day**. 2009. Acessado em: http://www.ars.usda.gov/research/publications/Publications.htm?seq_no_115=238305. 14/11/2009.

BENJAMIN, M. M. **Fluid and eletroctrolytes**. Outline of veterinary clinical pathology. Ames: Iowa State University, 1981.

BENTLEY INSTRUMENTS. **ChemSpeck 150: user's guide**. Chaska: 1998.

BRITO, C. **Importância do selênio sobre produção animal e saúde humana**. 2007. Acessado em http://www.polinutri.com.br/conteudo_artigos_anteriores_maio_07.htm. 11/01/2010.

BROWN-BRANDL, T. M. et al. Thermoregulatory responses of feeder cattle. **J. Thermal Biology**, New Delhi, v.28, p. 149-157, 2003.

BURK, R.F. Selenoprotein metabolism and function: evidence of more than one function for selenoprotein p. **J. of Nutri.**, v.133, p.1517-1520, 2003.

CATANIA, A. S.; BARROS, C. R.; FERREIRA, S. R. G. Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.53, n.5, 2009.

CEBALLOS, A. et al. Meta-analysis of the effect of oral selenium supplementation on milk selenium concentration in cattle. **J. Dairy Sci.** v.92, p.324–342, 2009.

CEPEA. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **Preços pagos ao produtor de leite**. Acessado em: http://www.cepea.esalq.usp.br/leite/page.php?id_page=155. 14/11/2009.

CERRI, R.L.A. et al. Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v.71, p.1127-1137, 2008.

CHANETON, L. et al. Relationship between milk lactoferrin and etiological agent in the mastitis bovine mammary gland. **J. of Dairy Sci.**, Champaign, v.91, p.1865-1873, 2008.

COMBS Jr., G.F.; COMBS, S.B. The role of selenium in nutrition. London : Academic Press. p.180, 1986.

COMBS Jr., G.F. *British J. of Nutri.* 85: 517-547, 2001.

CONAGIN, A.; NAGAI, V.; AMBRÓSIO, L. A. **Princípios de Técnica Experimental e Análise Estatística de Experimentos**. Campinas: FUNDAG/APTA, 2009. p.1084 (Cd-rom).

COSTA. E. O. et al. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Rev. Bras. de Med. Vet.**, Rio de Janeiro, v.17, n.4, p.156-158, 1995.

COSTA, E. O. Patógenos de mastite bovina isolado de glândulas mamárias negativas ao teste de TAMIS e CMT. **Rev. do Núcleo de Apoio a Pesquisa em Glândula Mamária e Produção de Leiteira**, São Paulo, v.4, n.2. p.12-16, 2001.

COSTA, E. O.; LUCCI, C. S.; ABE, S. Y. et al. Influência da suplementação de selênio na incidência de mastite. **Rev. Bras. de Med. Vet.**, v.19, p.169-172, 1997.

COZZOLINO, S. M. F. Mineral Deficiencies. **Estudos Avançados**, São Paulo, v.21, n.60. 2007.

CRISTALDI, L.A. et al. Tolerance of inorganic selenium in wether sheep. **Small Rum. Res.**, v.56, p.205-213, 2005.

CUNNINGHAN, J.G. **Tratado de fisiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 528p.

DUNCAN, S. E. et al. Rancid flavor at milk: relationship of acid degree value, free fatty acids and sensory perception. **J. of Food Protect.**, v.56, p.394-397, 1991.

ELVINGER, F.; NATZKE, R. P.; HANSEN, P. J. Interactions of heat stress and bovine somatotropin affecting physiology and immunology of lactating cows. **J. of Dairy Sci.**, v.75, p. 449–462, 1992.

FAGLIARI, J. J. Mastite bovina: comparação entre os resultados obtidos pelo teste CMT e exame bacteriológico. **Arq. Bras. de Med. Vet. e Zoot.**, Belo Horizonte. v.35, p.310-315, 1983.

FERREIRA, F. et al. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arq. Bras. de Med. Vet. e Zoot.**, Belo Horizonte, v.58, n.5, p.732-738, 2006.

FISHER, L.J. et al. The effect of added dietary selenium on the selenium content of milk, urine and feces. **Canadian. J. of Anim. Sci.**, v.60, p.79-86, 1980.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Ed., 2000.

FRANCESCONI, K.A.; PANNIER, F. Selenium metabolites in urine: a critical overview of past work and current status. **Clini. Chem.**, v.50, p.2240-2253, 2004.

FUQUAY, J. W. Heat stress and affects animal production. **Liv. Environ.**, v.2, p.1133-1137, 1997.

GIERUS, M. et al. Selenium supplementation and selenium status of dairy cows fed diets based on grass, grass silage or maize silage. **J. of Anim. Physio. and Anim. Nutr.**, v.86, p.74-82, 2002.

GIERUS, M. Fontes orgânicas e inorgânicas de Selênio na nutrição de vacas leiteiras: digestão, absorção, metabolismo e exigências. **Cienc. Rural**. Santa Maria, v.37, n.4, 2007.

GIRAUDO, J. A. Conseptos basicos sobre imunologia de la glandula mamaria y utilización de vacunas contra mastitis. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITE BOVINA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2., 1996, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto de Zootecnia, p.73-86. 1996.

GOERING e VAN SOEST. Forage fiber analysis. **Agriculture Handbook**, p.379, 1970.

GOFF, J.P. **Dukes, Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.556-576.

HAHN, G. L.; MADER, T. L. Heat waves in relation on thermoregulation, feeding behavior, and mortality of feedlot cattle. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 5., 1997, Minnesota. **Proceedings...** St. Joseph: ASAE, 1997. p.125-129.

HEARD, J. W. et al. Increasing selenium concentration in milk: effects of amount of selenium from yeast and cereal grain supplements. **J. Dairy Sci.**, v.90, p.4117-4127, 2007.

HEBRAHIMI, M.; TOWHIDI, A.; NIKKAHAH, A. Effect of organic selenium (Sel-Plex) on thermometabolism, blood chemical composition and weight gain in Holstein suckling calves. **Asian/Aust. J. Anim. Sci.**, v.22, n.7, p.984-922, 2009.

HEMKEN, R.W.; HARMON.; R.J.; TRAMMELL, S. **Selenium for Dairy Cattle: a Role for Organic Selenium**. 2007. Acessado em: http://www.engormix.com/e_articles_view.asp?art=746. 14/12/2009.

HUBER, J. T. Alimentação de vacas de alta produção sob condições de estresse térmico. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA LEITEIRA, 1990, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1990. p.33-48.

HUTCHINSON, J. C. D.; BROWN, G. D. Penetrance of cattle coats by radiation. **J. of Appl. Physiol.**, v.26, p.454-464, 1969.

IBEAGHA, A. E. et al. The effect of selenium sources and supplementation on neutrophil functions in dairy cows. **Animal**. v.7, p.1037-1043, 2009.

JENKINS, T. C. Lipid metabolism in the rumen. **J. of Dairy Sci.**, v.76, p.3851, 1993.

JOHNSON, H. D.; LI, R.; MANALU, W.; SPENCER-JOHNSON, K. J. Effects of somatotropin on milk yield and physiological responses during summer farm and hot laboratory conditions. **J. of Dairy Sci.**, v.74, p.1250–1262, 1991.

JUKOLA, E. et al. Effect of selenium fertilization on selenium in feedstuffs and selenium, vitamin e, and carotene concentrations in blood of cattle. **J. of Dairy Sci.**, v.79. p.831-837, 1996.

JUNIPER, D. T. et al. Selenium supplementation of lactating dairy cows: effect on selenium concentration in blood, milk, urine, and feces. **J. of Dairy Sci.**, v.89, p.3544–3551, 2006.

JUNIPER, D. T. et al. Tolerance of ruminant animals to high dose in-feed administration of a selenium-enriched yeast. **J. of Dairy Sci.**, v.86, p.197-204, 2008.

KOLB, E. **Fisiologia veterinária**. 4: ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987.

KOVARIK, M. Flow of heat in an irradiated protective cover. **Nature**, v201, p.1087, 1973.

LACETERA, N. et al. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrums and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. **Am. J. of Vet. Res.**, v.57, p.1776-1780, 1996.

LOVEM, D. P. A role for reduced oxygen species in heat induced cell killing and the induction of thermotolerance. **Med. Hypotheses**, v. 26, p. 39–50, 1988.

MAIA, A. S. C.; SILVA, R.G. Latent heat loss of Holstein cows in a tropical environment: a prediction model. **Rev. Bras. de Zoot.**, v.37, p.1837-1843, 2008.

MAIA, A. S. C.; SILVA, R.G.; LOUREIRO, C.M.B. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. **Int. J. of Biomet.**, v.50, p.17-22, 2005.

MALBE, M.; ATTILA, M; ATROSHI, F. Possible involvement of selenium in *Staphylococcus aureus* inhibition in cow's whey. **J. of Anim. Physiol. and Anim. Nutr.**, v. 90, p.159-164, 2005.

McDOWEL, R.E.; JOHNSTON, J.E. Research under field conditions. In ; National Academy of Sciences (Ed). **A guide to environmental research on animals**. Washington: 1971. p.306-359.

McDOWELL, R.E.; LEE, D.H.K.; FOHRMAN, M.H. The measurement of water evaporation from limited areas of a normal body surface. **J. of Anim. Sci.**, Albany, v.13, p.405-416, 1954.

McDOWEL, R.E. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. San Diego: Academic Press., 1996. p.294-330.

MEYER, H. et al. Untersuchungen zur Selenversorgung von Pferden in Norddeutschland. **Pferdeheilkunde**, v.11, p.313-321, 1995.

MITCHELL, J. B.; RUSSO, A. Thiols, thiol depletion, and thermosensitivity. **Radiat. Res.**, v. 95, p.471–485, 1983.

MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. 6 ed. New York: John Wiley e Sons, 2004. Cap. 3., 643p.

MORAIS, D. A. E. F. et al. Variação anual de hormônios tireoideanos e características termorreguladoras de vacas leiteiras em ambiente quente. **R. Bras. Zoot.** v.37, n.3, p.538-545, 2008.

MOTA, L. S. **Adaptação e interação genótipo-ambiente em vacas leiteiras**. 1997. 128 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1997.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In. SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL. Santa Maria. **Anais...** 2002. p.206-217.

MURRAY, P.R. et al. **Manual of clinical microbiology**. 7 ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999. 379p.

NÄÄS, I.A. **Princípios de conforto térmico na produção animal**. São Paulo: Ícone, 1989.

NRC, National Research Council. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C., 2001. 381p.

OLSON, O. E.; PALMER, L. S.; CARY, E. L. Modification of the official fluorimetric method for selenium in plants. **Journal AOAC**, v.58, p.117-121, 1975.

ORTMAN, K; PEHARSON, B. Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast. **J. of Anim. Sci.** v.77, p.3365-3370. 1999.

PARK, C.S.; LINDBERG, G.L. **Dukes, Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.670-690.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A.; CUNHA, J. A. Suplementação de Selênio e vitamina E sobre a contagem de células somáticas no leite de vacas da raça Holandesa. **R. Bras. Zoot.** v.32, p.2032-2039, 2003.

PASCHOAL, J. J. et al. Perfil de ácidos graxos e estabilidade oxidativa do leite de vacas holandesas alimentadas com soja extrusada e Selênio orgânico. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília. v.42, p.1793-1799, 2007.

PEHRSON, B. Selenium in nutrition with special reference to the biopotency of organic and inorganic selenium compounds. In: LYONS, T.P. (Ed.) **Biotechnology in the Feed Industry: Proceedings of the Ninth Alltech Symposium**. Nottingham: Nottingham University Press. 1993. p.71–89.

PERISSINOTO, M. **Avaliação da eficiência produtiva e energética de sistema de climatização em galpões tipo *free stall* para confinamento de gado leiteiro**. 2003. 122 f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2003.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis: counters attack**. Babson Bros, Napersville, 1991.

PINHEIRO, M. G. et al. Efeito do ambiente pré-ordenha (sala de espera) sobre a temperatura da pele, a temperatura retal e a produção de leite de bovinos da raça Jersey. **Rev. Port. de Zoot.**, Vila Real, v.12, n.2, p.37-43, 2005.

PRESTES, D. S.; FILAPPI, A.; CECIM, M. Susceptibilidade à mastite: fatores que a influenciam – uma revisão. **Rev. da Fac. de Med. Vet. e Agron. Uruguaiana**, v.9, p.48-59. 2002.

RADOSTITIS, O.M.; LESLIE, K.E.; FETROW, J. **Herd health : food animal production medicine**. 2 ed. Philadelphia: Saunders, 1994.

RANDALL, D.; BURGREN, W.; FRENCH, K. **Animal physiology: mechanisms and adaptations**. 4.ed. New York: H. W. Freeman and Company, 1997. 727p.

ROSENBERG, G. **Exame clínico de bovinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. p.329-341.

ROUSSEL, J.D. Effect of thermal stress on the incidence of abnormal milk. **J. of Anim. Sci.**, Champaign, v.52, p.912, 1969.

SALMAN, S. et al. The role of dietary selenium in bovine mammary gland health and immune function. **Anim. Health Res. Rev.**, v.10, p.21–34, 2009.

SÁNCHEZ, J. et al. Prevention of Clinical Mastitis with Barium Selenate in Dairy Goats from a Selenium-Deficient Area. **J. of Dairy Sci.**, v.90, p.2350–2354, 2007.

SARMENTO, F. R. O. **Revisões Sistemáticas em Terapia Intensiva – Suplementação de Selênio**. 2009. Acessado em <http://www.saj.med.br/uploaded/File/artigos/Revisoes.pdf>. 13/06/2009.

SCHALM, O.W.; NOORKLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **J. of American Vet. Med. Assoc.**, v.130, n.5, p.199-204, 1957.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Liv. Prod. Sci.**, v.67, p.1-18, 2000.

SILVA, F. V. et al. Study of the protein-bound fraction of calcium, iron, magnesium and zinc in bovine milk. **Spectrochim. Acta Part B**, 2001.

SILVA, R. G. **Introdução à Bioclimatologia Animal**. São Paulo: NOBEL, 2000. 286p.

SILVA, R. B. et al., Variação circadiana da temperatura retal e da superfície do pelame e da frequência respiratória em vacas holandesas manejadas em ambiente tropical numa região semi-árida. In. REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 45., Lavras, 2008. **Anais...** Lavras: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008.

SILVESTRE, F. T. et al. Effect of Selenium Source on Production, Reproduction, and Immunity of Lactating Dairy Cows. Florida Ruminant Nutrition Symposium. **Anais...** Gainesville/USA. 2007.

SORDILLO, L. M.; AITKEN, S, L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. **Vet. Immun. and Immunop.** v.128, p.104–109, 2009.

STEVENS, J.B. Serum selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in cattle grazing forages of various selenium concentrations. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, p.1556-1561, 1985.

STOBER, M. Identificação, anamneses, regras básicas da técnica do exame clínico peral. In: ROSENBERG, (Ed). **Exame clínico de bovinos**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

SUZUKI, K.T. Metabolomics of selenium: Se metabolites based on speciation studies. **J. of Health Sci.**, v.51, p.107-114, 2005.

THATCHER, W. W. Selenium source may aid heat-stressed dairy cows. **Feedstuffs**. v.78, n.42, 2006.

TURNER, L. W. et al. Reducing heat stress in dairy cows through sprinkler and fan cooling. **Appli. Eng. in Agric.**, Kansas, v.8, p.375-379. 1992.

USDA. United States Department of Agriculture. Dairy: World Markets and Trad. July 2009. Acessado em <http://www.usda.gov/wps/portal/!ut/p/ s.7 0 A/7 0 1OB?contentidonly=true&contentid=2008/10/0280.xml>. 02/11/2009.

WANG, C. et al. Effects of selenium yeast on rumen fermentation, lactation performance and feed digestibilities in lactating dairy cows. **Liv. Sci**, v.126, p.239–244, 2009.

WEISS, W.P.; HOGAN, J.S. Effect of selenium source on selenium status, neutrophil function, and response to intramammary endotoxin challenge of dairy cows. **J. of Dairy Sci.**, v.88, p.4366–4374, 2005.

WEISS, W. P. et al. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows. **J of Dairy Sci.**, v.73, p.3187–3194, 1990.

WEISS, W.P.; HOGAN, J.S.; TODHUNTER, D.A. Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of Selenium on mammary gland health of dairy cows. **J. Dairy Sci.** v.80, p.1728-1737, 1997.

WEST, J.; MULLINIX, B. J.; BERNARD, J. K. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. **J. of Dairy Sci.** v.86. 2003.

WOLFENSON, D. et al. Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. **Biol. Reprod.**, v.52, p.1106–1113, 1995.

ZANETTI, M.A. et al. Efeito da suplementação de Selênio e Vitamina E em bovinos leiteiros. **Rev. Bras. de Zoot.**, v.27, p.405-408, 1998.

ANEXO

Nas Tabelas 10, 11, 12 e 13 são apresentados os resultados dos testes de homogeneidade e normalidade das variáveis Produção de Leite, Componentes do Leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado e contagem de células somáticas), Selênio no Leite e Variáveis Fisiológicas (frequência respiratória, temperatura retal e temperatura de pelame).

O valor da probabilidade P sendo maior que 5%, não se rejeita a hipótese nula da existência de homogeneidade e normalidade.

Tabela 10. Teste de normalidade e homogeneidade da variável produção de leite registrada (PL registrada) e corrigida para 4% de gordura (PL 4% de gordura).

<i>Variável</i>	Teste de Levene para Homogeneidade das Variâncias		Teste de Anderson-Darling para Normalidade	
	<i>Estatística de Levene (W)</i>	<i>Valor de P</i>	<i>Estatística AD</i>	<i>Valor de P</i>
PL registrada	0	0,992	0,271	0,63
PL 4% gordura	0,003	0,956	0,302	0,539

Tabela 11. Teste de normalidade e homogeneidade das variáveis gordura, proteína, lactose, sólidos totais, extrato seco desengordurado (ESD) e contagem de células somáticas (CCS).

<i>Variável</i>	Teste de Levene para Homogeneidade das Variâncias		Teste de Anderson-Darling para Normalidade	
	<i>Estatística de Levene</i>	<i>Valor de P</i>	<i>Estatística AD</i>	<i>Valor de P</i>
Gordura	1,71	0,192	3,246	0
Proteína	28,624	0	2,012	0
Lactose	6,148	0,014	5,779	0
Sólidos Totais	7,84	0,005	1,246	0
ESD	0,725	0,395	1,102	0,007
CCS (log₂)	27,537	0	3,754	0

Tabela 12. Teste de homogeneidade das variâncias e normalidade da variável Selênio no leite (Se leite).

<i>Variável</i>	Teste de Levene para Homogeneidade das Variâncias		Teste de Anderson-Darling para Normalidade	
	<i>Estatística de Levene</i>	<i>Valor de P</i>	<i>Estatística AD</i>	<i>Valor de P</i>
Se leite	0,005	0,944	1,523	0,001

Tabela 13. Teste de homogeneidade das variâncias e normalidade das variáveis fisiológicas frequência respiratória (FR), temperatura de pelame (TP) e temperatura retal (TR).

<i>Variável</i>	Teste de Levene para Homogeneidade das Variâncias		Teste de Anderson-Darling para Normalidade	
	<i>Estatística de Levene</i>	<i>Valor de P</i>	<i>Estatística AD</i>	<i>Valor de P</i>
FR	3,903	0,049	1,431	0
TR	0,659	0,417	9,743	0
TP	0,001	0,972	1,418	0,001

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)