

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**EVALUACIÓN DE MEDIDAS DE MITIGACIÓN DEL ESTRÉS
CALÓRICO SOBRE LAS RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y
PRODUCTIVAS DE VACAS LECHERAS**

por

Lorena Carolina ROMÁN GAY

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Magíster en Ciencias
Agrarias opción Ciencias
Animales

MONTEVIDEO
URUGUAY
Octubre 2014

Tesis aprobada por el tribunal integrado por PhD. Ing. Agr. Virginia Beretta, Phd. Ing. Agr. Ignacio Aguilar y PhD. Ing. Agr. Rodrigo Arias, el 18 de octubre de 2014. Autora: Ing. Agr. Lorena Román, Director PhD. Ing. Agr. Alejandro La Manna, Co-directora MSc. Ing. Agr. Celmira Saravia.

*Dedico esta tesis a mis padres Ricardo y Doris, a mi hermano Marcelo y a Juan
Manuel por su amor y apoyo incondicional.*

AGRADECIMIENTO

A mi familia y amigos por su constante e incondicional apoyo en cada uno de los momentos de mi vida.

A mi tutor, Alejandro La Manna y mi cotutora Celmira Saravia por su guía. A Oscar Bentancur por su colaboración en la realización del análisis estadístico de la tesis y a Laura Astigarraga por constante colaboración.

A todos los integrantes del tribunal de defensa de la tesis, los Ing. Agr. Ignacio Aguilar, Virginia Beretta y Rodrigo Arias por sus valiosos comentarios y sugerencias. A los miembros del tribunal de los seminarios, los Ing. Agr. Gabriela Cruz, Danilo Bartaburu y Mariana Carriquiry.

Al Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria y la Estación Experimental “Dr. Alberto Boerger”, por la posibilidad de realizar el trabajo de campo de esta tesis. A Yamandú Acosta, Alejandro Mendoza, Tatiana Morales, Georget Bancharo, Inés Delucchi, por su buena disposición y a todos los funcionarios del tambo, Víctor Medina, Carlos Medero, José Peña, Marcelo Carrasco, Daniel Bernardi, Denis Rabaza, Esteban López, Tomás López, María López y especialmente a Marcelo Pla, por su ayuda en distintas etapas del trabajo de campo.

A todos los tesisistas por su invaluable ayuda durante el trabajo de campo de esta tesis en la Unidad de Lechería, especialmente a María José Capó, Valentina Senosiaín, Simón de la Quintana, Lucas Collazo, Juan Abraham, Magdalena Masello, Mariana Mateu y Carolina Sum.

A los funcionarios de la biblioteca, especialmente a Graciela Vila y Alejandra Díaz, y del laboratorio de Calidad de Leche, Nutrición Animal, Biotecnología y de Suelos y Aguas de INIA La Estanzuela por su colaboración. A la Asociación Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por la beca de maestría otorgada (POS_2011_1_3586).

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	IV
RESUMEN.....	VIII
SUMMARY.....	IX
1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. HOMEOTERMIA Y ESTRÉS TÉRMICO	1
1.1.1. <u>Zona termoneutral y sus límites</u>	2
1.1.2. <u>Balance calórico</u>	3
1.2. CARACTERIZACIÓN DEL AMBIENTE TÉRMICO	5
1.3. RESPUESTAS AL ESTRÉS CALÓRICO	9
1.3.1. <u>Tasa cardíaca, flujo sanguíneo y vasodilatación periférica</u> ...	9
1.3.2. <u>Sudoración</u>	9
1.3.3. <u>Frecuencia respiratoria y temperatura rectal</u>	9
1.3.4. <u>Consumo voluntario, digestión-absorción de nutrientes</u>	10
1.3.5. <u>Metabolismo post-absorbativo de los nutrientes (partición de nutrientes)</u>	11
1.3.6. <u>Actividad endócrina</u>	13
1.3.7. <u>Metabolismo del agua</u>	14
1.3.8. <u>Comportamiento</u>	14
1.3.9. <u>Producción y composición de la leche</u>	15
1.4. MEDIDAS DE MITIGACIÓN	16
1.4.1. <u>Modificaciones del ambiente físico</u>	17
1.4.1.1. <u>Uso de sombras</u>	17
1.4.1.2. <u>Ventilación forzada</u>	18
1.4.1.3. <u>Humedecimiento de los animales</u>	19
1.4.2. <u>Desarrollo de biotipos tolerables y manejos nutricionales</u>	20
1.5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	22
2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	24

2.1. CARACTERIZACIÓN DEL RÉGIMEN AGROCLIMÁTICO DE OLAS DE CALOR DE LA ESTANZUELA	24
2.2. EFECTO DE DIFERENTES MEDIDAS DE MITIGACIÓN DEL ESTRÉS POR CALOR EN VACAS LECHERAS	25
2.2.1. <u>Localización y período experimental</u>	25
2.2.2. <u>Animales y tratamientos</u>	25
2.2.3. <u>Manejo de los animales</u>	26
2.2.4. <u>Caracterización del ambiente térmico</u>	28
2.2.4.1. Esferas de Vernon	28
2.2.4.2. Sala de espera	29
2.2.5. <u>Determinaciones en los animales</u>	29
2.2.5.1. Productivas	29
2.2.5.2. Peso vivo y condición corporal	29
2.2.5.3. Fisiológicas	30
2.2.5.4. Consumo	30
2.2.5.5. Balance energético	31
2.2.5.6. Comportamiento	31
2.2.5.7. Metabólicas	32
2.2.5.8. Determinaciones en los alimentos	32
2.2.5.9. Diseño experimental y análisis estadístico	33
3. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	36
3.1. CARACTERIZACIÓN DEL RÉGIMEN AGROCLIMÁTICO DE OLAS DE CALOR DE LA ESTANZUELA	36
3.2. EFECTO DE DIFERENTES MEDIDAS DE MITIGACIÓN DEL ESTRÉS POR CALOR EN VACAS LECHERAS	38
3.2.1. <u>Caracterización del ambiente térmico</u>	38
3.2.1.1. Esferas de Vernon y Black Globe Humidity Index	41
3.2.1.2. Sala de espera	44
3.2.2 <u>Determinaciones en los animales</u>	45

3.2.2.1 Productivas	45
3.2.2.2. Peso vivo y condición corporal	52
3.2.2.3. Fisiológicas	53
3.2.2.4. Consumo	57
3.2.2.5. Balance energético	60
3.2.2.6. Comportamiento	61
3.2.2.7. Metabólicas	64
4. <u>CONCLUSIONES</u>	67
5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	68
6. <u>ANEXOS</u>	83
6.1. ANEXO 1: CRONOGRAMA DE MEDICIONES	83
6.2. ANEXO 2: CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DIARIA...	86
6.3. ANEXO 3: ESFERAS DE VERNON	88
6.4. ANEXO 4: BLACK GLOBE HUMIDITY	92
INDEX	
6.5. ANEXO 5: CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DE LAS SESIONES DE ASPERSIÓN Y VENTILACIÓN	95

RESUMEN

Con el objetivo caracterizar el régimen agroclimático de olas de calor en la localidad de La Estanzuela (Colonia, Uruguay) fueron analizados los registros meteorológicos de 47 veranos (1965-2012). En promedio ocurrieron $4 \pm 1,7$ (media \pm DE) olas de calor por verano con una duración de $4,9 \pm 2,5$ d. Un segundo trabajo fue realizado con el objetivo de cuantificar el efecto del ambiente físico estival y de medidas de mitigación del estrés calórico sobre productividad de vacas Holando en dos etapas de lactancia. Fueron utilizadas 39 vacas Holstein multíparas en un diseño en bloques completos al azar, en la Unidad de Lechería de INIA La Estanzuela (Colonia, Uruguay) durante el verano 2012-13. Se evaluaron seis tratamientos producto del arreglo factorial de tres ambientes y dos etapas de lactancia: temprana (E1; $10 \pm 14,3$ días en lactancia) y tardía (E2; $201 \pm 45,8$ d). Los ambientes evaluados (09:00 a 05:00 h) fueron: acceso a sombra artificial (SOM; n=13), acceso a sombra artificial asociada a dos sesiones de ventilación y aspersión en el corral de espera (09:00 y 15:30 h) (SAV, n=13) y sin acceso a las mismas (SOL; n=13). La alimentación consistió en una sesión de pastoreo (06:00 a 09:00 h; ENL: 1,43 Mcal/kg MS; PC: 21,62%), y la administración de una mezcla de ensilaje y suplemento (ENL: 1,66 Mcal/kg MS; PC: 17,6%). La temperatura del aire máxima (Tmax) y mínima (Tmin) y el Índice de Temperatura y Humedad (ITH) (media \pm DE) se utilizaron para caracterizar el ambiente térmico. Se determinó diariamente la producción de leche, y el contenido de grasa (G) y proteína (P). En promedio la Tmin, Tmax e ITH fueron $17,1 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3,07$, $28,3 \text{ }^\circ\text{C} \pm 6,78$ y $70,1 \pm 4,46$ respectivamente. El acceso a sombra mejoró la producción de leche corregida por sólidos (LCS; 32,0 vs 28,4 kg/a/d), G (1,17 vs 1,07 kg/a/d) y P (0,92 vs 0,83 kg/a/d). La inclusión de aspersión y ventilación mejoró la producción de G (1,26 vs 1,17 kg/a/d). Los animales en E1 presentaron mayor descenso en la LCS que animales en E2. Del análisis de los registros históricos se concluyó que durante el verano se darían condiciones estresantes. En el verano 2012-13 la sombra mitigó los efectos negativos de las condiciones ambientales adversas sobre la productividad animal. Los animales en E1 presentaron mejor respuesta productiva a las medidas de mitigación.

Palabras clave: etapa de lactancia, sombra, ventilación, aspersión

INFLUENCE OF HEAT STRESS MANAGERMENTS ON PHYSIOLOGY AND PRODUCTIVE PERFORMANCE OF DAIRY COW

SUMMARY

With the purpose of characterizing the agro-climatic regime of heat waves in the area of La Estanzuela (Colonia, Uruguay) weather records of 47 summers (1965-2012) were analyzed. The average of heat waves per summer was 4 ± 1.7 (mean \pm SD) with a duration of 4.9 ± 2.5 d. A second trial was performed to quantify the effect of the summer environment and the heat stress mitigation strategies on productive responses of Holstein cows at two stages of lactation. Thirty nine multiparous Holstein cows were used in a randomized complete block design, at INIA La Estanzuela Dairy Unit (Colonia, Uruguay) during 2012-13 summer. Six treatments were evaluated, which correspond with the factorial arrangement of three environments and two stages of lactation: early (E1, 10 ± 14.3 days in milk) and late (E2, 201 ± 45.8 d). The environments evaluated (09:00 to 05:00 h) were: access to artificial shade with (SAV, n= 13) or without (SOM, n= 13) two sessions of ventilation and sprinklers at milking parlor (09:00 and 15:30 h) and without access to mitigation strategies (SOL, n= 13). The feeding consists of a grazing session (06:00 to 09:00 h, ENL: 1.43 Mcal/kg DM, PC: 21.62%) and a silage and supplement mixture (ENL: 1.66 Mcal/kg DM, PC: 17.6%). The maximum (Tmax) and minimum (Tmin) air temperature (mean \pm SD) and Temperature Humidity Index (THI) were used to characterize the environment. Daily milk yield and fat (F) and protein (P) content were determined. Mean Tmin, Tmax, and THI were 17.1 ± 3.07 °C, 28.3 ± 6.78 °C and 70.1 ± 4.46 , respectively. Access to shade improved solids corrected milk yield (SCM, 32.0 vs 28.4 kg/a/d) and F (1.17 vs 1.07 kg/a/d) and P yield (0.92 vs 0.83 kg/a/d). The inclusion of sprinklers and ventilation improved F yield (1.26 vs 1.17 kg/a/d). Early lactation cows had higher reduction in SCM than E2 cows. Through the analysis of historical records we concluded that during summer occurred stressful conditions. During 2012-13 summer use of shade reduce the negative effect of adverse environment in animal performance. E1 cows had better production response to mitigation strategies.

Keywords: stage of lactation, shade, sprinklers, fans

1. INTRODUCCIÓN

La producción de leche se encuentra relacionada negativamente con los eventos meteorológicos (Johnson, 1987), estimándose pérdidas económicas anuales por efecto del estrés por calor del orden de 897 millones de dólares sólo en los Estados Unidos de América (St-Pierre *et al.*, 2003) y de 72 millones de dólares en los rodeos lecheros argentinos (INTA, 2011). Cuando el ambiente se torna estresante, no sólo se afecta la producción de leche (West, 2003, Leva *et al.*, 1996), sino que además se observan cambios en la composición de la misma (Bianca, 1965), y pérdidas en la eficiencia reproductiva (Jordan, 2003).

En los sistemas pastoriles, el efecto negativo del ambiente térmico sobre las variables antes expuestas, podría ser de mayor relevancia ya que los animales se encuentran permanentemente expuestos al ambiente exterior. En este sentido, Saravia (2009) a nivel nacional observó disminuciones en la producción de leche y cambios en la composición de la misma cuando las vacas se enfrentaron a eventos extremos de altas temperaturas. Por otro lado, en Uruguay se ha visualizado un aumento de la producción de leche individual en la última década (DIEA, 2010) que podría asociarse a un aumento de la vulnerabilidad de los animales a las altas temperaturas. Esto es aún más válido si en nuestro país aspira aumentar la producción de leche lo que implicará un proceso de intensificación continuo.

En el contexto del cambio climático, las simulaciones climáticas para la región predicen un aumento de la temperatura de la superficie de 2 a 4 °C hacia el final de siglo, asociado a un aumento de la humedad del aire, que provocaría incrementos en el Índice de Temperatura y Humedad (ITH, Thom, 1959) (IPCC, 2007), agravando la situación actual. En el mediano plazo, estas tendencias se visualizan asociadas a una mayor ocurrencia de eventos extremos o variabilidad climática (Baethgen, 2009).

1.1. HOMEOTERMA Y ESTRÉS TÉRMICO

La homeoterma se refiere al mantenimiento de la temperatura interna del animal entre determinados límites acotados, en un ambiente donde las condiciones

meteorológicas (temperatura del aire, radiación, movimiento del aire y humedad) pueden variar ampliamente (Kadzere *et al.*, 2002, Yousef, 1985). La temperatura interna del animal es el resultado del balance entre el calor producido o ganado y el perdido al ambiente, involucrando cada interacción que tiene el animal con el medio (transpiración, ingestión de alimentos, movimiento, etc.) un intercambio de calor. Para que se cumpla la homeoterma se requiere que todo el calor producido y ganado del ambiente logre ser perdido por el animal (Kadzere *et al.*, 2002). Cuando la temperatura interna del animal se eleva y excede las pérdidas, el calor se acumula en el cuerpo y el animal estresa. Se define estrés a cualquier condición o agente que altere el estado de un sistema biológico (Spiers, 2012).

1.1.1. Zona termoneutral y sus límites

Johnson (1987) define la zona termoneutral (ZTN) como aquella en la cual se observa la mínima tasa de producción de calor, una temperatura rectal normal, mínimo costo fisiológico y máxima productividad. La ZTN se encuentra entre la temperatura crítica inferior y superior (indicada como B y B' en la figura 1, respectivamente). La Commission for Thermal Physiology of the International Union of Physiological Sciences (IUPS, 2001) definió la temperatura crítica superior, como aquella a partir de la cual el animal debe de incrementar las pérdidas evaporativas para mantener el balance calórico. Por fuera de la ZTN, la homeoterma se mantiene hasta el punto C', a partir del cual los mecanismos de pérdida de calor son incapaces de mantener la temperatura interna constante y el animal entra en un estado de hipotermia, muriendo en la temperatura máxima letal (D'). Cuando la temperatura ambiental se incrementa sobre la temperatura crítica superior, los esfuerzos en mantener la homeoterma toman prioridad sobre los procesos productivos (Johnson *et al.*, 1961), ya que los costos para mantener la temperatura interna constante son cada vez mayores (Gallardo y Valtorta, 2011). Las temperaturas que definen la zona termoneutral dependen de la edad, especie, raza, materia seca ingerida, composición de la dieta, aclimatación previa, nivel de producción, composición de tejidos (grasa y piel) y comportamiento del animal (Hahn, 1997). Berman (2005) muestra como, el incremento en la producción de leche (35 a 45 kg/d) produce un detrimento en el

umbral crítico superior de temperatura de 5 °C. Además observó, un incremento del umbral a medida que aumentaba la velocidad del viento y la humedad relativa.

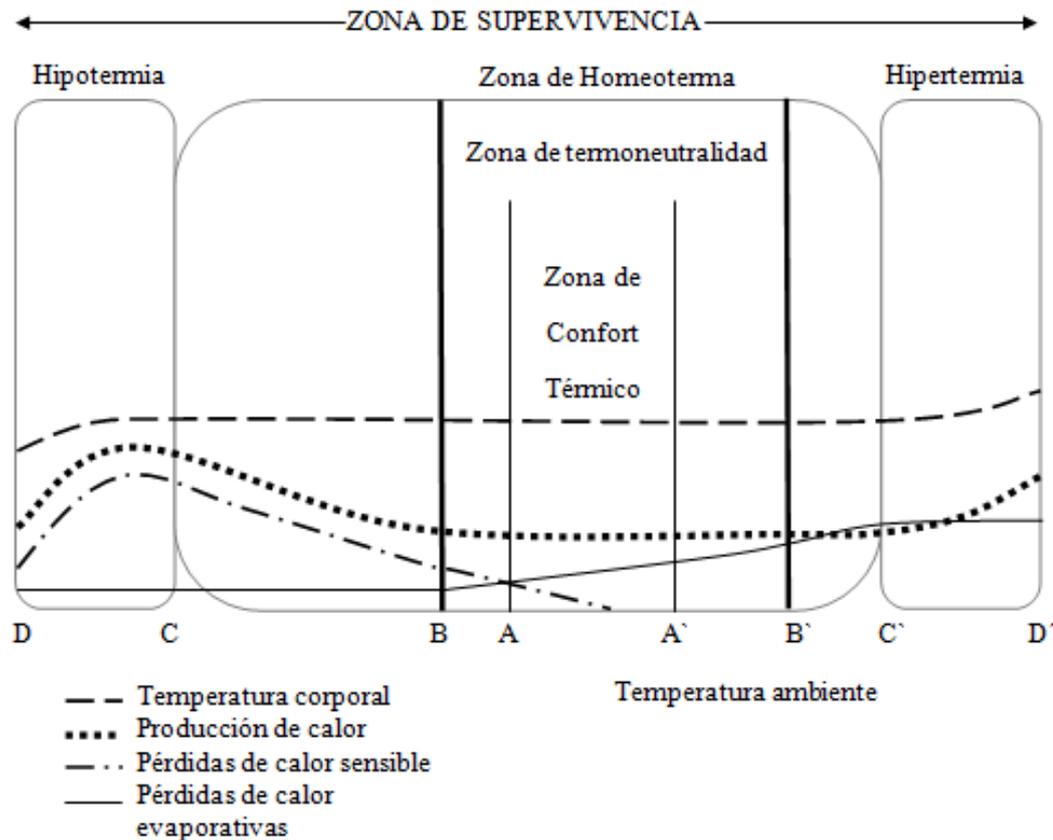


Figura 1. Representación esquemática de las zonas térmicas, temperatura corporal, producción de calor, pérdidas de calor sensible y pérdidas evaporativas en función de la temperatura ambiente (adaptado de Bianca, 1965).

1.1.2. Balance calórico

El balance calórico del animal está definido por las ganancias y pérdidas calor propias de su organismo, y el intercambio calórico con el medio. Las ganancias de calor internas se deben al metabolismo basal, que garantiza la vida del animal, el incremento calórico y actividad muscular. En rumiantes, el incremento calórico está relacionado con la fermentación de los alimentos, y es afectado por los procesos de aprehensión, masticación, y propulsión del alimento por el tracto digestivo y por

factores de ineficiencia de utilización de los nutrientes a nivel celular. La actividad muscular está relacionada a los desplazamientos que deben efectuar los animales en busca de la comida, hasta la sala de ordeño o a las aguadas. Las pérdidas de calor internas se producen con la eliminación de desechos (orina y heces) o a través de producto (leche). La transferencia de calor entre el animal y el ambiente que lo rodea, se da por medio de cuatro procesos: radiación, conducción, convección y evaporación (Kadzere *et al.*, 2002).

La radiación es el principal elemento en determinar los intercambios de calor con el ambiente de un animal expuesto a la intemperie (Gallardo y Valtorta, 2011). La cantidad de radiación absorbida por un cuerpo depende de la temperatura del mismo, del color y textura. En este sentido, los animales de pelaje claro absorben menos radiación que los de pelaje negro (Pocay *et al.*, 2001) y presentan menores temperaturas al ser expuestos al mismo ambiente (Gebremedhin, citado por Gebremedhin, 2012). La conducción tiene lugar cuando dos cuerpos están en contacto, y depende del área en contacto, de la conductividad térmica de material y del gradiente térmico entre los objetos (Spiers, 2012). Normalmente la superficie del animal se encuentra en contacto con el aire, el que tiene una baja conductividad térmica por lo que las ganancias o pérdidas de calor hacia el ambiente por este proceso son mínimas (Yousef, 1985). A través de la conducción es posible el paso del calor desde el núcleo central del organismo hacia la superficie interna (tracto respiratorio, y digestivo) y externa del animal (piel) en donde el calor es perdido hacia el medio (Gallardo y Valtorta, 2011). La convección ocurre cuando dos fluidos de diferentes temperaturas fluyen entre ellos. Depende de la superficie en contacto, del gradiente térmico entre los objetos y del coeficiente de convección del material. Puede ser forzada o pasiva, de acuerdo a la necesidad o no de energía externa para que ocurra el movimiento. La primera ocurre, por ejemplo, cuando una masa de aire fluye a través de la superficie del animal. La segunda se da por el movimiento de aire en el tracto respiratorio o el flujo de sangre a través del sistema circulatorio (Spiers, 2012). La pérdida de calor por medio de estos tres mecanismos antes mencionados, se la denomina pérdida de calor sensible o no evaporativa. La evaporación es uno de

los más importantes medios de pérdida de calor del animal, que depende de la superficie de evaporación, sobre todo de la superficie húmeda y de la velocidad del viento. A diferencia de los otros procesos no depende del gradiente de temperatura, sino de la capacidad del aire de aceptar vapor de agua (Spiers, 2012). Las pérdidas evaporativas se producen principalmente por sudoración y ventilación (jadeo) (Kadzere *et al.*, 2002). El agua que llega a la mucosa del tracto respiratorio para ser evaporada es secretada por glándulas mucosas. En cambio, el agua que llega a la superficie de la animal puede ser obtenida de la simple eliminación a través de la piel (independiente de la temperatura), por actividad de las glándulas sudoríparas (bajo control hormonal) o por aplicaciones externas (lluvia, aspersión, inmersión en agua) (Gallardo y Valtorta, 2011). Alrededor del 15% del calor endógeno es perdido a través de las vías respiratorias (McDowell *et al.*, 1976), el resto, es conducido a la superficie del animal donde es disipado por radiación, conducción y convección y principalmente a través de procesos evaporativos (Kadzere *et al.*, 2002). La importancia relativa de cada una de estas vías de transferencia de calor depende de las condiciones ambientales a las que está sometido el animal. A medida que nos acercamos a la temperatura crítica superior las pérdidas de calor sensible se tornan ineficientes, pues dependen de que exista un gradiente de temperatura entre el animal y el ambiente (Kadzere *et al.*, 2002). En estas condiciones los animales se tornan más dependientes de las pérdidas evaporativas para disipar el calor acumulado (Berman *et al.*, 1985).

1.2. CARACTERIZACIÓN DEL AMBIENTE TÉRMICO

La temperatura del aire fue clásicamente utilizada como caracterizador del ambiente térmico, sin embargo, los intercambios de calor dependen como fue mencionado anteriormente de otros factores ambientales como la humedad relativa, velocidad de viento y radiación que pueden ser incorporados en índices biometeorológicos. Los mismos son usados para determinar la severidad del ambiente térmico al relacionarlos con el desempeño animal. El Índice de Temperatura y Humedad (ITH) es uno de estos índices biometeorológicos, desarrollado para humanos por Thom, (1959) y posteriormente adaptado para ser utilizado en bovinos. Se ha propuesto que

la zona de confort térmico para vacas lecheras se encuentra entre valores de ITH de 35 y 70, tomado el valor crítico para vacas de la raza Holando de 72 (Johnson *et al.*, 1961). Se han elaborado distintas categorías de estrés calórico en función de la magnitud del ITH (Livestock Weather Safety Index, Livestock Conservation Institute, citado por Nienaber y Hahn, 2007): 1) normal, menor o igual a 74; 2) alerta, ITH entre 74 y 78 donde se recomienda tomar medidas de enfriamiento; 3) peligro, ITH entre 79 y 83 donde la producción se ve altamente disminuida; y 4) emergencia, ITH mayor a 84 pudiendo ocurrir la muerte del animal. A través de relaciones funcionales se ha estimado equivalencias entre la frecuencia respiratoria y estas categorías de ITH, siendo la frecuencia respiratoria de <90, 90-110, 110-130 y >130 para la categoría normal, alerta, peligro, y emergencia, respectivamente (Nienaber y Hahn, 2007). Se ha señalado que estos umbrales son guías para el manejo de los animales, y que sería necesario además tomar en cuenta la duración del estrés, las horas de recuperación nocturna, la velocidad del viento y la radiación incidente (Hahn *et al.*, 2009, Berman, 2005). A nivel nacional, Cruz y Saravia (2008) realizaron una caracterización climática de ITH para el período estival (promedios históricos mensuales de la serie 1961-1990 de los meses de diciembre a marzo), encontrándose valores por encima del crítico (72) para el norte del Río Negro para el mes de enero. En el resto del territorio, si bien no se observó que el ITH promedio mensual tomara valores superiores al umbral determinado, es común que esto ocurra en períodos que abarcan varios días (Cruz, 2009). El umbral de ITH en Uruguay para vacas lecheras de primera lactancia (producción promedio: 14,5 litros/vaca/día), fue determinado por Cruz (2009), el que se ubicó en 72 para dos días previos a la medición de leche y 75 para el día previo y el día de la medición de leche. Una de las reconocidas limitaciones del ITH es que no toma en cuenta la velocidad de viento y la radiación incidente sobre el animal, por lo que se han sugerido algunos ajustes (Hahn *et al.*, 2009), como el sugerido por Davis y Mader, (2003). Este particularmente es utilizado para ganado de feedlot y toma en cuenta la velocidad del viento (VV, m/s) y la radiación solar (RS, W/m²), en la siguiente ecuación: ITH ajustado= 4,51 + ITH-1,992 × VV + 0,0068 × RS (Mader *et al.*, 2004).

Otra forma de caracterizar el ambiente meteorológico que rodea a los animales es la utilización de esferas de Vernon o globos negros (Berbigier, 1988), que pueden ser ubicadas cerca del lugar que ocupan los animales. La temperatura registrada, permite integrar en un registro de temperatura los aportes de calor por convección y radiación. La temperatura registrada dentro del espacio cerrado “negro” expresa las ganancias o pérdidas de calor del ambiente medido (Hertig, 1972). Otra de las modificaciones es la propuesta por Buffington *et al.* (1981) denominada Black Globe Humidity Index (BGHI) que usa la temperatura registrada en la Esfera de Vernon. Buffington *et al.* (1981) sugiere que valores de BGHI superiores a 75 tienen alto impacto en deprimir el consumo de alimento.

Las olas de calor son eventos extremos de temperatura definidos como períodos anormalmente cálidos y húmedos de más de un día de duración, que comúnmente dura varios días a varias semanas (Sociedad Americana de Meteorología, citados Brown-Brandl *et al.*, 2005b). En la literatura se reportan pérdidas asociadas a la ocurrencia de olas de calor (Nienaber y Hahn, 2007), por ejemplo: el 11 y 12 de julio de 1995 en Iowa murieron 3750 bovinos, siendo las pérdidas directas estimadas de 2,8 millones de dólares y las productivas de 28 millones (Busby y Loy, 1996). Se han reportado pérdidas de 5000 bovinos el 20 y 21 de julio de 1999 en Nebraska, que representaron 21,5 a 35 millones de dólares (Hungerford, citado por Brown-Brandl *et al.*, 2005b). A través de un análisis climatológico de las olas de calor (definidas como días con 24 horas de ITH >70) ocurridas entre 1949 y 1991 en Nebraska, se determinaron seis categorías de olas de calor (leve, tenue, moderada, fuerte, severa y extrema) de acuerdo a la cantidad de horas con ITH >79 o >84 y la oportunidad nocturna de recuperar la normotermia (horas con ITH >72) (Hahn y Mader, citado por Nienaber *et al.*, 2003). Algunas consideraciones deben de ser tomadas en cuenta, por ejemplo el grado de aclimatación de los animales, temprano en la estación estival una ola de calor moderada puede ser tomada como fuerte, así como tarde en la estación una ola de calor severa puede ser tomada como fuerte (Nienaber y Hahn, 2007). Además, se ha observado que olas de calor extremas (más de 15 horas con ITH >84 durante 3 o más o días, y sin capacidad de recuperación nocturna de la normotermia)

causan la muerte de los animales, sin embargo, en animales vulnerables (altas productividades, no aclimatados, animales enfermos) esto puede ocurrir en olas de calor fuertes y severas (Nienaber *et al.*, 2003). Valtorta *et al.* (2002), definen la ola de calor como períodos de tres o más días consecutivos con menos de 10 horas de ITH menor o igual a 72 (horas de recuperación nocturna de la normotermia). En un trabajo para caracterizar el régimen agroclimático de olas de calor en la provincia de Santa Fe, Argentina, se consideró ocurrida una ola de calor, si el ITH era superior a 72 por más de tres días consecutivos (Valtorta *et al.*, 2008), observando que en la localidad de Rafaela, todos los años analizados (30 años) presentaron olas de calor, de una duración media de 4,1 días y un ITH promedio de 75,2. El período con olas de calor fue de 124 días en promedio, iniciando el 11 de noviembre \pm 33 días y culminado el 15 de marzo \pm 23 días. Saravia (2009) a nivel nacional caracterizó dos tipos de olas de calor: severas y leves. Las primeras cumplían con los siguientes criterios, durante tres días o más se presentaban: más de 14 horas diarias con ITH >72 , temperatura mínima diaria $> 23^{\circ}\text{C}$ y máxima $> 29^{\circ}\text{C}$ y el ITH promedio diario fue > 72 , considerando que la ola de calor no se interrumpe si un solo día no se alcanza el umbral. Las olas de calor leves cumplían al menos uno de los criterios. Este criterio se correspondía con el de Hahn y Mader, citado por Nienaber *et al.* (2003). Las pérdidas por olas de calor no solo son directas (muertes) sino que también son productivas (ganancias y de eficiencias) (Nienaber *et al.*, 2003). A nivel regional, Valtorta *et al.*, (2002) en un trabajo evaluando el efecto de olas de calor en vacas lecheras de alta producción (25 l/d), observaron una reducción significativa del 17 % de la producción de leche durante la primera ola de calor (ITH promedio =74,5) y una no significativa (4%) durante la segunda ola de calor ya que las vacas no habían recuperado el nivel de producción. Saravia (2009) para Salto, Uruguay observó una disminución del 18% en la producción de leche y caídas en la producción de grasa y proteína durante las olas de calor severas respecto a días con olas de calor leves y días de no ola de calor.

1.3. RESPUESTAS AL ESTRÉS CALÓRICO

Los procesos homeostáticos generales se reflejan en cambios en:

1.3.1. Tasa cardíaca, flujo sanguíneo y vasodilatación periférica

Se han reportado efectos negativos en el flujo de sangre a órganos reproductivos (Roman-Ponce *et al.*, 1978) y aumentos en el flujo de sangre a la superficie del animal donde puede ser disipado. El flujo de calor desde el núcleo central del organismo hacia la superficie, depende, de la conducción del calor entre los tejidos y de la convección a través de la corriente sanguínea. Por la gran masa corporal de los bovinos, este mecanismo es muy importante para disipar el calor producido por el organismo del animal (Kadzere *et al.*, 2002).

1.3.2. Sudoración

Existen dos tipos de sudoración, una que ocurre de manera insensible y en todo momento y otra que depende de la temperatura ambiental. El proceso de sudoración se da por el gran número de glándulas sudoríparas que presentan los bovinos ya que, se encuentran una por cada folículo piloso (Findlay y Yang, 1950). A través de estudios histológicos de estas glándulas se ha encontrado que el tamaño y la distancia a la piel es menor en verano, lo que concuerda con la mayor actividad observada en esta época del año (Ferreira *et al.*, 2009). La tasa de sudoración se encuentra en relación negativa con la temperatura rectal, y positiva con el tiempo de exposición a la radiación solar en la pastura (Finch *et al.*, 1982). Se han encontrado diferencias entre tipos raciales en la densidad (Dowling, 1955), actividad e histología (Hansen, 2004, Carvalho *et al.*, 1995) de las glándulas sudoríparas a favor de los animales *Bos indicus* con respecto a animales *Bos taurus*.

1.3.3. Frecuencia respiratoria y temperatura rectal

Tanto la temperatura rectal como la frecuencia respiratoria aumentan con el aumento de la temperatura (Ferreira *et al.*, 2006, Leva *et al.*, 2005, Hahn, 1997). El aumento en la temperatura rectal es posterior al incremento de la frecuencia respiratoria que ocurren 4 a 5 y 1,5 a 2 h luego de iniciada la exposición al elevadas temperaturas,

respectivamente (Brown-Brandl *et al.*, 2003). Por lo tanto, la frecuencia respiratoria suele ser el primer síntoma visible de respuesta al estrés térmico, aunque los cambios en el flujo sanguíneo y la iniciación de la sudoración ocurren con anterioridad (Gallardo y Valtorta, 2011). Se han reportados incrementos en la frecuencia respiratoria de bovinos de 4,3 respiraciones por minuto (rpm) por cada grado de incremento (sobre 21 °C), con una línea de base de 60 rpm en condiciones de termoneutralidad (Hahn, 1997). Brown-Brandl *et al.* (2005a) concluyen que la frecuencia respiratoria es el indicador más apropiado para el monitoreo del estrés térmico ya que es consistentemente afectado por todas las categorías de ITH (Livestock Weather Safety Index, Livestock Conservation Institute, citado por Nienaber *et al.*, 2004), es fácil de medir, de bajo costo, y además comparado con el consumo y la temperatura corporal las variaciones de medida entre animales son menores. La temperatura rectal también puede ser usada como indicador de la adversidad del ambiente térmico y del balance calórico (Johnson, 1987) porque se independiza de la temperatura del aire, mientras que el animal logra mantener la normotermia (Berman *et al.*, 1985). Además se ha sugerido que es factible de ser utilizada para predecir la producción de animales lecheros (Spiers *et al.*, 2004) ya que el aumento de la temperatura rectal de 1°C o menos es suficiente para disminuir la performance animal (McDowell *et al.*, 1976). En algunos trabajos, se ha monitoreado la temperatura vaginal, cómo medida continua de la temperatura del cuerpo en animales en pastoreo (Tucker *et al.*, 2008, Kendall *et al.*, 2007).

1.3.4. Consumo voluntario, digestión-absorción de nutrientes

Como ya fue mencionado, el incremento calórico debido a la alimentación, especialmente en rumiantes, es una parte importante de la producción de calor total, es esta la razón por la cual los animales disminuirían el consumo voluntario en un esfuerzo por producir menor calor metabólico (Kadzere *et al.*, 2002). Las reducciones en el consumo voluntario dependen de la duración e intensidad del estrés por calor, de la especie, biotipo, etapa fisiológica, y nivel de producción animal (Bernabucci, 2012). West *et al.* (2003) reportaron una caída en el consumo de 0,85 kg de materia seca por cada grado de incremento de la temperatura del aire. Tanto en

los animales de carne (Hahn, 1997), como lecheros (Wheelock *et al.*, 2010, Rhoads *et al.*, 2009) el consumo decrece hasta estabilizarse a los 3-4 días de iniciado el estrés, por lo que se ha sugerido que los animales necesitarían de este tiempo para adecuar su balance térmico, al menos en lo que refiere a una menor producción de calor (Hahn, 1997). Al aumentar la temperatura, se reduce la rumia (Collier *et al.*, 1981) y se observan cambios en la fermentación ruminal hacia menores niveles de ácidos grasos volátiles (Moody *et al.*, 1967, Kelley *et al.*, 1967). Además, se sugiere que los animales bajo estrés calórico serían más susceptibles a acidosis sub-clínica (Kadzere *et al.*, 2002; Beede y Collier, 1986) debido a la menor rumia, menor número de comidas (más largas) que incrementarían la cantidad de ácido post-comida. Además el incremento observado en el jadeo, produciría una pérdida de dióxido de carbono (CO₂) que llevaría a mayor excreción de ion bicarbonato (HCO₃⁻) por parte del riñón para mantener la proporción CO₂:HCO₃⁻ en sangre y por tanto menor cantidad de HCO₃⁻ quedaría disponible para ser secretado por la saliva (Bernabucci, 2012). En este sentido, Mishra *et al.* (1970) reportan una disminución del pH ruminal (~6,3 vs ~5,8) y una elevación del nivel de amonio y de las concentraciones de ácido láctico al pasar un ITH de 63 a 82,7. Se ha sugerido que la absorción de los nutrientes se puede ver retardada, debido a que el incremento de flujo de sangre hacia la superficie en respuesta al estrés por calor, trae aparejado un menor flujo de sangre a órganos internos, en este caso, el tracto gastrointestinal (Beede y Collier, 1986).

1.3.5. Metabolismo post-absorbativo de los nutrientes (partición de nutrientes)

La reducción en el consumo voluntario fue tradicionalmente tomada como la principal causante de la disminución en la producción de leche (West, 2003, Beede y Collier, 1986, Collier *et al.*, 1982). Sin embargo, durante experimentos recientes que evalúan el impacto del efecto directo (partición de nutrientes) e indirecto (consumo), se concluye que el efecto directo explica entre el 65 % (Rhoads *et al.*, 2009) y 50 % (O'Brien *et al.*, 2008) del efecto depresor del calor en la producción de leche. Se ha sugerido que la proporción explicada por ambos efectos depende de la magnitud y duración del estrés, y que pasado determinado umbral (aún desconocido) la relación entre el consumo y la producción de leche se perdería, y esta disminuiría a niveles no

esperados (Baumgard y Rhoads, 2012). Sin embargo, se ha observado que el consumo puede explicar la mayor parte del efecto en bovinos en crecimiento (O'Brien *et al.*, 2010).

Los animales bajo estrés calórico entran en un balance energético negativo, debido al menor consumo observado y al incremento en los gastos de mantenimiento, que se ha sugerido es de 15% (NRC, 1981). A pesar de que el balance energético negativo es similar al observado en vacas de lactación temprana (O'Brien *et al.*, 2008) o vacas subalimentadas (Shwartz *et al.*, 2009) sus perfiles metabólicos son diferentes. Los animales bajo estrés calórico se caracterizan por bajos niveles de ácidos grasos no esterificados (NEFA) (Wheelock *et al.*, 2010, Rhoads *et al.*, 2009, Shwartz *et al.*, 2009), algo difícil de explicar ya que se cree que sus niveles reflejan fielmente el balance energético negativo del animal (Bauman y Currie, 1980). Además no se observan cambios en el peso o en la condición corporal que muestren una pérdida de tejido (Ronchi *et al.*, 1999). Animales bajo estrés calórico tienen una progresiva reducción en la concentración sanguínea de glucosa (Shwartz *et al.*, 2009, Rhoads *et al.*, 2009, Abeni *et al.*, 2007, Ronchi *et al.*, 1999, Achmadi *et al.*, 1993) sin encontrarse mermas en la producción de glucosa (Wheelock *et al.*, 2010). A través de tests de tolerancia a la glucosa se ha observado que estos animales presentan similares tasas de disponibilidad de glucosa a pesar de la disminución en el consumo, y una mayor respuesta a la insulina (O'Brien *et al.*, 2010, Wheelock *et al.*, 2010). Además, los animales bajo estrés calórico presentan un aumento gradual de la insulina en sangre (Wheelock *et al.*, 2010) una potente señal antilipolítica y principal impulsor de la entrada de glucosa celular (O'Brien *et al.*, 2008). Se ha sugerido, por tanto que la insulina jugaría un rol muy importante en la habilidad de los animales en responder al estrés por calor (Baumgard y Rhoads, 2012), sin embargo, esto llevaría a que el animal se vuelva más dependiente de la glucosa para satisfacer sus necesidades energéticas y la que no sería dirigida hacia la glándula mamaria (O'Brien *et al.*, 2008). Este aparente cambio en el metabolismo disminuiría la producción de calor metabólico (O'Brien *et al.*, 2008), ya que se ha observado que la glucosa se oxida más eficientemente que los ácidos grasos, produciendo menor calor

metabólico (Baumgard y Rhoads, 2007). La disminución en la concentración de lactosa en leche (Shwartz *et al.*, 2009; Rhoads *et al.*, 2009) reflejaría esta menor utilización de glucosa por la glándula mamaria, pues ambas están en relación directa (Baumgard y Rhoads, 2012). Se ha sugerido que al igual que en la lactancia temprana, se podría dar un desacople del eje GH-IGF-1, pero con un objetivo diferente, el de reducir la utilización de nutrientes por la glándula mamaria a favor de la utilización por los tejidos periféricos, como por ejemplo, el músculo esquelético (Rhoads *et al.*, 2009). El metabolismo proteico se ve alterado en animales bajo estrés calórico, se evidencian disminuciones en la capacidad de síntesis de ARN y ADN (Streffer, 1982). El catabolismo del músculo se ve incrementado en animales bajo estrés por calor (Wheelock *et al.*, 2010).

1.3.6. Actividad endócrina

En la aclimatación al estrés calórico están implicadas: hormonas tiroideas, prolactina, glucocorticoides (cortisol), mineralocorticoides (aldosterona) y catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) (Bernabucci *et al.*, 2010). La hipertermia deprime la función tiroidea (Johnson y Vanjonack, 1976), en un intento de disminuir la producción de calor (Kadzere *et al.*, 2002). Se observan incrementos iniciales en los niveles circulantes de adrenalina y noradrenalina, los que disminuyen más tarde a pesar de que la temperatura rectal permanezca elevada (Alvarez y Johnson, 1972) y se ha observado también que los niveles son menores en animales aclimatados a estrés calórico (Ronchi *et al.*, 2001). Los valores de prolactina en plasma se incrementan bajo estrés térmico, y el efecto es independiente de la disminución en el consumo voluntario (Ronchi *et al.*, 2001), lo que parece jugar un rol importante en la aclimatación al estrés por calor ya que aumentaría la función de las glándulas sudoríparas y así las pérdidas de calor (Beede y Collier, 1986). Se reportan cambios en la hormona anti diurética (ADH) y aldosterona asociados a la regulación homeostática del agua y sodio, respectivamente; los incrementos en ADH están relacionados con la necesidad de conservar el agua en el cuerpo y de incrementar el consumo de agua cuando las pérdidas de calor a través de las vías respiratorias y de la superficie del cuerpo se incrementan (Collier *et al.*, 1982). Christison y Johnson

(1972) reportan que la exposición aguda al calor, provoca un aumento rápido de los niveles de cortisol (primeros 20 minutos), luego un aumento menor, y una estabilización de los mismos a las 4 horas de iniciada la exposición. Sin embargo luego de 7 días de exposición los niveles de cortisol descienden. Otros trabajos muestran mermas en los contenidos de cortisol en ambientes cálidos (Ronchi *et al.*, 2001, West *et al.*, 1999).

1.3.7. Metabolismo del agua

Bajo condiciones de estrés térmico el consumo de agua se incrementa (Muller y Botha, 1994, Collier *et al.*, 1982) y se hace más frecuente, para una vaca de alta producción se estima que es de alrededor de 135 litros/d (Kadzere *et al.*, 2002). A pesar de los aumentos en el consumo de agua (29,9 % ~ 16,8 kg/d), las pérdidas asociadas al mantenimiento de la normotermia también se incrementan (pérdidas por piel y respiración se incrementa 176 y 53 %, respectivamente; un aumento de 25,9 kg/d en total) (Collier *et al.*, 1982), aumentando la tasa de recambio del agua (3,8 a 6,4 ml/kg/h bajo condiciones de termoneutralidad y estrés térmico, respectivamente) (Kamal y Johnson, 1971). Son estas las razones por las cuales en ambientes estresantes el agua es el principal nutriente para el animal (Bernabucci, 2012). La temperatura y la calidad del agua son aspectos a ser tomados en cuenta. El proveer de agua fresca a los animales (10 °C) promueve un mayor consumo de materia seca (Baker *et al.*, 1988, Milam *et al.*, 1986) que en algunos trabajos es acompañado por aumentos en la producción de leche (Milam *et al.*, 1986) con (Lanham *et al.*, 1986) y sin (Baker *et al.*, 1988; Milam *et al.*, 1986) efectos observados en la temperatura rectal.

1.3.8. Comportamiento

La disminución en el consumo va acompañada de un cambio en el comportamiento ingestivo. Con un aumento de la temperatura, los animales disminuyen el número de comidas (12-15 comidas/día y 3-5 comidas/día, sin y con estrés térmico, respectivamente; Bernabucci, 2012), el número de horas dedicadas a comer y a rumiar (Tapki y Sahin, 2006), aumentan el consumo en las horas de la noche

(Breinholt *et al.*, 1981) y disminuyen el consumo de forraje en la dieta (Bernabucci *et al.*, 1999, Collier *et al.*, 1982). Además se observa menor tiempo dedicado a locomoción (Tapki y Sahin, 2006). Los animales buscan lugares con microclimas menos estresantes, y pasan mayor tiempo parados que echados (Frazzi *et al.*, 2002). En animales con acceso a sombra, el tiempo de uso de la misma se incrementa, en cambio, cuando los animales no tienen acceso a la misma se observa un incremento del tiempo en los bebederos (Widowski, 2001). Estos cambios comportamentales tienen como objetivo, disminuir la producción de calor (actividad o fermentación ruminal) más que nada en los horarios diurnos, o bien aumentar las pérdidas de calor, como puede ser la búsqueda de sectores del potrero donde sea factible mayores pérdidas por convección (viento).

1.3.9. Producción y composición de la leche

La producción de leche se encuentra negativamente relacionada con el ITH (Ravagnolo *et al.*, 2000, McDowell *et al.*, 1976) y se han observado disminuciones de hasta 35-40 % por efecto del estrés calórico (West, 2003). Estas reducciones dependen de la etapa de la lactancia (Kadzere *et al.*, 2002, McDowell *et al.*, 1976) y del nivel de producción de leche (Tapki y Sahin, 2006, Berman, 2005). Kadzere *et al.* (2002) suponen que el balance energético negativo característico de las primeras etapas de la lactancia, que se asocia a una gran movilización de reservas y aumentos en la producción de calor, haría a los animales en lactancia temprana más sensibles al estrés por calor. La producción de calor del animal está influenciada por el nivel de producción de leche, y se ha observado que la misma es 10 % menor en animales de baja producción (18,5 kg/d) comparado con aquellos de alta producción de leche (31,6 kg/d) lo que provocaría la mayor sensibilidad de estos últimos al estrés por calor (Purwanto *et al.*, 1990). Johnson *et al.* (1961) estableció que el ITH crítico para producción de leche de 72, sin embargo algunos trabajos más recientes muestran que para animales de alta producción (más de 35 kg/d) el ITH crítico podría ser de 68 (Zimbelman *et al.*, 2009). Ravagnolo *et al.* (2000) reporta que la producción de leche parece relativamente estable (promedio 26,3 kg) hasta un ITH de 72 y luego declina alrededor de 0,2 kg de leche por cada unidad de incremento del ITH. Bouraqui *et al.*

(2002) reportan 0,41 kg de leche perdidos por cada incremento en una unidad por encima de 69 de ITH. A nivel nacional, Cruz (2009), estimó mermas en la producción de leche de 1,3% (0,19 litros/vaca/día), 1,9% (0,27 litros/vaca/día), y 0,9% (0,13 litros/vaca/día) cuando se supera el umbral de ITH estimado para el día de medición de la producción de leche, el día previo (ITH=75) y dos días previos (ITH=72), respectivamente. Típicamente el contenido de grasa en la leche se deprime los meses de verano en los tambos comerciales (Kadzere *et al.*, 2002), sin embargo se ha reportado en algunos trabajos aumentos (Rhoads *et al.*, 2009, Regan y Richardson, 1938) y en otros no se encontró efecto del estrés por calor en el porcentaje de grasa (Valtorta *et al.*, 1997). Rhoads *et al.* (2009) sugiere que el contenido de grasa de la leche dependería de otros factores además del efecto directo del calor. El contenido de proteína en la leche disminuye durante el estrés térmico (Saravia, 2009, Kadzere *et al.*, 2002), parece ser que la concentración de proteína en leche depende del estrés en sí mismo independientemente de los aminoácidos ingeridos (Rhoads *et al.*, 2009, Shwartz *et al.*, 2009). Ravagnolo *et al.* (2000) encontraron que la producción promedio de proteína en la leche de vacas Holando descende 0.009 kg por unidad de ITH que se incrementa, a partir de un ITH crítico de 72. Se ha observado que la síntesis de caseína (Regan y Richardson, 1938) y especialmente la de α - and β -caseína es susceptible al estrés por calor (Bernabucci *et al.*, 2002). West *et al.* (1999) encontraron que el recuento de células somáticas tendió a ser mayor durante el período cálido en comparación con el fresco, similares resultados fueron reportados por Bouraqui *et al.* (2002) al comparar los meses de primavera con los de verano. A nivel nacional, Saravia (2009) reportó disminuciones significativas en la producción de leche y contenido de grasa y proteína en animales durante ola de calor severa, con respecto a las presentadas en ola de calor leve y no ola de calor y observó que el recuento de células somáticas tendió a ser diferente entre las diferentes condicionantes meteorológicas.

1.4. MEDIDAS DE MITIGACIÓN

Beede y Collier (1986) identificaron tres estrategias para minimizar los efectos del estrés calórico: modificaciones físicas del ambiente (sombra,

enfriamiento por aspersión); desarrollo de biotipos tolerantes al calor y manejos nutricionales. Sin embargo, parece ser que la combinación de estas estrategias podría ser necesaria para optimizar la producción de los animales en producción (West, 2003).

1.4.1. Modificaciones del ambiente físico

1.4.1.1. Uso de sombras

Previene la incidencia de la radiación solar directa e indirecta sobre los animales y es uno de los primeros pasos a tomar para moderar el efecto estresante de las altas temperaturas requerido en cualquier sistema de producción. Existen numerosos tipos de sombra, natural (árboles) y artificiales (metal, malla sombra, paja) (West, 2003). La sombra natural es una de las más efectivas, ya que no solo disminuye la incidencia de la radiación sino que también produce una disminución de la temperatura del aire por la evaporación desde las hojas (Saravia *et al.*, 2003). Pero, se debe considerar que el desarrollo de los árboles es lento y costoso, además de verse adversamente afectados en situación de alta densidad de animales debido a la concentración de heces y orina, además estas áreas pueden ser una fuente de contaminación (West, 2003). En caso de sombras artificiales, Armstrong (1994) sugiere que en ambientes secos, el área de sombreado debe ser de 3,5 a 4,5 m² por vaca lactando, con una altura de 3,5 a 4,5 metros para minimizar la radiación desde el techo a la vaca. Sin embargo en lugares húmedos y cálidos, cada vaca debe tener un lugar de 4,2 a 5,6 m² de superficie, esta mayor área provee de mayor ventilación, que es el factor clave en ambientes húmedos. Los beneficios reportados por uso de sombras en condiciones de estrés térmico son: menor temperatura rectal (Brown-Brandl *et al.*, 2005a, Valtorta *et al.*, 1996, Schneider *et al.*, 1984) menor frecuencia respiratoria (Eigenberg *et al.*, 2005, Valtorta *et al.*, 1996, Schneider *et al.*, 1984), mayor producción de leche (Valtorta *et al.*, 1996, Schneider *et al.*, 1984, Collier *et al.*, 1981, Roman-Ponce *et al.*, 1977), mayor consumo de materia seca (Schneider *et al.*, 1984), mayor contracciones ruminales (Collier *et al.*, 1981) y menor contenido de células somáticas (Kendall *et al.*, 2007). Busby y Loy (1996) en un análisis de la ola

de calor ocurrida en Iowa en 1995, observaron que la proporción de animales muertos era menor para aquellos lotes que disponían de sombra (0,2 vs 4,8 % con y sin acceso a sombra, respectivamente). En este sentido, se ha observado que la sombra tiene un impacto importante en las respuestas fisiológicas (frecuencia respiratoria, temperatura corporal) de los animales expuestos a las diferentes categorías de ITH (Livestock Weather Safety Index, Livestock Conservation Institute, citado por Nienaber *et al.*, 2004) sobre todo en las categorías de peligro y emergencia (Brown-Brandl *et al.*, 2005b). A nivel nacional se ha evaluado el efecto de acceso a sombra encontrando tanto resultados favorables en producción de leche (Padula y Rovira, 1999, Azanza y Machado, 1997) como no efecto en la misma (González, 2004, Saravia, 2009). Padula y Rovira (1999) observaron que el acceso a sombra no tuvo efecto en el contenido de sólidos (grasa y proteína) y el peso corporal. Sin embargo, Azanza y Machado (1997) encontraron efectos positivos en la composición de la leche (5% y 6% más de grasa y proteína para el tratamiento sombra) y en las respuestas fisiológicas de los animales con acceso a sombra (menor temperatura rectal y frecuencia respiratoria), pero sin efecto en peso corporal. Sin embargo, a pesar de que la sombra disminuye la acumulación de calor producido por la radiación solar, no hay efecto en la temperatura y humedad relativa del aire, por lo que en climas cálidos y húmedos es necesario enfriamiento adicional (West, 2003).

1.4.1.2. Ventilación forzada

Se basa en el aumento de las pérdidas por convección, pudiendo ser negativa cuando el aire que se hace circular sobre los animales está excesivamente caliente. Se han observado mermas en la temperatura rectal (Younas *et al.*, 1993) y en la frecuencia respiratoria (Berman *et al.*, 1985). Sin embargo cuando es comparado con otros sistemas de enfriamiento no siempre se obtienen respuestas fisiológicas y productivas similares (Lin *et al.*, 1998). En este sentido, Nääs y Arcaro (2001) al agregar ventilación a animales bajo sombra, obtienen mejoras en la producción de leche, sin embargo cuando además se introduce un sistema de humedecimiento del animal, la producción de leche se eleva aún más. Arcaro *et al.* (2005) observaron efectos similares de la ventilación y ventilación más humedecimiento en el contenido

de grasa, cuando los tratamientos eran realizados en tres sesiones de 30 minutos en el corral de espera. Sin embargo no reportan mejoras en la producción de leche y en el contenido de proteína.

1.4.1.3. Humedecimiento del los animales

Permite aumentos en las pérdidas de calor por evaporación, ya que se suministra agua extra que se evapora de la superficie del animal. Las gotas producidas por los aspersores deben de ser suficientemente grandes como para penetrar la cubierta del animal. Se han encontrado beneficios en la utilización de este sistema de enfriamiento, como mermas en la temperatura rectal y frecuencia respiratoria sin lograr aumentos en la producción de leche, en un trabajo realizado en sistemas pastoriles, al comparar el efecto de uso de sombras, aspersores y la combinación de ambos en el corral de espera (90 min) luego del ordeño vespertino (Kendall *et al.*, 2007). Estos autores también observaron que temperatura vaginal de los animales que recibieron aspersión se mantuvo 0,2°C por debajo del tratamiento control por 6 horas postratamiento. Se ha encontrado incrementos en el consumo, en la eficiencia de utilización de los alimentos y en la tasa de ganancia de animales sometidos a aspersión y sombra (Morrison *et al.*, 1973). El efecto del humedecimiento puede ser negativo en ambientes con exceso de humedad, o si el tamaño de gota no es el adecuado, ya que se satura el aire, y el animal pierde la vía más importante de disipación de calor (Armstrong, 1994). Es por esta razón que se ha trabajado con la combinación de estos dos métodos.

La combinación de aspersores y ventiladores es una de las alternativas propuestas, ya que el reemplazo frecuente de aire (por una mayor velocidad del aire) evita la acumulación de humedad en la capa de aire que rodea al animal y así se mantiene el gradiente de humedad entre la superficie del animal y el aire circundante que permite una evaporación continua. Como la superficie del animal puede retener sólo una pequeña cantidad de agua, es posible la combinación de períodos de mojado y ventilación sucesivos. Flamenbaum *et al.* (1986) concluyeron que el enfriamiento (ciclos de mojado y ventilación) 5 veces al día por 30 min mantiene la temperatura

del animal en un nivel de confort. Además encontraron que el mojado del animal por 20-30 segundos es más efectivo que 10 segundos, y que enfriamientos de 15 min, 30 min, 45 min logran disminuir 0,6, 0,7 y 1°C la temperatura del animal, respectivamente. El uso de aspersión y ventilación en el corral de espera (30 min) en los dos ordeños, asociado a un encierre de 10:00 a 17:00 h bajo sombra, mejoró la respuesta a las olas de calor (8,7 y 9,4% de disminución en la producción de leche durante la ola de calor, para el tratamiento refrigerado y no refrigerado, respectivamente) y la recuperación posterior (8,2 y 2,9% de recuperación en la producción de leche para el tratamiento refrigerado y no refrigerado, respectivamente) (Valtorta *et al.*, 2004). Resultados similares han sido reportados por Valtorta *et al.* (2002). Trabajos realizados comparando el efecto de la sombra, y de la sombra con ventilación y aspersores, muestran mayores producciones de leche (Gallardo *et al.*, 2005, Igono *et al.*, 1987), mayores ganancias diarias (Invernizzi y Marzziotte, 1998), mayor consumo (Igono *et al.*, 1987), y menor temperatura rectal y frecuencia respiratoria (Gallardo *et al.*, 2005, Invernizzi y Marzziotte, 1998, Igono *et al.*, 1987). Otra alternativa es la combinación de neblinas y ventilación forzada (evaporative cooling). En este caso se utilizan aspersores que generan una fina niebla que debe evaporarse antes de llegar al animal. Este sistema produce enfriamiento del aire, que al circular por los animales provoca pérdidas de calor por convección. Es recomendado para ambientes secos y cálidos (Armstrong, 1994). Predicciones indican que una reducción en la temperatura ambiente, es marginal a humedades mayores a 45% (Berman, 2005), cuestionado su uso en ambientes con alta humedad relativa, ya que la evaporación del agua depende de la capacidad del ambiente de aceptar vapor de agua. Es por esta razón que el mismo debe de ser combinado con sistemas de ventilación que remuevan el aire cargado de humedad.

1.4.2. Desarrollo de biotipos tolerables y manejos nutricionales

Las respuestas al estrés calórico son diferentes entre biotipos (Finch, 1986), siendo los *Bos indicus* menos sensibles al estrés por calor que los *Bos taurus*, ya que logran mantener la temperatura rectal más constante, posiblemente por una mayor densidad de glándulas sudoríparas (Dowling, 1955) y mayor tasa de sudoración (Finch *et al.*,

1982). A nivel regional, Leva *et al.* (2005), no encontraron diferencias entre biotipos de raza Holando y Jersey × Holando en la temperatura rectal y frecuencia respiratoria. Sin embargo, Saravia (2009) reporta menor temperatura rectal a las 15:00 horas para los animales Jersey en comparación con Holando, y una mayor producción de leche (11%) corregida por sólidos. Se ha sugerido que la selección genética por tolerancia al estrés puede ser posible, pero la selección continua hacia mayores producciones sin tomar en cuenta la tolerancia al estrés por calor puede resultar en mayores susceptibilidades en los animales (West, 2003).

Para mantener la termoneutralidad y la homeostasis durante el estrés por calor los animales cambian sus requerimientos energéticos o de ciertos nutrientes, grasa de la dieta, proteína, agua, y minerales y vitaminas (Beede y Collier, 1986). Se estima que los requerimientos energéticos de mantenimiento se incrementan de 10 a 30% al pasar de 18-20°C a 30-40°C, como resultado de un aumento en los mecanismos de pérdida de calor (NRC, 1981). Por esto incrementar el contenido energético de la dieta es una buena estrategia para disminuir las pérdidas por estrés calórico (NRC, 1981; Beede y Collier, 1986). El uso de algunos ingredientes de las dietas pueden contribuir a la menor producción de calor (West, 2003), algunas pasturas y forraje conservados de baja calidad poseen una menor densidad energética y son fuente de fibras de lenta tasa de pasaje y digestión y contribuyen en mayor medida a generar un mayor calor metabólico (Gallardo y Valtorta, 2011). Por esto, la utilización de forrajes de alta calidad y la suplementación con concentrados para incrementar la densidad energética y balancear las raciones, mejora el desempeño animal (Gallardo y Valtorta, 2011, West, 2003, Beede y Collier, 1986). Las dietas así formuladas se pueden definir como “dietas frías”, haciendo referencia a la disminución del incremento calórico originado durante la fermentación y metabolismo (Gallardo y Valtorta, 2011). Los animales bajo estrés calórico son más susceptibles a presentar acidosis ruminal (Kadzere *et al.*, 2002), lo que debe de ser tomado en cuenta.

Desde el punto de vista térmico, en términos promedio en el SW del país la ocurrencia de condiciones meteorológicas adversas para animales lecheros es menor

que en las regiones ubicadas al N del Río Negro (ITH promedio mensuales superiores a 72). Sin embargo, la cuantificación del impacto negativo del estrés calórico sobre vacas lecheras de elevada productividad es escasa. La cuantificación de la respuesta y la utilización de medidas para mitigar este posible efecto adverso, se proponen en el siguiente trabajo.

1.5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Como hipótesis general del trabajo se ha planteado que durante el verano en La Estanzuela (SW del Uruguay) se dan condiciones meteorológicas adversas que reducen la productividad de vacas lecheras en lactación. El objetivo general de esta tesis fue evaluar el efecto de las condiciones meteorológicas adversas sobre el desempeño productivo de las vacas lecheras en el SW de Uruguay.

El abordaje de la problemática estival se realizó a través de dos trabajos. El primero de ellos “Caracterización del régimen agroclimático de olas de calor de La Estanzuela” tiene como hipótesis de trabajo que durante el verano en La Estanzuela (SW del Uruguay) ocurren eventos extremos (olas de calor) de diferente severidad. El objetivo es caracterizar del régimen agroclimático de olas de calor en la localidad de La Estanzuela (SW del Uruguay).

Las siguientes hipótesis fueron planteadas en torno al segundo trabajo “Efecto de diferentes medidas de mitigación del estrés por calor en vacas lecheras”:

- i. Animales en lactancia temprana (E1) son más sensibles al estrés por calor, reflejándose en una menor productividad.
- ii. Animales en E1 presentaran una mayor respuesta productiva a las medidas de mitigación que animales en lactancia tardía (E2).
- iii. Utilización de diferentes medidas de mitigación reducen el efecto negativo de las condiciones meteorológicas adversas del verano sobre la productividad.

Los objetivos de trabajo fueron:

- i. evaluar el efecto de las condiciones meteorológicas estivales sobre el desempeño productivo de animales en diferente etapa de lactancia.
- ii. evaluar la respuesta productiva, fisiológica, comportamental, y metabólica al acceso a sombra artificial asociado o no a aspersión y ventilación en el corral de espera de animales en diferentes etapas de lactancia.
- iii. evaluar el efecto del encierro con acceso a sombra artificial asociado o no a aspersión y ventilación en el corral de espera sobre la respuesta productiva, fisiológica, comportamental, y metabólica.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. CARACTERIZACIÓN DEL RÉGIMEN AGROCLIMÁTICO DE OLAS DE CALOR DE LA ESTANZUELA

Se utilizaron datos diarios de temperatura (máxima y mínima) y de humedad del aire (promedio diaria) obtenidas de la Estación Agrometeorológica del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela (latitud: 34° 20`S, longitud: 57°41`W y altitud: 81 m.n.m) desde el 1 de julio de 1965 al 31 de marzo de 2012. Se estimó el Índice de Temperatura y Humedad (ITH) en base a la metodología original de Thom (1959) según la fórmula: $ITH = 1,8 ta + 32 \times (0,55 - 0,55 \times HR) \times (1,8 ta - 26)$ donde ta es la temperatura del aire, en °C y HR es la humedad relativa expresada en base decimal (conversión de Valtorta y Gallardo, 1996).

Se trabajó con dos umbrales de ITH para definir olas de calor y umbrales de temperatura que se corresponden con el percentil 95 para la temperatura mínima y máxima calculada a partir de todos los datos disponibles (Della-Marta *et al.*, 2007). Se consideró ocurrida una ola de calor severa (OCS) si durante al menos tres días consecutivos o más se cumple lo siguiente: ITH promedio diario >75 (Cruz, 2009) ó $ITH > 72$ (Valtorta *et al.*, 2004), las temperaturas mínimas diarias $\geq 20,0$ °C, las temperaturas máximas diarias $\geq 31,9$ °C. Si no se cumplía con alguno de los criterios anteriores fue considerada ocurrida una ola de calor leve (OCL). Para ambos casos, la ola no se interrumpía si solo en un día no se alcanzaba estos umbrales. Cada período anual se consideró iniciado el 1 de julio de un año y finalizado el 30 de junio del año siguiente. Para caracterizar el régimen agroclimático de olas de calor se determinó: el porcentaje de años con olas de calor (OCS y OCL), el porcentaje de años con solamente OCL u OCS, las fechas medias de inicio y finalización del período con OC (POC), la duración promedio (días) del mismo, y las fechas extremas de comienzo de la primera y última OC. Además, la duración media (días) de las OCS y OCL para el promedio del período.

2.2. EFECTO DE DIFERENTES MEDIDAS DE MITIGACIÓN DEL ESTRÉS POR CALOR EN VACAS LECHERAS

2.2.1. Localización y período experimental

El trabajo se realizó en la Estación Experimental del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), La Estanzuela, Ruta 50 km 11, Departamento de Colonia, Uruguay (latitud: 34°29` S, longitud: 57°44` O y altitud: 81 m.n.m) durante el período comprendido entre el 10 diciembre de 2012 (día experimental=0) y el 1 de marzo 2013.

2.2.2. Animales y tratamientos

Se utilizaron 39 vacas Holando multíparas, no gestantes del rodeo experimental de INIA La Estanzuela. Tomando en cuenta: número de lactancias (media \pm DE: 2,5 \pm 1,34; min: 1; max: 6), producción de leche de la lactancia anterior (media \pm DE 8735 \pm 1077 L) y de la fase de monitoreo (media \pm DE: 22,0 \pm 1,75 L/día), condición corporal (media \pm DE: 3,1 \pm 0,51 unidades) y peso corporal al inicio del experimento (media \pm DE: 557 \pm 73 kg) los animales fueron estratificados y asignados al azar a uno de los seis tratamientos evaluados que se corresponden con el arreglo factorial de tres medidas de mitigación del estrés calórico (ambientes) y dos etapas de lactancia.

Las medidas de mitigación fueron:

- Control (SOL) (n=13): encierro de 09:00 a 05:00 h sin acceso a medida de mitigación del estrés (sol)
- Sombra (SOM) (n=13): encierro de 09:00 a 05:00 h con acceso a sombra artificial.
- Sombra + Aspersores + Ventiladores (SAV) (n=13): encierro de 09:00 a 05:00 h con acceso a sombra artificial, asociado a dos sesiones de ventilación y aspersión en el corral de espera, en dos momentos del día al finalizar la sesión de pastoreo (09:00 h) y antes del ordeño vespertino (15:30 h).

El sombreado consistió en redes plásticas de color negro de 80% intercepción de la radiación solar, con una disponibilidad de 4,5 m² por vaca en una construcción de

orientación este-oeste, con una altura de 3,5 m en la pared sur y una declinación de 15% hacia el norte. El mismo se encontraba cercano a las instalaciones del tambo, para minimizar la distancia recorrida por los animales del tratamiento SAV desde la sombra al corral de espera, donde se realizaba la aspersión y ventilación bajo techo (corral de espera adjunto a la sala de ordeño). Durante cada sesión de aspersión y ventilación (30 min) los animales eran ventilados continuamente (Magnum 52``, GEA, 32980 CFM, altura: 3 m, diámetro: 1,3m) y asperjados (300 L/h) por dos minutos en dos momentos: al inicio de cada sesión y al minuto 15.

Las etapas de lactancia evaluadas fueron: temprana (E1: 18 vacas; 10 \pm 14,3 días de lactancia a inicio del experimento) y tardía (E2: 21 vacas; 201 \pm 45,8 días de lactancia a inicio del experimento).

2.2.3. Manejo de los animales

Los animales se ordeñaban dos veces al día (05:00 y 16:00 h). Luego del ordeño matutino eran llevados a un único potrero donde realizaban una sesión de pastoreo hasta las 09:00 h, después de la cual se trasladaban a tres corrales con o sin sombra artificial (según ambiente: SAV, SOM y SOL) ubicados en las inmediaciones del tambo (100 m) donde recibían agua *ad libitum* y una ración total mezclada a base de ensilaje y concentrados (RTM). Antes de ingresar al corral (09:00 h) y antes del ordeño vespertino (15:30 h) los animales del grupo SAV eran llevados hasta el corral de espera donde recibían la sesión de aspersión y ventilación. Luego del ordeño vespertino todos los animales eran retornados al encierro donde permanecían hasta las 05:00 h del día siguiente momento en el cual eran llevados para el ordeño matutino. La alimentación consistió en una sesión de pastoreo en pasturas mezcla de alfalfa (*Medicago sativa*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y festuca (*Festuca arundinacea*), en franjas diarias, con una disponibilidad de forraje promedio de 2914 \pm 585 kgMS/ha y una oferta de forraje de 10 kgMS/a/d. Los ingredientes y composición de la RTM administrada se detallan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Ingredientes en la mezcla de ensilaje y concentrados y composición química del los alimentos

	RTM	Períodos de medición de consumo ³		
		1	2	3
Ingredientes (% de MS)				
Ensilaje de Raigrás	21.6	.	.	.
Ensilaje de Pradera	16.5	.	.	.
Expeler de Soja	12.3	.	.	.
Grano de Maíz	24.1	.	.	.
Grano de Sorgo	19.2	.	.	.
Expeler Algodón	4.7	.	.	.
Bicarbonato de Sodio	1.3	.	.	.
Mezcla de minerales ¹	0.3	.	.	.
Disponibilidad de forraje (kgMS/ha)		3551 ±447	3340 ±695	2251 ±236
Composición química²				
MS	66,2	33,9	32,3	38,5
PC	18,2	9,7	13,7	18,7
FDN	35,5	48,1	5,1	41,6
FDA	21,5	30,0	34,6	35,2
EE	1,9			
Cenizas	6,1	11,09	11,85	10,44
ENI ⁴	1,55	1,30	1,33	1,40

¹La mezcla contiene por kg de producto: 120 g de fosforo, 165 g de calcio, 40 g de magnesio, 40 g de azufre, 70 g de potasio, 1,4 mg de cobre, 80 mg de yodo, 30 mg de cobalto, 1,4 mg de hierro, 3,2 mg de manganeso, 5,0 mg de zinc, 38 mg de selenio, 40 mg de cromo. ²MS: Materia seca (%); PC: proteína cruda (%MS); FDN: Fibra detergente neutro (%MS); FDA: Fibra detergente ácido (%MS); EE: extracto etéreo (%MS); ENI: Energía Neta de Lactación (Mcal/kgMS). ³Periodos de medición de consumo: 1 (día experimental: 30 y 31), 2 (día experimental: 49, 50 y 51) y 3 (día experimental: 70, 71 y 72). ⁴Energía Neta de lactación: ENI, calculada según NRC (2001).

2.2.4. Caracterización del ambiente térmico

La temperatura del aire promedio diaria media (Tmed), máxima (Tmax) y mínima (Tmin) y el Índice de Temperatura y Humedad (ITH) promedio diario y horario fueron utilizados para caracterizar el ambiente térmico. El ITH fue calculado a través de la conversión de Valtorta y Gallardo (1996) (descrita en el punto 2.1) utilizando los registros diarios de temperatura y humedad del aire de la estación meteorológica convencional (sensor: HMP45C, Campbell Scientific, Inc. Barcelona, España) y los registros horarios de temperatura y humedad del aire de la estación meteorológica automática (Logan, Campbell Scientific Inc. Barcelona, España), ambas ubicadas en el Parque Agrometeorológico de La Estanzuela cercana al lugar experimental (1 km). El ITH horario fue utilizado para el cálculo de las horas diarias con ITH superior a 72.

2.2.4.1. Esferas de Vernon

Se realizaron registros horarios de la temperatura de las esferas de Vernon (Tev) (Berbigier, 1988) ubicadas bajo la sombra artificial (dos por corral con acceso a sombra), al sol y en el corral de espera (aspersión y ventilación). Las temperaturas dentro de las esferas de cobre de color negro mate de 16 cm de diámetro fueron registradas electrónicamente cada quince minutos con sensores Kooltrak (iButtons-TMEX modelo DS1921, Dallas Semiconductors, Dallas, TX). Para formar los registros de temperatura de las esferas del ambiente SOM y SAV se utilizaron las temperaturas de las esferas al SOL de 05:00 a 09:00 h, momento en el cual los animales estaban pastoreando, combinados con las temperaturas de las esferas ubicadas en las respectivas sombras (09:15 a 04:45 h). Para formar los registros del ambiente SAV, además se combinaron con las ubicadas en la sala de espera en los momentos en que los animales estaban en la misma.

El Black Globe-Humidity Index (BGHI; Buffington *et al.*, 1981) fue calculado para cada uno de los ambientes asociando la Tev y la temperatura punto de rocío (TPR), a través de la siguiente fórmula: $BGHI = Tev + 0,36 \times TPR + 41,5$. La TPR horaria fue

calculada a través de los datos de temperatura del aire y humedad relativa de la estación automática ($TPR = Ta + 35 \times \log_{10} (HR/100)$).

2.2.4.2. Sala de espera

Se realizaron registros de temperatura y humedad del aire y velocidad de viento antes y al finalizar cada sesión de aspersión y ventilación. La velocidad de viento era además determinada en dos oportunidades, al minuto 10 y 20 de iniciada la sesión de aspersión y ventilación. Las determinaciones fueron realizadas a través de un termómetro, higrómetro y anemómetro portátil con una precisión 0,1°C, 0,1% y 0,1m/s, respectivamente (Control Company, Texas, USA). Fue calculado el cambio registrado en la temperatura y humedad del aire como la diferencia entre la temperatura y humedad registrada antes y al finalizar cada sesión y la velocidad de viento promedio, máxima y mínima alcanzada.

2.2.5. Determinaciones en los animales

2.2.5.1 Productivas

La producción de leche (PL) se registró diariamente y al menos dos veces por semana (ver anexo 2) se extrajeron muestras de leche compuestas (2 ordeñes) para el estudio de su composición en términos de: grasa (G), proteína (P) y lactosa (Lac) a través del análisis infrarrojo medio (Bentley Model 2000, Bentley Instruments Inc., Chaska, MN, USA) de acuerdo a la metodología propuesta por IDF (2000). La concentración de nitrógeno ureico en leche (MUN; g/dL) fue determinada al menos una vez por semana (ver anexo 2) a través del método de pH diferencial (MilkoScan FT+). La PL fue corregida por sólidos según la siguiente ecuación: $LCS (kg) = (0,327 \times PL) + (12,95 \times kgG) + (7,20 \times kgP)$.

2.2.5.2. Peso vivo y condición corporal

Los días experimentales 7, 24, 35, 49, 70 y 81 se pesaron (PV) todos los animales antes del ordeño matutino con balanza digital sin desbaste previo. Además se realizó la evaluación de la condición corporal (CC) utilizando para esto la escala de 5 puntos (Edmonson *et al.*, 1989). La misma estuvo a cargo de la misma persona en las

distintas evaluaciones. Fue calculada la variación diaria de peso vivo y condición corporal durante el experimento.

2.2.5.3. Fisiológicas

Al menos una vez por semana (ver anexo 2), en el mismo día, en todos los animales, se registró temperatura rectal (TR) y frecuencia respiratoria (FR), en bretes adyacentes al tambo. Las mismas se efectuaron por la mañana (TR_{am} y FR_{am}), previo al ordeño matutino (4:00 h) y por la tarde (TR_{pm} y FR_{pm}) antes del ordeño vespertino (15:15 h) en los animales del ambiente SOL y SOM y luego de la sesión de aspersión y ventilación y del ordeño (16:15 h) en los animales del ambiente SAV. La TR fue determinada mediante termómetro digital (MC-245-Omron Healthcare Inc., Forest. Illinois, USA; 0,1°C de precisión) y la FR por apreciación visual del movimiento de los flancos durante un minuto, siendo expresada como respiraciones por minuto (r.p.m.). La acumulación de calor (AC) fue calculada como la diferencia entre la TR_{am} y la TR_{pm} (Sprinkle *et al.*, 2000).

2.2.5.4. Consumo

El consumo de RTM, forraje y agua fue determinado individualmente en 30 animales (n=5 por tratamiento), tomando como criterio de selección la producción de leche de los mismos en los primeros 20 días del periodo experimental. El consumo fue determinado en tres períodos: período 1 (días experimentales: 30 y 31), período 2 (días experimentales: 49, 50 y 51) y período 3 (días experimentales: 70, 71 y 72). El consumo de forraje (CMSf) fue estimado en parcelas individuales de una superficie de 50m² y con una oferta de forraje por animal de 17,5, 16,5 y 11,2 kgMS/a/d en el período 1, 2, 3 de medición del consumo respectivamente. El CMSf fue estimado como la diferencia entre el forraje ofrecido y rechazado, determinados por el método de doble muestreo de Haydock y Shaw (1975) a través de un cuadrado de 50 cm x 20 cm, con 5 puntos en la escala y 5 repeticiones por punto, cortando el forraje al ras del suelo. El consumo de RTM y agua se determinó en corrales individuales de 60 m² de superficie, los que presentaban una superficie bajo sombra artificial en aquellos ambientes con acceso a la misma (SOM y SAV). El consumo de RTM se

determinó individualmente cómo diferencia entre el alimento ofrecido y rechazado en los comederos. El alimento se pesaba y suministraba a las 09:00 y 16:00 h. El rechazo de alimento se pesaba a las 09:00 h cuando además se retiraba para ofrecer la nueva alimentación. Al mismo momento fue determinado el consumo de agua individual, a través de la lectura de rechazo de agua en los bebederos. Se calculó la eficiencia de consumo de agua como los litros de agua por kg de MS consumido.

2.2.5.5. Balance energético

El balance energético (BE) fue calculado en 30 vacas durante los períodos de medición del consumo como la diferencia entre la energía neta consumida (ENI consumida) y la energía neta requerida para mantenimiento (ENm) y lactación (ENI). La ENI consumida se obtuvo de multiplicar el consumo de alimento por la energía contenida en el alimento que fue calculada como es descrito en el NRC (2001). La ENm se calculó usando la siguiente ecuación (NRC, 2001): $ENm = 0,08 \times PV^{0,75}$ y además se estimaron los requerimientos asociados a caminata ($ENc = distancia \times 0,00045 \times PV$; distancia asumida= 1 km/d) y actividad en pastoreo ($ENp = 0,0012 \times PV$) (NRC, 2001). Los valores de PV utilizados fueron realizados los días experimentales 35, 49 y 70 que se corresponden a los períodos 1, 2 y 3 de medición del consumo. El promedio de producción de leche (PL) y el contenido de G, P y Lac (%) durante los períodos de medición del consumo fueron utilizados en la siguiente ecuación para calcular la ENI: $ENI = ((0,0929 \times G\%) + (0,0547 \times P\%) + (0,0395 \times Lac\%)) \times PL$ (NRC, 2001).

2.2.5.6. Comportamiento

En los días experimentales 7, 24, 39, 52, 66 y 79 fue evaluado el comportamiento tanto en pastoreo como en el corral. Se observó el comportamiento de los animales desde las 06:00 a las 20:00 h, cada intervalos de 15 minutos registrando la actividad en la que se encontraba cada animal. Durante la sesión de pastoreo (06:00 a 09:00 h) fueron registradas las siguientes actividades: pastoreo, rumia y descanso. Durante el encierro (09:00 a 20:00 h) fue evaluada la postura del animal (echados, parados), rumia y la utilización de la sombra. Además fue registrado el número de veces que

los animales bebían agua por turno de observación (frecuencia de consumo de agua; FCA).

2.2.5.7. Metabólicas

Las muestras de sangre fueron extraídas de 30 animales, en los días experimentales 9, 17, 29, 37, 53 y 65 previo al ordeño de la mañana, por venipunción de la vena caudal. La sangre fue colectada en dos tubos, uno con anticoagulante g (Wiener lab, Rosario, Argentina) para la determinación de glucosa y otro para la extracción de suero. Las muestras se centrifugaron a 6000 rpm durante 15 min y el plasma fue extraído y colocado en tubos eppendorf, los que se almacenaron a -20 °C hasta su análisis. Fueron determinadas las concentraciones de colesterol (Col), glucosa (Glu), proteína total (PT) y albúmina (Alb) por espectrofotometría utilizando kits comerciales (Colesterol Oxidasa/peroxidasa, Glucosa oxidasa/Peroxidasa, Biuret, y Verde de Bromocresol, respectivamente; ByoSistem S.A, Barcelona, España) en el Laboratorio de Suelos, INIA, La Estanzuela, Colonia, Uruguay. La determinación se realizó por duplicado. El coeficiente de variación intraensayo en la determinación de glucosa para el control I ($92,1 \pm 5,05$ mg/dL) fue de 5,5% y para el control II ($256,4 \pm 5,81$ mg/dL) de 2,2%. En el caso de colesterol el coeficiente de variación intraensayo para el control I ($158,9 \pm 7,90$ mg/dL) fue de 4,9% y para el control II ($245,5 \pm 15,93$ mg/dL) 6,5%. En la determinación de proteína total el coeficiente de variación intraensayo para el control I ($54,4 \pm 7,45$ g/L) fue 13,1% y para el control II ($83,3 \pm 7,05$ g/L) 8,5%. El coeficiente de variación intraensayo en la determinación de albumina para el control I ($29,1 \pm 3,83$ g/L) fue 13,2% y para el control II ($41,7 \pm 2,76$ g/L) 6,6%. Las globulinas (Glob) se estimaron por diferencia entre las proteínas totales y albuminas. La concentración de Insulina (Ins) fue determinada en el Laboratorio de Técnicas Nucleares, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay, usando un ensayo inmunoradiométrico de un kit comercial (DIASource Immuno Assays S.A, Nivelles, Belgica). La sensibilidad del ensayo fue 2,16 μ UI/mL. El coeficiente de variación intraensayo para el control I (25,8 μ UI/mL) y el control II (97,3 μ UI/mL) fue 6,6 % y 4,5 %, respectivamente.

2.2.5.8. Determinaciones en los alimentos

La disponibilidad de forraje fue estimada semanalmente para determinar el área a asignar diariamente. Para su determinación se utilizó el método de doble muestreo de Haydock y Shaw (1975) a través de un cuadrado de 50 cm x 20 cm, con 5 puntos en la escala y dos repeticiones, cortando el forraje al ras del suelo. Los días experimentales 30, 49 y 70 se tomaron muestras de forraje a ras de suelo para el análisis de su composición química. En el análisis de la composición química de forraje y componentes del RTM se determinó el contenido de materia seca (MS), cenizas (C), proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) en el Laboratorio de Nutrición de INIA, La Estanzuela. El contenido de MS y de cenizas fue determinado como fue propuesto por AOAC (1990). El contenido de PC (nitrógeno x 6,25) fue determinado a través del procedimiento Kjeldahl (AOAC, 1990), y el EE utilizando un extractor Soxhlet durante 6 horas con éter de petróleo como solvente. Según la metodología de Van Soest *et al.* (1991) fueron obtenidos los contenidos de FDA y FDN.

2.2.5.9. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, donde las vacas fueron las unidades experimentales y se estratificaron según, número de lactancia, producción de leche de la lactancia anterior (vacas de época de parición primaveral) producción de leche a inicio del ensayo (vacas de época de parición otoño-invernal), peso vivo y estado corporal. Se dividieron en dos grupos según etapa de lactancia y se formaron bloques homogéneos de tres vacas y luego cada vaca se asignó al azar a uno de los tres ambientes.

Los registros de PL (kg/a/día), LCS (kg/a/día), de composición de leche (G, P y Lac (% y kg/a/día), MUN, (mg/dl), las variables fisiológicas (TR_{am} , TR_{pm} , FR_{am} , FR_{pm} , AC), la concentración de metabolitos en sangre (Col, Glu, PT, Alb, Glob, Ins), la CC y PV se analizaron ajustando un modelo lineal general con medidas repetidas en el tiempo. Para el análisis se utilizó el procedimiento Mixed del paquete estadístico SAS (versión 9.2; SAS Institute, Cary, NC, 2009). El efecto “día experimental” fue

considerado como el factor de medidas repetidas. En el modelo incluyó como efectos fijos los bloques, ambientes (SOL, SOM y SAV), etapa de la lactancia (temprana y tardía), el día experimental, la interacción ambiente \times etapa de lactancia, la interacción ambiente \times etapa de lactancia \times día experimental y como efecto aleatorio la vaca. La estructura de covarianza utilizada fue AR(1)+RE. La PL, LCS, la producción y concentración de G, P, Lac y MUN, el PV y la CC al inicio del ensayo y la concentración de albumina antes de iniciado los tratamientos fueron incluidas como covariables en los modelos de análisis correspondientes. Para LCS, G y P fueron realizados contrastes ortogonales entre los tratamientos con sombra artificial (SAV-SOM) y el tratamiento SOL en ambas etapas de lactancia.

El consumo de forraje, RTM y total (kg/a/d) y el consumo de agua (L/a/d) fueron analizados ajustando un modelo lineal general con medidas repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento Mixed del paquete estadístico SAS (versión 9.2; SAS Institute, Cary, NC, 2009). El efecto “período” fue considerado como el factor de medidas repetidas. En el modelo incluyó como efectos fijos los bloques, ambientes (SOL, SOM y SAV), la etapa de lactancia (temprana o tardía), período, la interacción ambiente \times etapa de lactancia, la interacción ambiente \times etapa de lactancia \times período y como efecto aleatorio la vaca. Los días dentro de cada período fueron utilizados como repeticiones. El PV antes de iniciado los tratamientos fue incluido como covariable en los modelos.

Las variables de comportamiento fueron analizadas ajustando un modelo lineal generalizado de medidas repetidas en el tiempo a través del procedimiento GLIMMIX del paquete estadístico SAS (versión 9.2; SAS Institute, Cary, NC, 2009). Se asumió que la variable tuvo distribución binomial. Las probabilidades estimadas, se presentarán como porcentaje. La frecuencia de consumo de agua fue analizado a través de un modelo lineal generalizado de medidas repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento GENMOD del paquete estadístico SAS (versión 9.2; SAS Institute, Cary, NC, 2009), asumiendo una distribución Poisson de la variable.

Para caracterizar las series de temperatura de las esferas de Vernon y las series del BGHI se ajustaron modelos ARIMA (Auto Regressive Integrated Moving Average) con componente estacional, y para todos los tratamientos, el modelo elegido fue del tipo multiplicativo ARIMA (1,0,0)(1,1,1)₂₄ es decir un modelo autorregresivo con un componente estacional y un retraso de 24 horas (dado que se trataba de datos horarios de todos los días del experimento).

ARIMA(1,0,0)(1,1,1)₂₄

El modelo resultante se puede escribir como:

$$y_t = \mu + \phi_{1,1} y_{t-1} + \phi_{2,1} y_{t-24} + a_t + \theta_{1,1} a_{t-24}$$

donde

μ = intercepto

ϕ_{ij} = coeficientes de autocorrelación de las observaciones

θ_{ij} = coeficientes de autocorrelación de los residuales

a_t = secuencia de errores aleatorios

Las medias de los efectos significativos fueron comparadas usando el test de Tukey. Se utilizó un nivel de significancia crítico de 5%. Los resultados fueron expresados como media \pm error estándar (EEM). Las variables meteorológicas son expresadas como media \pm desvío estándar (DE).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CARACTERIZACIÓN DEL RÉGIMEN AGROCLIMÁTICO DE OLAS DE CALOR DE LA ESTANZUELA

Durante los 47 veranos estudiados ocurrieron 108 y 196 OC según se haya utilizado el umbral de ITH de 75 o 72 y existe un alto porcentaje de los años involucrados con la ocurrencia de eventos extremos (87 o 100%, según el umbral). El mayor número de olas de calor ocurrió en el mes de enero (79) y la menor cantidad en noviembre (7) y abril (2). Los meses de febrero (49), diciembre (38), marzo (21) presentaron una ocurrencia de OC intermedias. En el cuadro 2 se muestran las características más relevantes de las OC ocurridas. En cuanto al número y duración promedio de las OC encontrados por año nos estaría indicando la posibilidad de riesgo para animales de alta productividad. Ya que bajo condiciones en las que el ambiente térmico se torna estresante, (como las ocurridas durante las OC) los animales fallan en disipar el calor acumulado lo cual repercute en desempeño productivo. Este comportamiento fue observado, en Rafaela, Santa Fe, Argentina, en un trabajo que evaluó la producción de leche durante dos OC en vacas de alto nivel de producción (25 l/vaca/día) (Valtorta *et al.*, 2002) encontraron que hubo una reducción significativa del 17% en la producción de leche durante la primera ola (ITH_{medio}=74,5), pero en la segunda (ITH_{medio}=77,9), que ocurrió 20 días más tarde que la primera, la reducción de 4,2% no fue significativa pues las vacas aún no habían recuperado el nivel de producción previo a la primera ola de calor. Similares ITH fueron los observados en las OC de Colonia en este trabajo (cuadro 2). En Salto, NW del Uruguay, Saravia (2009) observó en vacas primíparas una disminución del 18% en la producción de leche, y valores similares en grasa y proteína durante la ocurrencia de una ola de calor severa (ITH_{medio} =77,2; 10d de duración).

Cuadro 2. Número y duración (días, $d \pm DE$) promedio de olas de calor (OC), olas de calor leves (OCL) y severas (OCS) según umbral de ITH por verano.

	ITH \geq 75	ITH \geq 72
Número de OC /verano	3 \pm 1,3	4 \pm 1,7
Número de OCL/verano	1 \pm 1,1	3 \pm 1,6
Número de OCS/verano	1 \pm 1,1	2 \pm 1,2
Duración OC (d)	4 \pm 1,8	5 \pm 2,5
Duración OCL (d)	4 \pm 1,4	5 \pm 2,1
Duración OCS (d)	5 \pm 2,1	6 \pm 2,9
ITH promedio OC	77 \pm 1,1	75 \pm 2,2
ITH promedio OCL	76 \pm 0,9	74 \pm 1,9
ITH promedio OCS	77 \pm 1,01	76 \pm 2,3

En el cuadro 3 se muestran las características más relevantes de las OC y del POC. Si comparamos los resultados de caracterización del POC correspondientes al umbral de ITH \geq 72 con los obtenidos por Valtorta *et al.*, (2008) para la provincia de Santa Fe, Argentina, se observa que el período con OC es mayor para esta localidad (124 días en promedio, iniciando el 11 de noviembre \pm 33 días y culminado el 15 de marzo \pm 23 días). Estas diferencias pueden ser debidas a la ubicación geográfica de ambas cuencas lecheras; mientras Santa Fé es continental, en Colonia la cercanía a una gran masa de agua como el Río de la Plata atenúa la ocurrencia de temperaturas extremas.

Hay que considerar el grado de aclimatación de los animales, por lo que crece la importancia de identificar las olas de calor extremas más tempranas y tardías en el inicio y fin de la estación más cálida ya que una OC moderada temprano o tarde en la estación estival puede tener el impacto productivo de un evento de mayor severidad (Nienaber y Hahn, 2007). Esto, por la falta de acostumbramiento y por la alta productividad en esos momentos del año en los rodeos lecheros, como las fechas encontradas para Colonia (en abr).

Cuadro 3. Porcentaje de veranos con al menos una ola de calor (OC), ola de calor leve (OCL) y ola de calor severa (OCS). Día de inicio y fin del periodo con ola de calor (POC) (días, $d \pm DE$). Duración media del POC y libre de OC. Fecha de OC extrema más temprana y tardía de la serie, según el umbral de ITH.

	ITH \geq 75	ITH \geq 72
Veranos con OC (%)	87	100
Veranos con OCS (%)	64	77
Veranos con OCL (%)	64	89
Inicio del POC (d)	188 \pm 20,4	177 \pm 22,2
Fin del POC (d)	223 \pm 29,9	237 \pm 23,3
POC (d)	34	61
Periodo libre de OC (d)	330	304
Inicio de OC más temprana	29 nov 2008	5 nov 1995
Fin de OC más tardía	20 feb 1992	25 abr 1970

El régimen de ocurrencia de olas de calor de La Estanzuela sugiere que durante el verano se presentarían situaciones de estrés calórico que afectarían el desempeño del rodeo lechero, lo que demuestra la importancia de realizar trabajos que evalúen el efecto del estrés por calor y de diferentes medidas de mitigación bajo estas condiciones.

3.2. EFECTO DE DIFERENTES MEDIDAS DE MITIGACIÓN DEL ESTRÉS POR CALOR EN VACAS LECHERAS

3.2.1. Caracterización del ambiente térmico

La Tmed, Tmax y Tmin promedio del aire durante el período experimental fue 22,6 \pm 2,96 °C, 28,3 \pm 6,78 °C, de 17,1 \pm 3,07 °C, respectivamente y la HR promedio de 68 \pm 9,0 % (mínimo: 46; máximo: 89). La Tmax y Tmin absoluta fueron de 35,8 °C (24 de diciembre de 2012) y 9,2 °C (26 de febrero de 2013), respectivamente. El ITH promedio para el período de análisis, 70,1 \pm 4,46 (mínimo: 60,4; máximo 81,7) fue inferior a 72, valor reportado como crítico para la producción de leche (Johnson *et*

al., 1961) y fue encontrando en el nivel normal de las categorías de estrés calórico según la magnitud del ITH (Livestock Weather Safety Index; Livestock Conservation Institute, citado por Nienaber *et al.*, 2003). Del análisis de la evolución de las variables meteorológicas durante el período experimental (figura 2), se desprende que tanto la temperatura mínima como la máxima superaron los umbrales establecidos en el estudio presentado anteriormente en solo 15 días (18% del período experimental). De estos, solamente 5 días, que no fueron consecutivos, superaron ambos umbrales simultáneamente. Por otro lado, si lo asociamos con el ITH promedio diario, concluimos que durante el período experimental no ocurrieron olas de calor conforme a los criterios establecidos en el trabajo 1. Un 40% de los días experimentales presentaron valores de ITH promedios diarios superiores a 72, de los cuales solamente el 42% presentó más de 14 h diarias con $ITH \geq 72$, lo que se asocia a una adecuada recuperación nocturna (Valtorta *et al.*, 2002) y es clave para mantener el desempeño productivo de los animales (Nienaber *et al.*, 2003). Sin embargo, recientemente se ha sugerido que animales de alta producción (Berman, 2005) y en lactancia temprana (Kadzere *et al.*, 2002) serían más sensibles al estrés por calor y por tanto el ITH crítico podría ser inferior a 72 (ITH crítico: 68; Zimelman *et al.*, 2009). Si tomamos en consideración este nuevo umbral, un 70 % del período experimental presentó valores superiores.

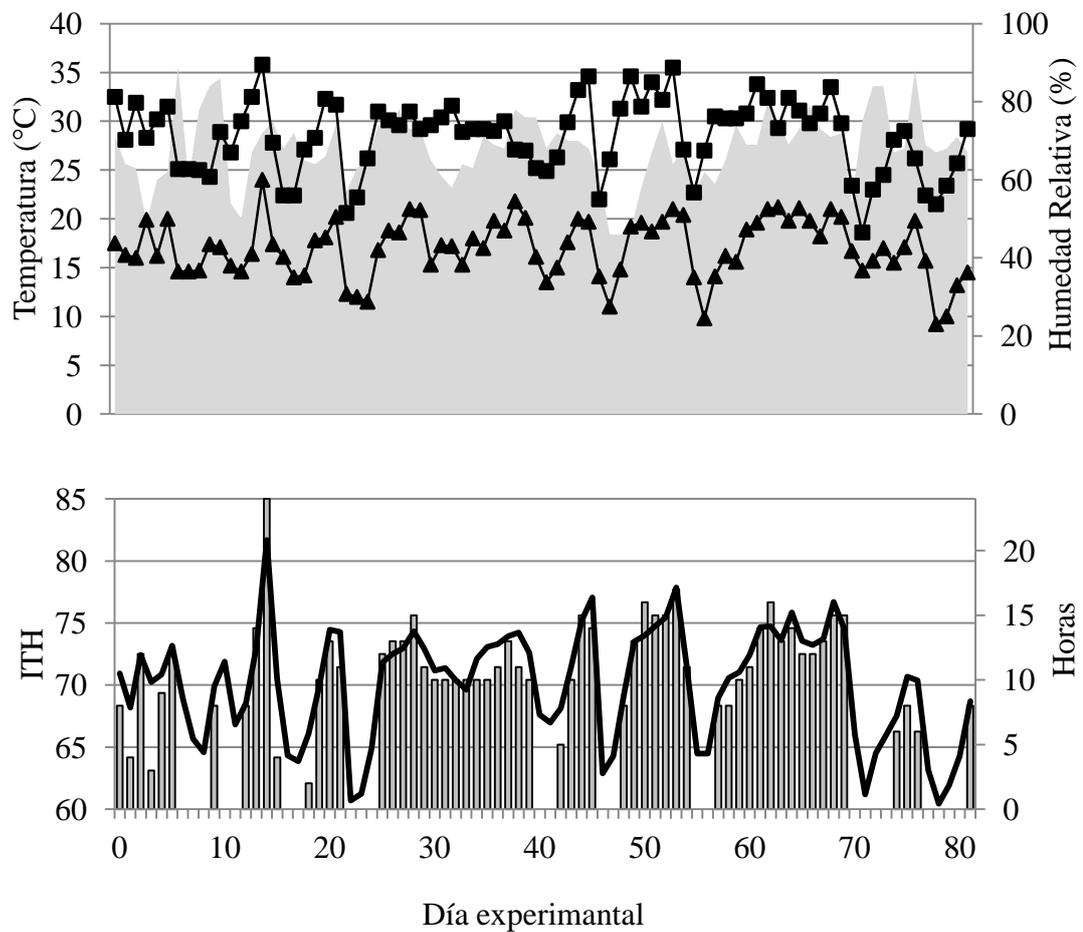


Figura 2 a. Temperatura máxima (■) mínima (▲) diarias, humedad relativa promedio diaria (gris), b. Índice de temperatura y humedad (ITH) promedio diario (—) y horas diarias con ITH superior a 72 (▨) durante el período experimental.

En el cuadro 4 se muestra el comparación entre los registros meteorológicos mensuales del verano 2012-2013 y las normales climatológicas 1980-2009 para la localidad de Estanzuela, Colonia (Castaño *et al.*, 2011). Se observa inferior temperatura mínima e ITH en el mes de enero y febrero respecto a las normales climatológicas, que asociada a la no ocurrencia de olas de calor, reflejarían que las condiciones meteorológicas para estos meses serían menos estresantes que los promedios históricos. En cambio, para el mes de diciembre, si solo se compara los registros meteorológicos correspondientes a los días experimentales (a partir del 10 de diciembre) con los registros históricos 1965-2012, la diferencia entre las Tmax

(+0,4 °C), Tmin (+0,5 °C) y Tmed (+0,4 °C) como el ITH (+0,7 unidades) fueron menores que las observadas en la comparación del mes completo, sin embargo sería aún superiores a las normales climatológicas.

Cuadro 4. Comparación de los registros meteorológicos (medias mensuales): temperatura del aire máxima (Tmax, °C) mínima (Tmin, °C) y media (Tmed, °C) y humedad relativa (HR, %) del período en estudio con las normales climatológicas 1980-2009 (NC)

	DIC ¹			ENERO			FEB		
	NC	2012	Dif	NC	2013	Dif	NC	2013	Dif
Tmax	27,4	28,5	1,1	28,9	29,0	0,1	27,6	28,0	0,4
Tmin	16,1	17,3	1,2	17,7	17,1	-0,6	17,3	17,0	-0,3
Tmed	21,7	22,8	1,8	23,3	23,1	-0,2	22,4	22,1	-0,3
HR	66	67,8	0,1	66	66,2	0,2	70	70,5	0,5

¹ Corresponde a los datos del mes completo.

3.2.1.1. Esferas de Vernon y Black Globe Humidity Index

Las Tev bajo las sombras artificiales (SAV y SOM) sólo mostraron diferencias significativas en dos horas diarias de tres días experimentales (figura 3), indicando la similitud entre los ambientes a los que accedían los animales. Sin embargo, las Tev al SOL difirieron significativamente entre 1 y 7 horas de las del ambiente SAV y SOM en el 50 % de los días experimentales, siendo la Tev promedio máxima registrada al SOL ($37 \pm 5,4$ °C) superior a la observada en el ambiente SOM ($33 \pm 4,2$ °C) y SAV ($32 \pm 4,0$ °C). Las diferencias se manifestaron entre las 12:00 y 19 horas, mientras que durante la noche, las Tev no mostraron diferencias significativas, indicando que los ambientes nocturnos fueron similares entre ambientes (Tev promedio mínimas: $18 \pm 3,0$ °C, $18 \pm 3,0$ °C, $17 \pm 3,0$ °C, para el SAV, SOM y SOL, respectivamente). Eran esperables diferencias en las temperaturas de las esferas el tratamiento SAV y SOM durante el período de aspersión y ventilación sobre todo en la sesión de la tarde pero las mismas no fueron detectadas por el ARIMA realizado.

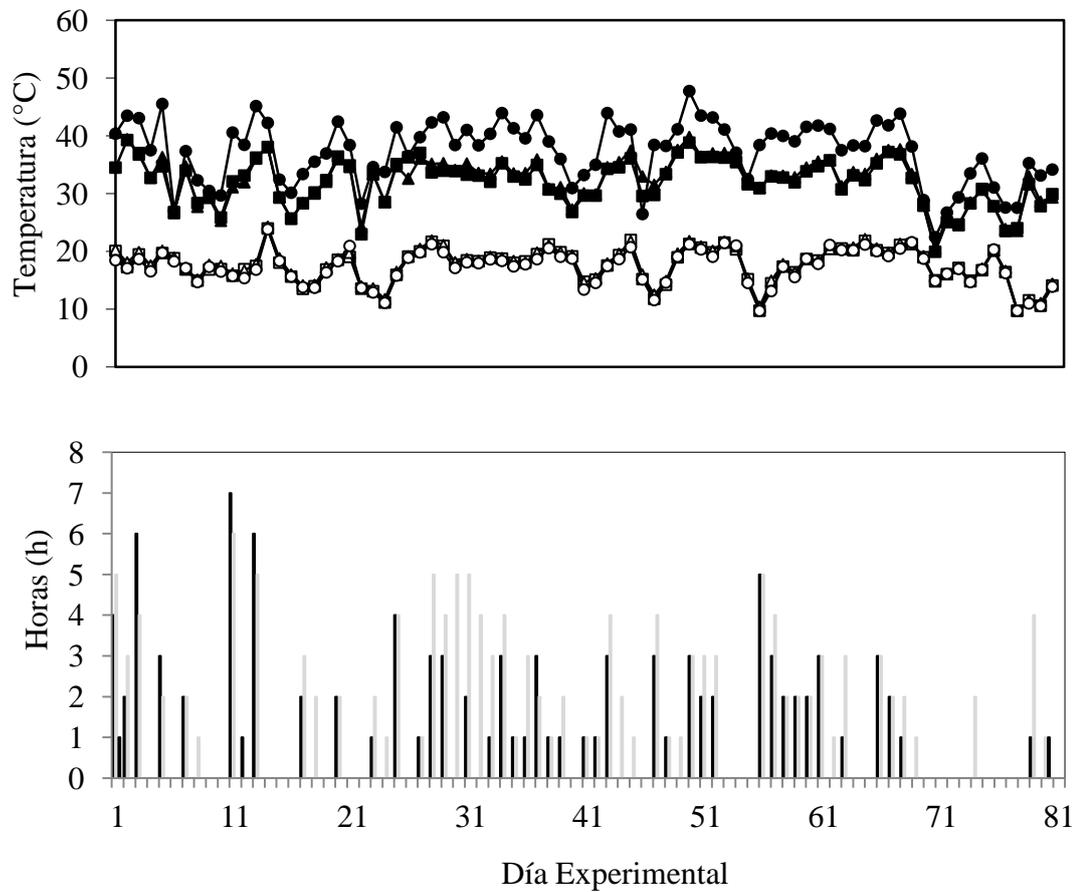


Figura 3. a Evolución de la temperatura máxima de las esferas de Vernon (°C) ubicadas en el tratamiento SAV (■), SOM(▲) y SOL(●) y la temperatura mínima registrada en el tratamiento SAV(□), SOM (Δ) y SOL (○). b. Cantidad de horas diarias en que las temperaturas de las esferas ubicadas en el tratamiento SAV son significativamente diferentes ($P < 0,05$) de las ubicadas en la SOM (SAV vs SOM; blanco), las temperaturas de la SOM son significativamente diferentes ($P < 0,05$) a las del SOL (SOM vs SOL; gris) y las temperaturas de las esferas del SAV son significativamente diferentes ($P < 0,05$) a las del SOL (SAV vs SOL; negro).

Similares resultados fueron obtenidos del análisis del BGHI, que muestra mayores valores en el ambiente SOL ($72,8 \pm 4,6$) respecto al SAV ($70,8 \pm 4,3$) y SOM ($71,0 \pm 4,3$). Si tomamos como referencia los umbrales establecidos por Buffington *et al.* (1981), todos los ambientes presentaron BGHI superiores a 70, límite a partir del cual se observaría impacto del ambiente térmico en el desempeño productivo, pero

inferiores a 75, valor por encima del cual se observa gran impacto. Los días con BGHI inferiores a 70 fueron superiores en los ambientes SAV y SOM (37 % del período experimental) respecto al SOL (28 % del período experimental). El SOL presentó mayor cantidad de días (32 % del período experimental) con BGHI superior a 75 que el SAV (16%) y el SOM (20%). En promedio, las horas diarias con BGHI mayor a 70 fueron $13 \pm 6,6$, $13 \pm 6,7$ y $14 \pm 5,4$ para el ambiente SAV, SOM y SOL respectivamente. Las horas diarias con BGHI mayor a 75 fueron $7 \pm 5,1$, $7 \pm 4,3$ y $9 \pm 5,1$, para el tratamiento SAV, SOM y SOL, respectivamente.

En la figura 4 se muestra la evolución del BGHI diario mínimos y máximos en cada uno de los ambientes, así como, la cantidad de horas diarias en que el BGHI presentó diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) (anexo 5).

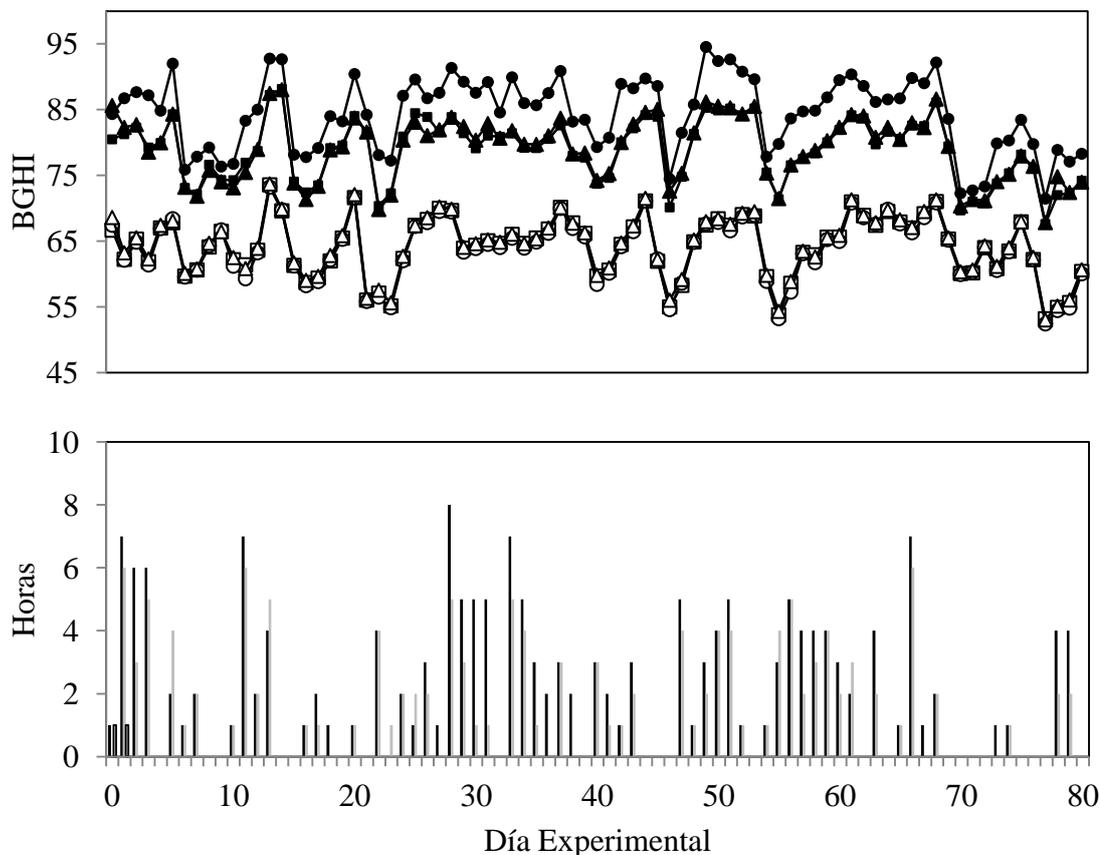


Figura 4. Evolución del BGHI máximo asociado al ambiente SAV (■), SOM (▲) y SOL (●) y mínimo asociado al ambiente SAV (□), SOM (△) y SOL (○). b. Cantidad de horas diarias en que el BGHI asociado al tratamiento SAV es significativamente diferente ($P < 0,05$) al del SOM (SAV vs SOM; blanco), las del SOM son significativamente diferentes ($P < 0,05$) a las del SOL (SOM vs SOL; gris) y las del SAV son significativamente diferentes ($P < 0,05$) a las del SOL (SAV vs SOL; negro).

3.2.1.2. Sala de espera

De los datos tomados durante las sesiones de aspersión y ventilación en el corral de espera, surge que durante la sesión de la mañana en el 49% de los días analizados la temperatura del aire disminuyó ($-0,3 \pm 2,09$ °C) y el 64 % de los días la humedad relativa disminuyó ($-0,6 \pm 8,98\%$). Durante la tarde el 54% y 62% de los días analizados se logró una disminución de la temperatura del aire ($-0,2 \pm 2,60$ °C) y de la humedad relativa ($-1,3 \pm 9,91\%$), respectivamente. La disminución en la humedad del aire permitía que no se pierda la vía más importante de pérdida de calor, la

evaporación. Antes de comenzar la ventilación la velocidad del viento promedio fue de $0,3 \pm 0,47$ m/s, alcanzándose valores máximos de $2,5 \pm 1,28$ m/s por efecto de los ventiladores. Los datos diarios de estas variables se encuentran en el anexo 6.

3.2.2 Determinaciones en los animales

3.2.2.1 Productivas

En el cuadro 5 se presentan las variables productivas (PL; LCS; D; P Lac; MUN) y el efecto de las diferentes medidas de mitigación del estrés calórico, de la etapa de lactancia y su interacción.

Cuadro 5. Variables productivas: producción de leche (PL; L/a/d \pm EEM), leche corregida por sólidos (LCS; kg/a/d \pm EEM), contenido de grasa (G; % \pm EEM), proteína (P;% \pm EEM), lactosa (L; % \pm EEM) urea en leche (MUN; mgN/dL \pm EEM) y producción de grasa (Gkg; kg/a/d \pm EEM), proteína (Pkg; kg/a/d \pm EEM) lactosa (Lackg; kg/a/d \pm EEM) según ambiente (A; SAV, SOM, SOL) para el promedio de los animales y según etapa de lactancia (EL; EL1: temprana y EL2: tardía).

		SAV	SOM	SOL	EEM	P-valor		
						A	EL	A \times EL
PL (L/a/d)	E1	30,7 a	28,9 ab	27,5 b	0,60			
	E2	30,1	28,6	29,6	0,60	<0,0001	0,4190	0,0100
	Promedio	30,4 a	28,8 b	28,5 b	0,51			
LCS (kg/a/d)	E1	31,1 a	31,7 a	26,0 b B	0,59			
	E2	32,9 a	32,4 a	30,8 b A	0,49	<0,0001	0,0006	<0,0001
	Promedio	32,0 a	32,0 a	28,4 b	0,33			
G (%)	E1	3,88 a	3,91 a	3,56 b	0,038			
	E2	3,86 ab	3,76 b	3,90 a	0,080	0,0004	0,4133	<0,0001
	Promedio	3,87 a	3,84 a	3,73 b	0,043			
G (kg/a/d)	E1	1,28 a	1,16 b	0,93 c B	0,020			
	E2	1,24 a	1,17 b	1,21 b A	0,017	<0,0001	0,0002	<0,0001
	Promedio	1,26 a	1,17 b	1,07 c	0,012			
P (%)	E1	2,95 a B	2,76 b B	2,83 b B	0,03			
	E2	3,22 A	3,23 A	3,18 A	0,03	0,0008	<0,0001	0,0007
	Promedio	3,09 a	3,00 b	3,00 b	0,02			
P (kg/a/d)	E1	0,92 a	0,91 a	0,77 b B	0,021			
	E2	0,97 a	0,92 ab	0,89 b A	0,018	<0,0001	0,0128	0,0345
	Promedio	0,94 a	0,91 a	0,83 b	0,012			
Lac (%)	E1	4,90	4,85	4,88	0,025			
	E2	4,94	4,90	4,89	0,033	0,0586	0,1377	0,5601
	Promedio	4,92	4,87	4,88	0,02			
Lac (kg/a/d)	E1	1,58 a	1,52 ab	1,36 b	0,048			
	E2	1,48	1,42	1,44	0,040	<0,0001	0,8125	0,036
	Promedio	1,53 a	1,47 ab	1,40 b	0,027			
MUN (mgN/dL)	E1	15,4 b	17,1 a	16,3 ab	0,36			
	E2	15,8	16,2	16,3	0,34	0,0205	0,5268	0,2030
	Promedio	15,6 b	16,7 b	16,3 ab	0,24			

Dentro de cada variable medias seguidas de letras minúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la fila (diferencias entre los

ambientes). Medias seguidas de letras mayúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la columna (diferencias entre etapas de la lactancia).

La respuesta productiva a las medidas de mitigación fue diferente según la etapa de lactancia en la que se encontraban los animales. Solamente los animales de E1 presentaron diferencias en PL, %P, Lac (kg/a/d) y MUN entre ambientes. La sola utilización de sombra no mejoró la PL, %P y la producción de Lac en animales en lactancia temprana, siendo necesaria la inclusión de aspersión y ventilación adicional. Estudios realizados en animales en lactancia media y tardía sobre la PL han observado un efecto positivo por el uso de sombra (Padula y Rovira, 1999, Azanza y Machado, 1997, Schneider *et al.*, 1984, Collier *et al.*, 1981). El efecto de la aspersión y ventilación podría depender de la PL del animal y de la adversidad del ambiente térmico, mientras que en ensayos con menor PL que el presente ensayo, no existieron efectos benéficos (Kendall *et al.*, 2007, Invernizzi y Marzziote, 1998), en animales de similar PL y en ambientes más adversos es necesaria la inclusión de aspersión y ventilación en el corral de espera en los dos ordeños (Gallardo *et al.*, 2005, Valtorta y Gallardo, 2004) o en sesiones más prolongadas (Igono *et al.*, 1987) para mejorar la PL. En similitud con nuestros resultados, en animales en lactancia tardía, no fue observado un efecto positivo en el contenido de P en leche por el uso de sombras (Kendall *et al.*, 2007, Padula y Rovira, 1999, Invernizzi y Marzziote, 1998, Schneider *et al.*, 1984, Collier *et al.*, 1981, Roman-Ponce *et al.*, 1977) ni por la inclusión de aspersión y ventilación al uso de sombra (Valtorta y Gallardo, 2004).

Tanto los animales en E1 como E2 presentaron diferencias entre ambientes en la LCS, G%, Gkg, Pkg y Lac kg. Sin embargo, la respuesta fue diferencial entre etapas de lactancia, animales en E1 presentaron mejor respuesta productiva al acceso a sombra artificial (SAV y SOM) que los animales en E2. Del uso de contrastes otogonales surge que el acceso a sombra (SAV-SOM) mejoró respecto a los animales del SOL, $5,4 \pm 0,60$ y $1,8 \pm 0,52$ kg/a/d la producción de LCS en animales en E1 ($P < 0,0001$) y E2 ($P = 0,0007$), respectivamente. Esta respuesta diferencial también fue

observada en la producción de P (kg/a/d). De los contrastes surge que los animales de E1 ($P < 0,0001$) y E2 ($P = 0,0062$) aumentaron en $0,13 \pm 0,022$ y $0,54 \pm 0,022$ kg/a/d la producción de P, respectivamente, cuando tuvieron acceso a sombra (SAV y SOM). La mejora observada en la producción de LCS y P por el uso de sombras en animales en lactancia tardía ha sido reportada por Gallardo *et al.* (1993). Sin embargo, estos resultados no concuerdan con lo reportado por Valtorta y Gallardo (2004) y Gallardo *et al.* (2005) que observaron un aumento en la producción de P por la inclusión de aspersión y ventilación al uso de sombra, lo que no fue observado en el presente trabajo. En lo que refiere a la producción de G (kg/a/s) las diferentes etapas de lactancia presentaron una respuesta diferencial a los diferentes ambientes. Los animales en E1 aumentaron $0,23$ kgG/a/d al acceder a sombra y $0,12$ kgG/a/d si eran incluida aspersión y ventilación. En cambio, animales en E2 aumentaron en $0,07$ kgG/a/d bajo el ambiente SAV. Similares resultados han sido reportados por Valtorta y Gallardo (2004) quienes muestran en animales en lactancia media-tardía un aumento en la producción de G por la inclusión de aspersión y ventilación al uso de sombra.

La mejora observada en el desempeño productivo (mayor PL, LCS, contenido y producción de G y P) en ambas etapas de lactancia ocurrida por la introducción de medidas de mitigación del estrés calórico (SAV y SOL), reflejaría el efecto depresor del ambiente térmico estival en animales lecheros de alta producción, a pesar de haberse sugerido que el ambiente térmico durante el período de estudio fue menos adverso que el promedio histórico y que no fueron ocurridas olas de calor. Por otro lado, cuestionaría la utilización de 72 (ITH) como umbral a partir del cual se repercutiría la producción de leche (Ravagnolo *et al.*, 2000; Johnson *et al.*, 1961) en animales de alta producción de leche, como fue sugerido por Zimbelman *et al.* (2009).

Además, al comparar solamente los animales al SOL, se observa una diferencia de $4,8$ kg LCS/a/d, $0,28$ kgG/a/d y $0,12$ kgP/a/d entre etapas de la lactancia, a favor de los animales en E2. Tanto las diferencias observadas entre etapas de lactancia en la

respuesta a las diferentes medidas de mitigación, como las diferencias entre etapas al SOL indicarían una mayor sensibilidad al estrés calórico en animales en E1, como ha sido sugerido por Kadzere *et al.* (2002). Estos resultados no concuerdan con lo reportado por Abeni *et al.* (2007) y Perera *et al.* (1986) quienes reportaron que los animales en lactancia media serían más sensibles que animales en lactancia temprana y tardía. Sin embargo, la diferencia en días en lactancia al iniciar el experimento en los animales en lactancia temprana (10 ± 14 d vs $56 \pm 18,4$ d en el presente trabajo y el de Abeni *et al.*, 2007, respectivamente) puede ser uno de los responsables de las diferencias encontradas en la respuesta animal. Posiblemente condiciones de estrés calórico al inicio de la lactancia, como las monitoreadas en el presente ensayo, puedan tener un efecto negativo irreversible en el mediano y largo plazo en el desempeño productivo de los animales.

Se observó una interacción ambiente \times etapa de lactancia \times día experimental en la PL ($P < 0,0001$) LCS ($P = 0,0122$) (figuras 5) y la producción de P ($P < 0,0001$), G ($P = 0,0002$) y Lac ($P < 0,0001$) (figura 6). Sin embargo, la concentración de G, P, MUN y Lac no se vieron afectados esta interacción. ($P = 0,7543$, $0,3894$, $0,2486$ y $0,6004$, respectivamente). La menor producción promedio de LCS, G, P y Lac de los animales del tratamiento SOL-E1 observada anteriormente, se presentó durante gran parte del período experimental (figura 5). A partir del día experimental 32 se observa una menor producción de LCS, G, P y Lac en los animales del tratamiento SOL-E1, sin embargo ya el día experimental 18 se observaron diferencias en estas variables. Spiers *et al.* (2004) reporta que el nadir de producción de leche y consumo de materia seca se presenta +4 y +3 d respectivamente luego de iniciado el estrés. En este sentido, el día experimental 14 presentó un ITH de 81 y 24 horas con ITH superior 72, que mostraría la incapacidad de recuperación nocturna de estos animales, lo que pudo afectar el desempeño productivo de los animales posteriormente.

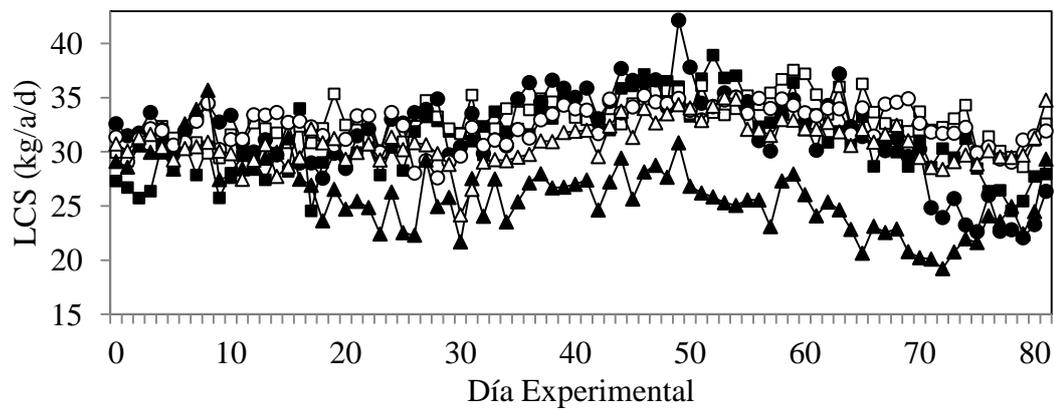


Figura 5. Evolución de la producción de leche corregida por sólidos (LCS; kg/a/d) del tratamiento SAV-E1 (■), SAV-E2 (□), SOM-E1 (●), SOM-E2 (○), SOL-E1(▲) y SOM-E2 (Δ) durante el período experimental.

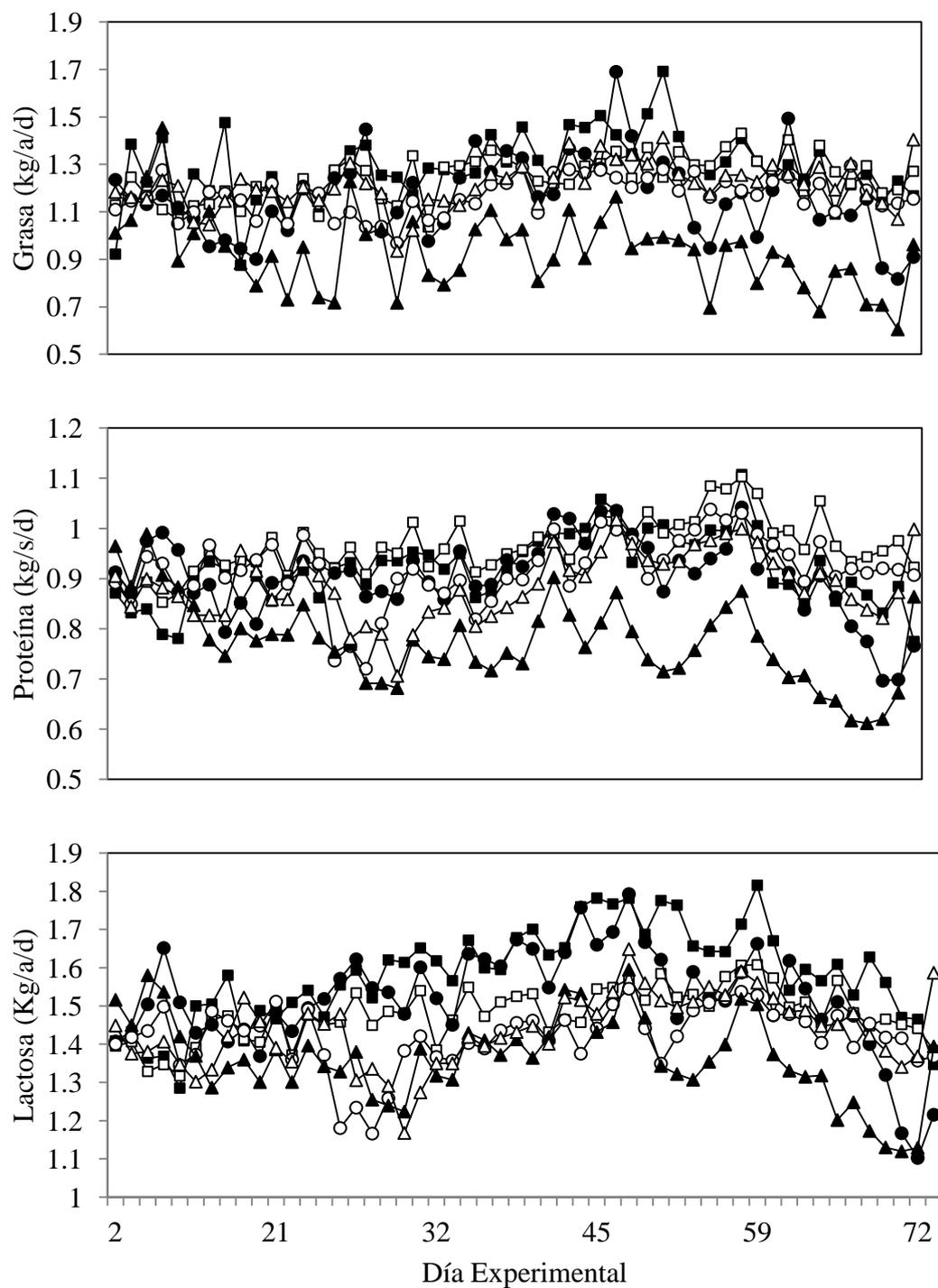


Figura 6. Evolución de la producción (kg/a/d) de grasa (G), proteína (P) y lactosa (L) en leche del tratamiento SAV-E1 (■), SAV-E2 (□), SOM-E1 (●), SOM-2 (○), SOL-E1(▲) y SOM-E2 (△) durante el período experimental.

3.2.2.2. Peso vivo y condición corporal

En el cuadro 6 se observa como el PV y la variación de PV no fueron afectados por ambiente (SAV, SOM y SOL) en que se encontraban los animales, al igual que lo reportado por Padula y Rovira (1999), pero contrario a lo observado por Invernizzi y Marzziotte (1998) en animales en lactancia tardía la CC promedio lograda por los animales se considera adecuada para el tipo de animales con los que se trabajó, sin embargo, a pesar que las diferencias son estadísticamente significativas, no dan mucha información a nivel biológico.

Cuadro 6. Peso vivo (kg \pm EEM), condición corporal (unidades \pm EEM; escala de 1 a 5) y variación de peso vivo (kg/d \pm EEM) de los animales según etapa de lactancia (EL; EL1: temprana y EL2: tardía) y ambiente (A; SAV, SOM, SOL).

		SAV	SOM	SOL	EEM	P-valor		
						A	EL	A \times EL
PV	E1	568	570	541	10,9			
	E2	587	581	574	10,3	0,229	0,0924	0.7696
	Promedio	578	576	559	7,4			
CC	E1	2,7	2,9	2,6	0,08			
	E2	3,1	3,1	3,0	0,07	0,0195	0,002	0.099
	Promedio	2,9 ab	3,0 a	2,8 b	0,05			
PV (var)	E1	0,02	-0,33	-0,85	0,275			
	E2	0,06	0,13	0,21	0,254	0,5403	0,0156	0,8907
	Promedio	0,04	-0,09	-0,31	0,186			

Dentro de cada variable medias seguidas de letras minúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la fila (diferencias entre los ambientes). Medias seguidas de letras mayúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la columna (diferencias entre etapas de la lactancia).

La interacción del ambiente \times etapa de lactancia \times día experimental no resultó significativa en el PV animal ($P = 0,4532$), mientras que, la evolución de la CC si se

vio afectada en los diferentes ambientes ($P=0,0004$) (figura 7). Los animales en E2 no presentaron diferencias en la evolución de la CC entre ambientes, sin embargo, los animales en SOL-E1 culminaron el ensayo con menor CC (-0,5 unidades) que los tratamientos con acceso a sombra artificial (SAV-E1 y SOM-E1). La pérdida de reservas corporales sumando a la menor producción de leche registrada por los animales sugeriría nuevamente la mayor sensibilidad de animales en lactancia temprana a las condiciones estivales adversas.

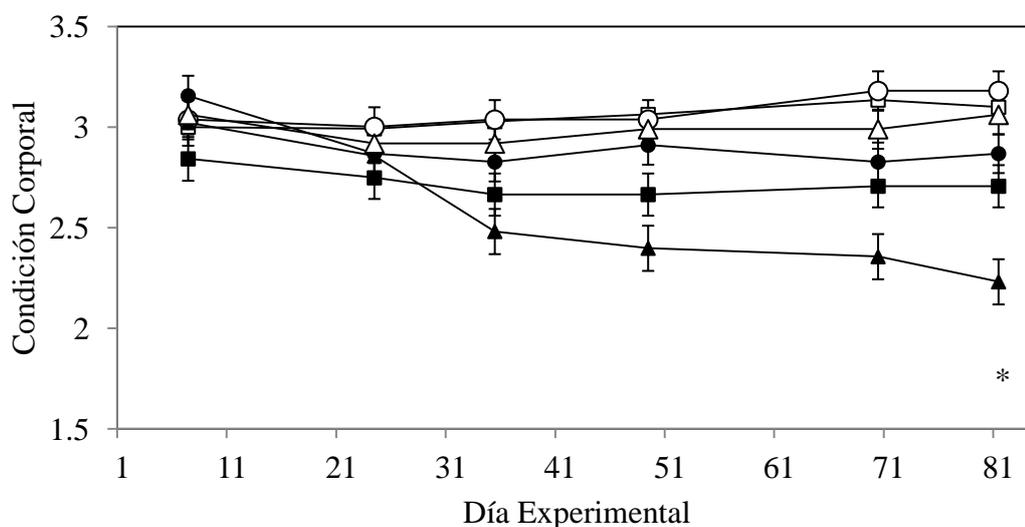


Figura 7. Evolución promedio de la CC durante el período experimental según tratamiento SAV-E1 (■), SAV-E2 (□), SOM-E1 (●), SOM-2 (○), SOL-E1(▲) y SOM-E2 (△). * muestra diferencias entre el tratamiento SOM-E1 y los tratamientos SAV-E1 y SOM-E1.

3.2.2.3. Fisiológicas

En el cuadro 7 se presentan las variables fisiológicas y el efecto de las diferentes medidas de mitigación del estrés calórico, de la etapa de lactancia y su interacción.

Cuadro 7. Variables fisiológicas: temperatura rectal (TR_{am} y TR_{pm} ; °C \pm EEM), frecuencia respiratoria (FR_{am} , FR_{pm} ; r.p.m \pm EEM) y acumulación de calor (AC; °C \pm EEM) según etapa de lactancia (EL; EL1: temprana y EL2: tardía) y ambiente (A).

		SAV	SOM	SOL	EEM	P-valor		
						A	EL	A \times EL
TR_{am} (°C)	E1	37,9	38,1	38,1	0,06			
	E2	38,0	37,9	37,8	0,06	0,7226	0,0101	0,055
	Promedio	38,0	38,0	37,9	0,04			
TR_{pm} (°C)	E1	38,9 c	39,3 b	39,8 aA	0,06			
	E2	39,0 c	39,2 b	39,6 aB	0,06	<0,0001	0,0867	0,0266
	Promedio	39,0 c	39,3 b	39,7 a	0,04			
AC (°C)	E1	0,9	1,2	1,6	0,06			
	E2	1,0	1,3	1,6	0,06	<0,0001	0,3808	0,9392
	Promedio	0,9 c	1,2 b	1,6 a	0,04			
FR_{am} (r.p.m.)	E1	31	34	34	0,8			
	E2	35	33	36	0,7	0,0646	0,0076	0,0822
	Promedio	33	33	35	0,6			
FR_{pm} (r.p.m.)	E1	52	65	73	1,7			
	E2	60	66	78	1,6	<0,0001	0,0015	0,0519
	Promedio	56 c	65 b	75 a	1,1			

Dentro de cada variable medias seguidas de letras minúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la fila (diferencias entre los ambientes). Medias seguidas de letras mayúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la columna (diferencias entre etapas de la lactancia).

Las diferencias entre ambientes fueron encontradas en la TR y FR en la tarde, observándose los valores superiores en los animales al SOL, como ha sido reportado por Saravia (2009), Kendall *et al.* (2007), Invernizzi y Marziotte (1998), Valtorta *et al.* (1997), y Collier *et al.* (1981). Estos resultados están en relación con los encontrados en las Tev del ambiente SOL y SOM que muestran diferencias efectivas entre ambos ambientes las que se tradujeron en el balance calórico del animal. Las

diferencias en las variables fisiológicas encontradas entre los animales del SAV y SOM no se deben ni a los cambios en el ambiente (T_{ev} iguales) ni a utilizaciones de la sombra diferentes entre tratamientos (ver capítulo 3.2.2.6), lo que sugiere que las sesiones de aspersión y ventilación fueron efectivas, posiblemente al aumentar las pérdidas evaporativas desde la superficie del animal durante el proceso, a pesar de no haber encontrado diferencias en las T_{ev} durante estas horas. La TR y FR en la tarde para todas las combinaciones de ambientes (SAV, SOM y SOL) y etapas de lactancia (E1 y E2) fueron superiores a los valores de termoneutralidad (39°C y 35 r.p.m. sugeridos por Seath y Miller (1946) y Thomas y Pearson (1986), respectivamente). Esto nos indicaría que aún en los ambientes con medidas de mitigación del estrés calórico, los animales fueron incapaces de disipar todo el calor acumulado durante el día y mantener la normotermia. Sin embargo, las diferencias encontradas en TR_{pm} entre ambientes mostrarían que efectivamente las medidas de mitigación del estrés afectaron el balance calórico, mientras que, las diferencias encontradas en FR_{pm} sugerirían que se activan las pérdidas de calor, pero que esto no es suficiente para evitar la excesiva acumulación de calor durante el día. Esto podría asociarse a un aumento en los requerimientos de mantenimiento lo que explicaría, en parte, la merma en resultados productivos obtenidos en los animales al SOL. Sin embargo, a pesar de las diferencias encontradas en la TR en la tarde entre los animales de los ambientes SAV y SOM no fueron observadas mejoras en la producción de LCS y P. Posiblemente el ambiente no fue lo suficientemente adverso, o bien serían necesarias más sesiones de aspersión y ventilación a lo largo del día para lograr mantener la temperatura rectal normal.

La TR y la FR en la mañana no fueron afectadas por los diferentes ambientes, al igual que fue observado por Invernizzi y Marziotte (1998). Sin embargo, no concuerda con lo reportado por Saravia (2009) quien encontró diferencias entre los ambientes (sombra y sol). En este sentido, en el presente trabajo ninguno de los indicadores superó los límites de la termoneutralidad, sugiriendo que los animales fueron capaces de disipar el calor acumulado durante el día anterior y recuperar la normotermia durante la noche, indicándonos que el ambiente térmico en la fase nocturna fue el

necesario para una adecuada recuperación de la termoneutralidad, lo que concuerda con lo analizado en las variables meteorológicas. Posiblemente esta sea la principal diferencia con el trabajo reportado por Saravia (2009), donde no fue posible una adecuada recuperación nocturna en determinadas condiciones meteorológicas (ola de calor severa). A pesar de que las condiciones ambientales fueron más adversas y medidas de mitigación diferentes la AC fue similar entre estos trabajos. Posiblemente, en el presente trabajo la ganancia de calor externa sea menor debido a un ambiente menos estresante, pero acompañada de una mayor producción de calor interno, asociado la mayor producción de leche obtenida (Purwanto *et al.*, 1990). Durante los períodos de ola de calor leve y no ola de calor, que presentan ITH similares al presente estudio, Saravia (2009) no observa en animales de menor producción de leche diferencias entre ambientes (sombra vs no sombra) en PL, a diferencia de lo observado anteriormente nuestro trabajo. Saravia (2009) sugiere que la capacidad de recuperación nocturna de la normotermia durante estos períodos es la responsable de no encontrar respuestas en PL a la utilización de la sombra. Sin embargo, en nuestro trabajo, a pesar de observarse recuperación de la temperatura durante la noche se observaron pérdidas productivas en los animales al SOL. Estas diferencias sugerirían que en animales de elevada producción de leche, no solo es importante la adecuada recuperación nocturna de la temperatura corporal normal. La AC fue diferente entre ambientes y animales en distinta etapa de lactancia no presentaron diferentes respuestas a las mismas. La mayor AC se observó al SOL, seguida por la SOM y el SAV. En la bibliografía se reporta que un aumento en la TR similar al observado en los animales al SOL ($AC=1,6\text{ }^{\circ}\text{C}$) sería indicador de que la productividad de los animales se vería repercutida (Spiers *et al.*, 2004). Esto reflejaría la utilidad de la TR como indicadora de estrés calórico (Spiers *et al.*, 2004). Sin embargo, a pesar de la igual AC entre animales del tratamiento SOL- E1 y SOL- E2, las pérdidas observadas en productividad fueron distintas (5,4 vs 1,9 kg/a/d en E1 y E2, respectivamente), esto sugeriría que debería de ser tomada en cuenta la etapa fisiológica del animal para predecir la pérdida en productividad.

La etapa de lactancia afectó la FR tanto en la tarde como en la mañana, presentado

menores valores animales de E1 respecto a E2 (33 vs 35 FR_{am}; 63 vs 67 en FR_{pm}), similar a lo reportado por Perera *et al.* (1986). Además se observó un efecto sobre la TR_{am} (38,0 ±0,04 vs 37,9 ±0,04, para E1 y E2 respectivamente), sin observarse efecto en la AC. Al igual que lo reportado por Maust *et al.* (1972) la etapa de lactancia no afectó la TR_{pm} observada en los animales. Sin embargo, la respuesta fisiológica (TR_{pm}) a los diferentes ambientes fue significativamente diferente según la etapa de lactancia en la que se encontraba el animal, animales en E1 presentaron mayores TR_{pm} respecto a animales en E2 al SOL. A pesar de la menor producción de leche, y por lo tanto menor producción de calor por esta vía, los animales de SOL-E1 logran TR_{pm} mayores que SOM-E2, sugiriendo que otra debe de ser la ruta de producción de calor interna que cobra importancia en estas condiciones. En este sentido, la movilización de reservas que se estaría llevando a cabo, fruto del balance energético negativo que caracteriza esta etapa (Bauman y Currie, 1980), podría jugar un rol importante en el aumento en las ganancias de calor interna, ya que como se ha visto en la oxidación de ácidos grasos no esterificados produciría mayor calor metabólico que la utilización de glucosa (Baumgard y Rhoads, 2007).

Para todas las variables fisiológicas se observó un efecto del día experimental (P<0,0001). La interacción ambiente × día experimental resultó significativa en el análisis de la TR_{pm}, FR_{pm} y AC (P<0,0001). En los días que se registraron diferencias entre tratamientos, los animales del tratamiento SAV presentaron menores valores de TR_{pm} y FR_{pm} que los animales del tratamiento SOL. Sin embargo, el tratamiento SOM no siempre presenta diferencias con el tratamiento SOL, lo que sugeriría que en algunos días particulares la sola utilización de sombra como medida de mitigación del estrés calórico puede no ser efectiva en mejorar el balance calórico.

3.2.2.4. Consumo

En el cuadro 8 se presentan las el efecto de las diferentes medidas de mitigación del estrés calórico, de la etapa de lactancia y su interacción sobre el consumo de forraje, RTM, total y agua.

Cuadro 8. Consumo de forraje (CMSf; kgMS/a/d \pm EEM), RTM (RTM_{total}; kgMS/a/d \pm EEM), total (CMS_{total}; kgMS/a/d \pm EEM), agua (l/a/d \pm EEM) y eficiencia de consumo de agua (ECA; L/kgMS \pm EEM) según etapa de lactancia (EL; EL1: temprana y EL2: tardía) y ambiente (A; SAV, SOM, SOL).

		SAV	SOM	SOL	EEM	P-valor		
						A	EL	A \times EL
CMSf	E1	2,3	2,3	2,6	0,25			
	E2	2,0	1,9	1,7	0,25	0,991	0,0441	0,5399
	Promedio	2,2	2,2	2,1	0,17			
RTM	E1	23,2 a	22,6 ab	20,7 b	0,48			
	E2	23,5	22,7	22,6	0,48	0,0025	0,0376	0,0934
	Promedio	23,3 a	22,6 ab	21,6b	0,34			
CMS Total	E1	25,5 a	24,9 ab	23,3 b	0,44			
	E2	25,6	24,6	24,3	0,44	0,0025	0,2611	0,2097
	Promedio	25,5 a	24,8 ab	23,8 b	0,31			
Agua	E1	98	100	113	3,8			
	E2	109	104	106	3,8	0,097	0,4643	0,0667
	Promedio	103	101	110	2,7			
ECA	E1	3,85 b	3,97 b	5,05 a	0,172			
	E2	4,40	4,27	4,67	0,172	<0,0001	0,5472	0,0186
	Promedio	4,13 b	4,12 b	4,86 a	0,121			

***= $p<0,001$; **= $p<0,01$; *= $p<0,05$. n.s: no significativo. Dentro de cada variable medias seguidas de letras minúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P<0,05$) en la fila (diferencias entre los ambientes). Medias seguidas de letras mayúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P<0,05$) en la columna (diferencias entre etapas de la lactancia).

El CMSf no difirió entre ambientes. La baja proporción que representaba el forraje en la dieta y que los animales del tratamiento SOL, sin importar la etapa de lactancia, presentaban TRam por debajo del umbral de termoneutralidad serían algunas de las posibles razones por la que los animales no disminuirían el consumo de forraje.

La respuesta en consumo de RTM y CMS total a las diferentes medidas de mitigación no fue diferente entre etapas de lactancia (cuadro 8). Tanto en animales en E1 como E2 el solo acceso a sombra no promovió un aumento en el consumo, siendo necesario asociarlo a sesiones de aspersion y ventilación. Abeni *et al.* (2007) observaron diferencias en PL entre etapas de lactancia ante eventos de altas temperaturas, siendo los animales en lactancia media más sensibles al estrés calórico, debido a que serian más dependientes del consumo de materia seca que animales en lactancia temprana. Por lo que, un descenso en el consumo de alimento producto del estrés calórico repercutiría en mayor medida en animales en lactancia media. Sin embargo, los resultados presentados en el presente ensayo no mostrarían una respuesta diferencial en el consumo de alimento. En la bibliografía se han reportado efectos negativos del estrés calórico sobre el consumo (NRC, 2001) posiblemente mediados por un aumento en la temperatura rectal (Spiers *et al.*, 2004, Nardone *et al.*, 1992). Se ha evaluado el CMS de animales con y sin acceso a sombra, encontrando efectos benéficos por la utilización de las mismas pero en un ambiente más estresantes para los animales (Schneider *et al.*, 1984). Otros trabajos evaluaron el efecto de la sombra artificial asociado a Evaporative Cooling (Tarazón-Herrera *et al.*, 1999, Chen *et al.*, 1993) en animales en lactancia media-tardía sin encontrar diferencias respecto a la utilización de sombra, similar a los resultados encontrados en el presente trabajo. Igono *et al.* (1987) sin embargo, evaluando el efecto de sombra vs sombra asociado a aspersion y ventilación observaron diferencias tanto en PL como en consumo, pero bajo ambientes más estresante que los observados en el presente ensayo (Tev= 43). Esto mostraría cómo el efecto negativo del ambiente estival dependería del ambiente térmico, quizás en condiciones más adversas a las presentadas en el presente ensayo, se observarían respuestas diferentes entre etapas de lactancia diferentes. Sin embargo, seria esperable que animales en E1 presentaran mayor descenso del CMS total que animales en E2, que explicara las diferencia en LCS observadas.

El consumo de agua no fue afectado por los ambientes, a pesar de que se han observado aumentos en los requerimientos de agua de animales bajo condiciones de estrés calórico (Collier *et al.*, 1982). Sin embargo, los ambientes afectaron la ECA de los animales de E1, siendo mayor en los animales al SOL, respecto a los ambientes con sombra (SAV y SOL).

3.2.2.5. Balance energético

No se observan efecto de la interacción de ambiente \times etapa de lactancia en el BE de los animales ($P=0,1228$). El BE fue superior ($P<0,0001$) en los animales en E2 ($9,4 \pm 1,03$, $9,2 \pm 1,03$ y $9,0 \pm 1,03$ Mcal/a/d para SAV, SOM, SOL, respectivamente) que en E1 ($4,6 \pm 1,03$, $0,5 \pm 1,03$, $0,7 \pm 1,03$ Mcal/a/d para SAV, SOM, SOL, respectivamente). El BE negativo es característico de la lactancia temprana en animales de alta producción de leche, y se ha observado que se extiende hasta la semana 8 o 24 posparto (Bauman y Currie, 1980) lo que explica las diferencias observadas entre EL. En términos promedio, las diferentes medidas de mitigación lograron un BE de $7,0 \pm 0,73$, $4,8 \pm 0,73$, $4,8 \pm 0,73$ Mcal/a/d para SAV, SOM, SOL, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos ($P=0,0549$). No se observó una interacción ambiente \times etapa de lactancia \times periodo ($P=0,3246$).

El BE considera los requerimientos de mantenimiento, actividad, caminata y lactación, sin embargo, no toma en cuenta el posible aumento en los requerimientos asociados al mantenimiento en la normotermia, por lo que el BE puede verse afectado si asumimos que las diferentes medidas de mitigación del estrés calórico impactaron en los mecanismos de pérdidas de calor. El aumento en la FR observado en los animales al SOL, indicaría que los animales iniciaron procesos de pérdida de calor para mantener la temperatura corporal, que podrían representar un aumento en los requerimientos de mantenimiento. NRC (2001) ha sugerido que el aumento en los requerimientos sería de 7 a 25%. CSIRO (2007) asume similares aumentos, y los asocia al nivel de estrés observado en el animal, animales en un estrés leve (aumento de la FR, respiraciones superficiales) presentarían un aumento de los requerimientos del orden de 7%, mientras que animales que se encuentran en un estrés agudo

(respiraciones profundas con presencia de boca abierta o jadeo) presentaría entre un 11 y 25 % de aumento. Para un animal de 580 kg de PV un 7, 11 y 25 % de los aumentos en los requerimientos se corresponde con 0,7, 1,0 y 2,4 McalENL/d, respectivamente, que representarían 1, 1,4 y 3,3 L/a/d de leche (3,8%G; 3,2%P y 4,9% Lac). La merma en la PL de los animales en E1 es (3,2 L) sería similar al aumento de 25% de los requerimientos. El BE realizado tampoco toma en cuenta la variación de peso obtenida, sin embargo, están en relación con la esta, animales en lactancia temprana mantienen o pierden peso durante el ensayo, en cambio, animales en lactancia tardía presentaron ganancias de peso. En este sentido, si sumamos a los balances energéticos de los animales de SOL-E1 y SOM-E1 la energía por pérdida de el peso, calculada de acuerdo al NRC (2001) (1,78 y 0,69 McalENL/d, respectivamente) observamos que los balances se vuelven positivos en 2,48 y 1,19 McalENL/d, respectivamente, lo que representa un aumento en los requerimientos de mantenimiento de 13 y 27 % similares a los expresados con anteriormente por la bibliografía.

3.2.2.6. Comportamiento

En el cuadro 9 se observa el efecto de las diferentes medidas de mitigación del estrés calórico, de la etapa de lactancia y su interacción sobre las variables comportamentales estudiadas.

Cuadro 9: Probabilidad de ocurrencia (% \pm EEM) de cada actividad durante el pastoreo (rumia, pastoreo) y durante el encierro (rumia, parado, echados, comiendo y utilizando la sombra artificial) según etapa de lactancia (EL; EL1: temprana y EL2: tardía) y ambiente (A).

		SAV	SOM	SOL	EEM	Prueba de F		
						A	EL	A \times EL
Durante el pastoreo								
Rumia	E1	10,7	8,8	13,3	2,59			
	E2	17,3	12,7	16,3	2,62	0,433	0,0069	0,6535
	Promedio	14,2	11,3	15,2	1,24			
Pastoreo	E1	77,6	83,8	74,4	23,18			
	E2	69,3	80,4	67,3	23,20	0,0832	0,0497	0,8721
	Promedio	74,6	82,3	71,4	20,43			
Durante el encierro								
Sombra	E1	19,3	21,4		2,54			
	E2	24,0	24,4		2,09	0,2245	0,3689	0,8976
	Promedio	21,5	22,8		1,94			
Rumia	E1	21,8 a	21,5 a	15,3 b	0,70			
	E2	21,1 a	20,3 a	14,1 b	0,51	<0,0001	0,0251	0,8107
	Promedio	21,4 a	20,7 a	14,7 b	0,89			
Parado	E1	44,5	48,5	49,2	2,75			
	E2	48,7	43,7	48,3	3,85	0,3546	0,8066	0,0987
	Promedio	46,6	46,1	48,8	1,16			
Echado	E1	13,4 a	8,4 b	6,1 b	1,14			
	E2	10,7 a	12,1 a	6,0 b	1,24	<0,0001	0,9631	0,0224
	Promedio	12,1 a	10,1 a	6,4 b	1,68			
Comida	E1	37,4 b	36,6 b	41,5 a	1,76			
	E2	36,5 b	39,6 b	41,5 a	1,87	0,0002	0,5035	0,3146
	Promedio	36,8 b	38,0 b	41,5 a	2,09			
F.C.A	Promedio	3,1	2,7	3,4	0,20	0,4568	0,3567	0,4678

***= $p < 0,001$; **= $p < 0,01$; *= $p < 0,05$. n.s: no significativo. Dentro de cada variable medias seguidas de letras minúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la fila (diferencias entre los ambientes). Medias seguidas de letras mayúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la columna (diferencias entre etapas de la lactancia).

Durante el pastoreo no se observó un efecto de los ambientes sobre la probabilidad de rumia ni pastoreo, posiblemente debido a que los animales pastoreaban en conjunto y no presentaban diferencias en TR_{am} entre ambientes y por debajo de los límites de termoneutralidad.

Durante el encierro, no se observaron diferencias en ninguna de las variables de comportamiento analizadas entre el tratamiento SAV y SOM, incluso en la utilización de la sombra, lo que indicaría que estas dependen del acceso a la misma y no al efecto extra de la aspersion y ventilación. La rumia fue negativamente afectada por el estrés calórico que sufrieron los animales del tratamiento SOL. Estudios previos demostraron que el tiempo dedicados a rumiar se deprime por efecto de estrés por calor (Tapki y Sahin, 2006, Kadzere *et al.*, 2002). Se ha observado además que el número de contracciones ruminales se ve afectado en animales que no tienen acceso a sombra (Collier *et al.*, 1981). Se asume que el tiempo que los animales dedican a rumiar es uno de los aspectos importantes asociados con bienestar, además cambios en la rumia se están utilizando para evaluar la respuesta de animales lecheros al estrés (Bristow y Holmes, 2007; Schirmann *et al.*, 2012) y enfermedades (DeVries *et al.*, 2009). Se registraron menor cantidad de animales echados en los grupos sin acceso a sombra artificial. En la literatura se ha sugerido que los animales evitarían echarse para minimizar la superficie en contacto con el suelo, y así evitar las ganancias de calor por conducción (Tapki y Sahin, 2006). La proporción de observaciones en que los animales estaban echados se comportó diferente según etapa de lactancia. **Mientras que en E1, solo los animales al SAV presentaron mayor proporción de animales echados, en E2 el acceso a sombra (SAV y SOM) fue**

suficiente. Contrario a lo esperado, la proporción de animales parados y la frecuencia de consumo de agua no difirieron entre ambientes.

En lo que refiere a la etapa de lactancia, durante el pastoreo se observó mayor proporción de animales rumiando y menor pastoreando en la lactancia tardía. Solamente se observó un efecto de la etapa de lactancia en el porcentaje de observaciones en la que los animales estaban rumiando, a favor de los animales en lactancia temprana. El porcentaje de observaciones parado, echado, comiendo, y utilizando la sombra no se vieron afectadas por la etapa de lactancia (cuadro 9).

3.2.2.7. Metabólicas

El efecto de las diferentes medidas de mitigación del estrés calórico, de la etapa de lactancia y su interacción sobre la concentración de metabolitos y hormonas en sangre se observa en el cuadro 10

Cuadro10. Concentración de metabolitos en sangre: proteína total (PT; g/L \pm EEM), albumina (Alb; g/L \pm EEM), globulina (Glob; g/L \pm EEM), glucosa (Glu; mg/dL \pm EEM); colesterol (Col; mg/dL \pm EEM), e insulina (Ins; μ UI/mL \pm EEM) según etapa de lactancia (EL; EL1: temprana y EL2: tardía) y ambiente (A).

		SAV	SOM	SOL	EEM	P-valor		
						A	EL	A \times EL
PT	E1	83,7	94,7	86,8	3,38			
	E2	91,4	89,3	89,8	3,28	0,4127	0,5762	0,1907
	Promedio	87,6	92,0	88,3	2,37			
Alb	E1	34,8 b	39,7 aA	35,1 b	0,98			
	E2	34,2 a	34,8 aB	35,5 a	0,72	0,0183	0,0393	0,0196
	Promedio	34,5 b	37,3 a	35,3 ab	0,68			
Glu	E1	71,7	75,8	74,1	4,24			
	E2	79,1	77,2	77,2	3,86	0,9608	0,2342	0,7395
	Promedio	75,7	76,2	75,3	2,87			
Glob	E1	59,4	64,2	51,8	4,15			
	E2	54,4	56,8	57,9	3,97	0,3355	0,4833	0,1268
	Promedio	56,9	60,5	54,9	2,85			
Col	E1	196,1	271,1	194,6	27,75			
	E2	251,8	309,2	283,1	25,68	0,0666	0,0103	0,5224
	Promedio	228,2	289,8	237,9	19,78			
Ins	E1	10,3	9,1	9,8	0,76			
	E2	11,7	12,6	14,2	0,66	0,3991	<,0001	0,0127
	Promedio	11,5	10,8	11,7	0,54			

***= $p < 0,001$; **= $p < 0,01$; *= $p < 0,05$. n.s: no significativo. Dentro de cada variable medias seguidas de letras minúsculas diferentes muestran diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la fila (diferencias entre los ambientes). Medias seguidas de letras mayúsculas diferentes muestran diferencias

estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en la columna (diferencias entre etapas de la lactancia).

Solamente la concentración de Alb presentó diferencias entre ambientes, siendo mayor en los animales a la SOM. Esto no concuerda con lo reportado por Valtorta *et al.* (1996) que evaluaron el efecto de sombra artificial y los reportados por Abeni *et al.* (2007) que no observaron efecto de los períodos de calor sobre la concentración de Alb en sangre. La concentración de Glu, Col, Glob, PT e Ins no difirieron entre ambientes, similar a lo reportado por Valtorta *et al.* (1996) quienes no observaron efecto del acceso a sombra artificial sobre la concentración de PT y Glob. Se ha observado que animales bajo condiciones de estrés calórico tienen mermas en la concentración de glucosa (Rhoads *et al.*, 2009, Abeni *et al.*, 2007), y aumentos en la concentración de insulina en sangre (Wheelock *et al.*, 2010). El cambio en la concentración de insulina sería el responsable del cambio en la partición de nutrientes (glucosa) observado. Para mantener la temperatura interna constante se daría una mayor utilización de nutrientes en el tejido periférico, en detrimento de uso por parte de la glandula mamaria (Shwartz *et al.*, 2009, Rhoads *et al.*, 2009). La insulina en sangre esta positivamente correlacionada con el consumo (Chilliard *et al.*, 1998) esta puede ser una de las causas por las que animales en El presenten menores niveles de Ins en sangre.

4. CONCLUSIONES

Durante el periodo estival en La Estanzuela (SW de Uruguay) se observaron condiciones meteorológicas adversas en los 47 veranos estudiados, que podrían reducir la productividad de vacas lecheras. Estos efectos adversos se observaron tanto en animales en lactancia temprana como tardía pero en diferente magnitud a pesar de que el ITH promedio durante el período experimental no superara el valor de 72. Los mismos fueron reducidos por la incorporación de medidas de mitigación.

Los animales en lactancia temprana sin ninguna medida de mitigación del estrés calórico (SOL) presentaron menor producción de leche corregida por sólidos (4,8 kg/a/d), grasa (0,28 kg/a/d) y proteína (0,12 kg/a/d) que animales en lactancia tardía al SOL, mostrando la mayor sensibilidad de los animales en lactancia temprana al estrés por calor.

Animales en lactancia temprana presentaron una mejor respuesta productiva a las medidas de mitigación evaluadas. El acceso a sombra mejoró en 5,4 y 1,9 kg/a/d la producción de leche corregida por sólidos en animales de lactancia temprana y tardía, respectivamente. Los animales en lactancia temprana al SOL terminaron con menor condición corporal (-0,5 unidades) que los animales con acceso a sombra artificial (SAV y SOM).

La utilización de sombra asociado o no a aspersion y ventilación en el corral de espera redujo el efecto de las condiciones meteorológicas adversas del verano, observándose mejoras en las respuestas productivas de ambas etapas de lactancia (5,4 y 1,9 kg/a/d para E1 y E2). La mejora además se evidenció en la menor TR y FR observadas, que mostrarían el efecto benéfico sobre el balance calórico animal.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Abeni F, Calamari L, Stefaniniñ L. 2007. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. *International Journal of Biometeorology*. 52: 87–96.
- Achmadi J, Yanagisawa T, Sano H, Terashima Y. 1993. Pancreatic insulin secretary response and insulin action in heat-exposed sheep given a concentrate or roughage diet. *Domestic Animal Endocrinology*. 10 (4): 279-287.
- Alvarez MB, Johnson HD. 1972. Environmental heat exposure on cattle plasma catecholamine and glucocorticoids. *Journal of Dairy Science*. 56 (2):189-194.
- AOAC (Association of Analytical Chemists). 1990. *Official Methods of Analysis*, 15th ed. Association of Analytical Chemists, Washington, DC.1230 p
- Arcaro I, Rodrigues J, Rodrigues C, Del Fava H, Matarazzo S, De Oliveira JE. 2005. Respostas fisiológicas de vacas em lactação à ventilação e aspersão na sala de espera. *Ciência Rural Santa Maria*. 35 (3): 639-643.
- Armstrong DV. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *Journal of Dairy Science*. 77: 2044-2050.
- Azanza J, Machado E. 1997. Efecto de la disponibilidad de sombra en verano en vacas lecheras con distintos niveles de producción. Tesis. Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 120 p.
- Baethgen W. 2009. La adaptación al cambio climático en el sector agropecuario. *Revista ARROZ*. 58: 24-32.
- Baker CC, Coppock CE, Lanham JK, Nave DH, Labore JM, Brasington CF, Stermer RA. 1988. Chilled drinking water effects on lactating Holstein cows in summer. *Journal of Dairy Science*. 71 (10): 2699-2708.
- Bauman DE, Currie WB. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *Journal of Dairy Science*. 63: 1514-1529

- Baumgard L, Rhoads RP. 2012. Effects of Environment on metabolism. En: Collier J, Collier JL. (Eds.). Environment physiology of Livestock. Iowa: John Wiley and Sons, Inc. 81-100.
- Baumgard L, Rhoads RP. 2007. The Effects of Heat Stress on Nutritional and Management Decisions. [en línea]. 15 agosto 2012. <http://www.wdmc.org/2009/The%20Effects%20of%20Het%20Stress%20on%20Nutritional%20&%20Management%20Decisions.pdf>
- Beede DK, Collier RJ. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *Journal of Animal Science*. 62: 543-554.
- Berbigier P. 1988. Bioclimatologie des ruminants domestiques en zone tropicale. Paris. INRA. 237 p.
- Berman A. 2005. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science*. 83: 1377-1384.
- Berman A, Folman Y, Kaim M, Mamen M, Herz Z, Wolfenson D, Arieli A, Graber Y. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *Journal of Dairy Science*. 68: 1488-1495.
- Bernabucci U. 2012. Impact of the hot environment on nutrient requirements. En: Collier J, Collier JL. (Eds.). Environment Physiology of Livestock. Iowa: John Wiley and Sons, Inc. 101-128 p
- Bernabucci U, Lacetera N, Baumgard LH, Rhoads RP, Ronchi B, Nardone A. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal*. 4 (7): 1167–1183.
- Bernabucci U, Lacetera N, Ronchi B, Nardone A. 2002. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. *Animal Research*. 51: 25–33.
- Bernabucci U, Bani P, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A. 1999. Influence of short and long-term exposure to a hot environmental rumen passage rate and diet digestibility by Friesian heifers. *Journal of Dairy Science*. 82: 967–973.

- Bianca W. 1965. Reviews of the progress of dairy science. Section A Physiology. Cattle in a hot environment. *Journal of Dairy Research*. 32: 291-345.
- Bouraqui R, Lahmar M, Majdoub A, Djemali M, Belyea R. 2002. The relationship of temperature-humidity index with production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Animal Research*. 51: 479-491.
- Breinholt KA, Gowen FA, Nwosu CC. 1981. Influence of environment and animal factor on day and night grazing activity of imported Holstein-Friesian cows in the humid lowland tropics of Nigeria. *Tropical Animal Production*. 6 (4): 300-307.
- Bristow DJ, Holmes DS. 2007. Cortisol levels and anxiety-related behaviors in cattle. *Physiology Behavior*. 90: 626–628.
- Brown-Brandl TM, Eigenberg RA, Nienaber JA, Hahn GL. 2005a. Dynamic response indicators of heat stress in shaded and non-shaded feedlot cattle, Part 1: Analyses of indicators. *Biosystems Engineering*. 90 (4): 451–462.
- Brown-Brandl TM, Neigenberg RA, Hahn GL, Nienaber JA, Mader TL, Spiers DE, Parkhurst AM. 2005b. Analyses of thermoregulatory responses of feeder cattle exposed to simulated heat waves. *International Journal of Biometeorology*. 49: 285-296.
- Brown-Blandl TM, Nienaber JA, Eigenberg RA, Hahn GL, Freetly H. 2003. Thermoregulatory responses of feeder cattle. *Journal of Thermal Biology*. 28: 149-157.
- Buffington DE, Collazon-Arocho A, Canton GH, Pitt D. 1981. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. *Transaction of the American Society of Agricultural Engineers*. 24 (3): 711-714
- Busby D, Loy D. 1996. "Heat stress in feedlot cattle: Producer survey results". [en línea]. 15 agosto 2012. http://lib.dr.iastate.edu/beefreports_1996/26.
- Carvalho FA, Lammoglia MA, Simoes MJ, Randel RD. 1995. Breed affects thermoregulation and epithelial morphology in imported and native cattle subjected to heat stress. *Journal of Animal Science*. 73: 3570-3573.

- Castaño JP, Giménez A, Ceroni M, Furest J, Aunchayna R. 2011. Caracterización agroclimática del Uruguay 1980-2009. [en línea]. 23 julio 2013. <http://www.inia.uy/Publicaciones/Paginas/publicacion-2364.aspx>
- Chen KH, Huber JT, Theurer CB, Armstrong DV, Wanderley RC, Simas JM, Chan SC, Sullivan JL. 1993. Effect of Protein Quality and Evaporative Cooling on Lactational Performance of Holstein Cows in Hot Weather. *Journal of Dairy Science*. 76: 819-825.
- Christison GI, Johnson HD. 1972. Cortisol turnover in heat-stressed in heat-stresses cows. *Journal of Animal Science*. 35 (5): 1005-1010.
- Collier RJ, Beede DK, Thatcher WW, Israel LA, Wilcox CJ. 1982. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. *Journal of Dairy Science*. 65 (11): 2213-2227.
- Collier RJ, Eley RM, Sharma AK, Pereira RM, Buffington DE. 1981. Shade management in subtropical environment for milk yield and composition in Holstein and Jersey cows. *Journal of Dairy Science*. 64: 844-849.
- Cruz GB. 2009. Biometeorología del calor sobre la producción de leche de vacas Holstein en Uruguay. Tesis Magister en Ciencias Agrarias. Opción Ciencias Animales. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 84 p.
- Cruz G, Saravia C. 2008. Un índice de temperatura y humedad del aire para regionalizar la producción lechera en Uruguay. *Agrociencia* XII (1): 56-60.
- CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization). 2007. *Nutrient Requirements of Domesticated Ruminants*, Collingwood, VIC, 270 p.
- Davis S, Mader, TL. 2003. "Adjustments for Wind Speed and Solar Radiation to the Temperature-Humidity Index" *Nebraska Beef Cattle Reports*. [en línea]. 23 julio 2014. <http://digitalcommons.unl.edu/animalscincbr/224>
- Della-Marta PM, Haylock MR, Luterbacher J, Wanner H. 2007. Doubled length of western European summer heat waves since 1880. [en línea]. 27 julio 2014. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/2007JD008510/pdf>

- DeVries TJ, Beauchemin KA, Dohme F, Schwartzkopf-Genswein KS. 2009. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: Feeding, ruminating, and lying behavior. *Journal of Dairy Science*. 92: 5067–5078.
- DIEA (Dirección de Estadísticas Agropecuarias). 2010. Estadísticas del sector lácteo: 2010. Serie Trabajos Especiales N° 304. [en línea]. 3 agosto 2012. <http://www.google.com.uy/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCAQFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.mgap.gub.uy%2Fportal%2Fagxppdwn.aspx%3F7%2C5%2C118%2C0%2CS%2C0%2C4333%253BS%253B2%253B120%2C&ei=bPc8UNP5LYH89QSOxoHQBQ&usg=AFQjCNFVnO9r4fuCmAEnNes1GIbEvv5ow&sig2=aMAL3HBrtW3PLKpv-7rPSQ>.
- Dowling DF. 1955. The hair follicle and apocrine gland populations of Zebu (*Bos indicus* L.) and Shorthorn (*B. taurus* L.) cattle skin. *Australian Journal of Agricultural Research*. 6 (4): 645–654.
- Edmonson AJ, Lean J, Weaver LD, Farver T, Webster G. 1989. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 72: 68-78.
- Eigenberg RA, Brown-Brandl TM, Nienaber JA, Hahn GL. 2005. Dynamic response indicators of heat stress in shaded and non-shaded feedlot cattle, Part 2: Predictive Relationships. *Biosystems Engineering*. 91 (1): 111–118.
- Ferreira F, Campos WE, Carvalho AU, Pires MF, Martinez ML, Silva MV, Verneque RS, Silva PF. 2009. Taxa de sudação e parâmetros histológicos de bovinos submetidos ao estresse calórico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 61 (4): 763-768.
- Ferreira F, Pires MF, Martinez ML, Coelho SG, Carvalho AU, Ferreira PM, Facury-Filho EJ, Campos WE. 2006. Physiologic parameters of crossbred cattle subjected to heat stress. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 58 (5): 763-768.
- Finch VA. 1986. Body temperatura in cattle: its control and relevance to production in the tropics. *Journal of Animal Science*. 62: 531-542.

- Finch VA, Bennett IL, Holmes CR. 1982. Sweating response in cattle and its relation to rectal temperature, tolerance of sun and metabolic rate. *Journal of Agricultural Science*. 99: 479-487.
- Findlay JD, Yang SH. 1950. The sweat glands of Ayrshire cattle. *Journal of Agricultural Science*. 40: 126-133.
- Flamenbaum A, Wolfenson D, Mamen M, Berman A. 1986. Cooling dairy cattle by a combination of sprinkling and forced ventilation and its implementation in the shelter system. *Journal of Dairy Science*. 69: 3140-3147.
- Frazzi E, Calamari L, Calegari F, Stefanini L. 2000. Behavior of dairy cows in response to different barn cooling systems. *Transaction of the American Society of Agricultural Engineers*. 43 (2): 387-394.
- Gallardo M, Valtorta S. 2011. Producción y bienestar animal. Estrés por calor en ganado lechero: impactos y mitigación. Editorial Hemisferio Sur S.A. Argentina. 128 pp.
- Gallardo MR, Valtorta SE, Leva PE, Gaggiotti MC, Conti GA. 2005. Diet and cooling interactions on physiological responses of grazing dairy cows, milk production and composition. *Journal of International Biometeorology*. 50: 90-95.
- Gallardo MR, Valtorta SE, Castro HC, Gagliotti MC, Quaino OR. 1993. Sombra artificial y suplementación para vacas lecheras en verano. II Producción y composición química de la leche. *Revista Argentina de Producción Animal* 12 (Supl 1) 32.
- Gebremedhin KG. 2012. Impact of the hot environment on nutrient requirements. En: Collier J, Collier JL. (Eds.). *Environment Physiology of Livestock*. Iowa: Jhon Wiley and Sons, Inc. 35-48.
- González VF. 2004. Estrategias de manejo para mejorar la producción de sólidos totales en leche de vacas Holando en verano. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 86 p.
- Hahn GL, Gaughan TL, Mader TL, Eigenberg RA. 2009. Chapter 5: Thermal indices and their applications of livestock environments. En: DeShazer JA. (Eds.). *Livestock Energetic and Thermal Environment Management*. St. Joseph. ASABE. 113-130

- Hahn GL. 1997. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *Journal of Animal Science*. 77: 10-20.
- Hansen PJ. 2004. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal Reproduction Science*. 82 (83): 349–360.
- Haydock KP, Shaw NH. 1975. The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 15: 663-670.
- Hertig B. 1972. Medición del medio ambiente físico. En: Hafez, E. (Eds.). *Principios de la Adaptación Animal*. México. Herrero S.A. 438-456.
- IDF (International Dairy Federation). 2000. Whole milk - Determination of milk fat, protein and lactose content - Guidance for the operation of mid-infrared instruments. IDF Standard No 141C. Brussels, Belgium. 12 p.
- Igono MO, Johnson HD, Steevens BJ, Krause GF, Shanklin MD. 1987. Physiological, productive, and economic benefits of shade, spray, and fan system versus shade for Holstein cows during summer heat. *Journal of Dairy Science*. 70 (5): 1069-1079.
- INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria). 2011. Campaña: Menos estrés más plata. 300 millones de pesos se pierden cada verano por efecto de las altas temperaturas sobre los rodeos lecheros: se trata del estrés por calor. Hay maneras de reducir su impacto. [en línea]. 30 mayo 2012. http://anterior.inta.gov.ar/lecheria/menosestres/default_2.htm
- Invernizzi G, Marziotte G. 1998. Efecto de diferentes confort térmico sobre la producción de leche en verano. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 109 p.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2007. Working Group II Contribution to the Fourth Assessment Report, Climate Change 2007: Climate Change Impacts, Adaptation and Vulnerability, Summary for Policymakers. [en línea]. 15 setiembre 2011. <http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/wg2/ar4-wg2-spm.pdf>.

- IUPS (International Union of Physiological Sciences). 2001. Glossary of terms for thermal physiology. Third Edition. *The Japanese Journal of Physiology*. 51 (2): 245-250.
- Johnson HD. 1987. Bioclimatology and the Adaptation of Livestock. En: Johnson HD (Eds.). *Bioclimatology and adaptation of Livestock*. Amsterdam. Elsevier Netherlands. 279.
- Johnson HD, Vanjonack WJ. 1976. Effects of environmental and other stressors on blood hormone patterns in lactating animals. *Journal of Dairy Science*. 59 (9): 1603-1617.
- Johnson HD, Kibler HH, Ragsdale AC, Berry IL, Shanklin MD. 1961. Role of heat tolerance and production level in responses of lactating Holsteins to various temperature-humidity conditions. *Journal of Dairy Science*. 44: 1191-1123.
- Jordan ER. 2003. Effects of heat stress in reproduction. *Journal of Dairy Science*. 86: 104-114.
- Kadzere CT, Murphy MR, Silanikove N, Maltz E. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livestock Production Science*. 77: 59-91.
- Kamal TH, Johnson HD. 1971. Total body solids loss as a measure of a short-term heat stress in cattle. *Journal of Animal Science*. 32 (2): 306-311.
- Kelley RO, Martz FA, Johnson HD. 1967. Effects of environmental temperature on ruminal volatile fatty acid levels with controlled feed intake. *Journal of Dairy Science*. 50: 531-533.
- Kendall PE, Verkerk GA, Webster JR, Tucker CB. 2007. Sprinklers and shade cool cows and reduce insect-avoidance behavior in pasture-based dairy systems. *Journal of Dairy Science*. 90: 3671-3680.
- Lanham JK, Coppock CE, Milam KZ, Labore JM, Nave DH, Stermer RA, Brasington CF. 1986. Effects of drinking water temperature on physiological responses of lactating Holstein cows in summer. *Journal of Dairy Science*. 69: 1004-1012.
- Leva PE, Garcia MS, Veles MA, Valtorta SE. 2005. Respuestas fisiológicas de vacas Holando Argentino y cruce Jersey-Holando en la cuenca lechera Santafesina. *Revista FAVE. Ciencias Agrarias*. 4: 1-2.

- Leva PE, Valtorta S, Fornasero LV. 1996. Disminución de la producción lechera estival: situación actual y efecto del cambio global. Resúmenes del 20° Congreso de Producción Animal. Argentina. Revista Argentina de Producción Animal. 16 (1): 26.
- Lin JC, Moss BR, Koon JL, Flood CA, Smith RC, Cummins KA, Coleman, DA. 1998. Comparison of various fan, sprinkler, and mister systems in reducing heat stress in dairy cows. Applied Engineering In Agriculture. 14 (2): 177-182.
- Mader TL, Concord NE, Davis S, Gaughan GB, Brown-Brandl TM. 2004. Wind speed and solar radiation adjustments for the temperature-humidity index. [en línea]. 26 Agosto 2014. https://ams.confex.com/ams/AFAPURBBIO/techprogram/paper_77847.htm.
- Maust LE, McDowell RE, Hooven NW. 1972. Effect of summer weather on performance of Holstein cows in three stages of lactation. Journal of Dairy Science. 55: 1133-1139
- McDowell RE, Hooven NW, Camoens JK. 1976. Effect of climate on performance of Holsteins in first lactation. Journal of Dairy Science. 59 (5): 965-973.
- Milam KZ, Coppock CE, West JW, Lanham JK, Nave DH, Labore JM, Stermer RA, Brasington CF. 1986. Effects of drinking water temperature on production responses in lactating Holstein cows in summer. Journal of Dairy Science. 96: 1013-1019.
- Mishra M, Martz FA, Sranleu RW, Johnson HD, Campbell JR, Hilderbrand E. 1970. Effect of diet and ambient temperature-humidity on ruminal pH, oxidation reduction potential, ammonia and lactic acid in lactating cows. Journal of Animal Science. 30: 1023-1028.
- Moody EG, Van-Soest PJ, McDowell RE, Ford GL. 1967. Effect of high temperature and dietary fat on performance of lactating cows. Journal of Dairy Science. 50 (12): 1909-1916.
- Morrison SR, Givens RL, Logreen GP. 1973. Sprinkling cattle for relief from heat stress. Journal of Animal Science. 36 (3): 428-431.

- Muller CJ, Botha JA. 1994. Effect of shade on various parameters of Friesian cows in a Mediterranean climate in South Africa. 1. Feed and water intake, milk production and milk composition South African Journal of Animal Science. 24 (2): 47-55.
- Nääs IA, Arcaro I. 2001. Influência de ventilação e aspersão em sistemas de sombreamento artificial para vacas em lactação em condições de calor. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental. 5(1): 139-142.
- Nardone A, Ronchi B, Lacetera N, Bernabucci U. 1992. Effects of heat stress on milk production and feed intake in Holstein cows. Production Animal. 5: 1-15.
- Nienaber JA, Hahn L. 2007. Livestock production system management responses to thermal challenges. International Journal of Biometeorology. 52: 149–157.
- Nienaber JA, Hahn GL, Eingenberg RA. 2004. Engineering and management practices to ameliorate livestock heat stress. [en línea]. 16 agosto 2012. <http://afrsweb.usda.gov/sp2UserFiles/Place/54380560/Publications/Evora2004.pdf>.
- Nienaber JA, Hahn GL, Brown-Brandl TM, Eingenberg RA. 2003. Heat stress climatic conditions and the physiological responses of cattle. En: Janni, K. (eds). Fifth International Dairy Housing Proceeding of the Conference, ASAE Publication Number 701P0203 Fort Worth. 255-262.
- NRC (National Research Council). 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Seventh revised edition. National Academic Press, Washington DC.
- NRC (National Research Council). 1989. Nutrient requeriments of dairy Cattle. sixth revised edition. National Academic Press, Washington, D.C.
- O'Brien MD, Rhoads RP, Sanders SR, Duff GC, Baumgard LH. 2010. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. Domestic Animal Endocrinology. 38: 86–94.
- O'Brien MD, Cole LC, Wheelock JB, Sanders SR, Duff GC, Baumgard LH, Rhoads RP. 2008. Thermal and nutritional regulation of hepatic gluconeogenic genes in growing beef cattle. Journal of Animal Science 86. (2): 455-467.

- Padula GD, Rovira R. 1999. Efecto de la suplementación con un estimulante comercial de la fisiología digestiva ruminal (BOSPRO®) y de la sombra, sobre el rendimiento de leche y sólidos con valor comercial, el recuento de células somáticas y la variación del peso vivo, condición corporal en vacas lecheras en el último tercio de la lactancia. Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 81p.
- Perera KS, Gwazdauskas FC, Pearson RE, Brumback TB. 1986. Effect of season and stage of lactation on performance of Holstein. *Journal of Dairy Science*. 69: 228–236.
- Pocay PL, Pocay VG, Starling JM, Silva RG. 2001. Respostas fisiológicas de vacas Holandesas predominantemente negras sob radiação solar directa. *Ars Veterinaria*. 17(2): 155-161.
- Purwanto BP, Abo Y, Sakamoto R, Furumoto F, Yamamoto S. 1990. Diurnal patterns of heat production and heart rate under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. *The Journal of Agricultural Science*. 114: 139-142.
- Ravagnolo O, Misztal I, Hoogenboom G. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. *Journal of Dairy Science*. 83: 2120–2125
- Regan WM, Richardson GA. 1938. Reactions of the dairy cows changes in environmental temperature. *Journal of Dairy Science*. 21: 73-79.
- Rhoads ML, Rhoads RP, Vanbaale MJ, Collier RJ, Sanders SR, Weber WJ, Crooker BA, Baumgard LH. 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *Journal of Dairy Science*. 92: 1986–1997.
- Roman-Ponce H, Thatcher WW, Caton D, Barron DH, Wilcox CJ. 1978. Thermal stress effects on uterine blood flow in dairy cows. *Journal of Animal Science*. 46: 175-180.
- Roman-Ponce H, Thatcher WW, Buffington DE, Wilcox CJ, Van Horn HH. 1977. Physiological and production responses of dairy cattle to a shade structure in a subtropical environment. *Journal of Dairy Science*. 60 (3): 424-430.

- Ronchi B, Stradaoli G, Verini-Supplizi A, Bernabucci U, Lacetera N, Accorsi PA, Nardone A, Seren E. 2001. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17b, LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livestock Production Science*. 68: 231–241.
- Ronchi B, Bernabucci U, Lacetera N, Supplizi V, Nardone A. 1999. District and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status of Holstein heifers. *Zootecnica e Nutrizione Animale*. 25: 11-20.
- Saravia C. 2009. Efecto del estrés calórico sobre las respuestas fisiológicas y productivas de vacas Holando y Jersey. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 140 p.
- Saravia C, Bentancur O, Cruz G. 2003. Caracterización de diferentes situaciones del ambiente utilizando esferas de Vernon. En: Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, (13º, 2003, Santa Maria, Brasil). Anais. Santa Maria, SBA/UFSM/UNIFRA. pp 651-652.
- Schirmann K, Chapinal N, Weary DN, Heuwieser H, Von-Keyserlingk MAG. 2012. Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 95: 3212–3217
- Schneider PL, Beede DK, Wilcox CJ, Collier RJ. 1984. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 67: 2546-2553.
- Seath DM, Miller GD. 1946. Effect of warm weather on grazing performance of milking cows. *Journal of Dairy Science*. 29: 199-206.
- Shwartz G, Rhoads ML, Vanbaale MJ, Rhoads RP, Baumgard LH. 2009. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 92: 935–942.
- Spiers D.E. 2012. Physiological basics of temperatura regulation in domestic animals. En: Collier J, Collier JL. (Eds.). *Environment Physiology of Livestock*. Iowa: John Wiley and Sons, Inc. 17-34.

- Spiers DE, Spain JN, Sampson JD, Rhoads RP. 2004. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. *Journal of Thermal Biology*. 29: 759–764.
- Sprinkle JE, Holloway JW, Warrington BG, Ellist WC, Stuth JW, Forbes TD, Greene W. 2000. Digesta kinetics, energy intake, grazing behavior, and body temperature of grazing. *Journal of Animal Science*. 78: 1608-1624.
- St-Pierre NR, Cobanov B, Schnitkey G. 2003. Economic losses from heat stress by US Livestock Industries. *Journal of Dairy Science*. 86: 52-77.
- Streffer C. 1982. Aspects of biochemical effects by hyperthermia. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*. 61:11-7.
- Tapki I, Sahin A. 2006. Comparison of the thermoregulatory behaviours of low and high producing dairy cows in a hot environment. *Animal Behaviour Science*. 99: 1–11.
- Tarazón-Herrera M, Huber JT, Santos J, Mena H, Nusso L, Nussio C. 1999. Effects of bovine somatotropin and evaporative cooling plus shade on lactation performance of cows during summer heat stress. *Journal of Dairy Science*. 82: 2352–2357.
- Thom EC. 1959. The discomfort index. *Weatherwise*. 12: 57-59.
- Thomas CK, Pearson RA. 1986. Effects of ambient temperature and head cooling on energy expenditure, food intake and heat tolerance of Brahman and Brahman x Friesian cattle working on treadmills. *Animal Production*. 43: 83-90.
- Tucker CB, Rogers AR, Schutz KE. 2008. Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Applied Animal Behavior Science*. 109: 141-154.
- Valtorta SE, Leva PE, Garcia MS; Rodríguez RO. 2008. Régimen Agroclimático de olas de calor en la provincia de Santa Fe, Argentina. *Revista FAVE-Ciencias Agrarias* 7(1-2).
- Valtorta SE, Gallardo MR. 2004. Evaporative cooling for Holstein dairy cows under grazing conditions. *Journal International Biometeorology*. 48: 213-217.

- Valtorta SC, Gallardo MR, Leva PE. 2004. Olas de calor: impacto sobre la producción lechera en la cuenca central de Argentina. En: X Reunión Argentina y IV latinoamericana de Agrometeorología (5°, 2004, Mar del Plata, Argentina). [en línea]. 26 julio 2012. <http://agro.unc.edu.ar/~clima/AADA/Congresos/MDQ/12.htm>
- Valtorta SE, Leva PE, Gallardo MR, Scarpati OE. 2002. Respuestas de la producción lechera durante eventos de olas de calor en Argentina. En: 15 Conference on Biometeorology and Aerobiology- 16th International Congress on biometeorology (16°, 2002, Kansas City, Missouri). Proceedings. Kansas City. American Meteorological Society. pp 98-101.
- Valtorta SE, Leva PE, Gallardo MR, Fornasero LV, Veles MA, Garcia MS. 1997. Producción de leche: respuestas a la alta temperatura. Archivo Latinoamericano de Producción Animal. 5 (1): 399-401.
- Valtorta SE, Gallardo MR. 1996. El estrés por calor en producción lechera. En: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (ed.) Miscelánea N° 81. Rafaela, Argentina. pp. 173-185.
- Valtorta SE, Gallardo MR, Castro HC, Castelli ME. 1996. Artificial shade and supplementation effects on grazing dairy cows in Argentina. Transaction of the American Society of Agricultural Engineers. 39 (1): 233-236.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74: 3583-3597.
- West JW. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. Journal of Dairy Science. 86: 2131–2144.
- West JW, Mullinix BG, Bernard JK. 2003. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 86: 232–242.
- West JW, Hill GM, Fernandez JM, Mandebvu P, Mullinix B. G. 1999. Effects of dietary fiber on intake, milk yield, and digestion by lactating dairy cows during cool or hot, humid weather. Journal of Dairy Science. 82: 2455–2465.

- Wheelock JB, Rhoads RP, Vanbaale MJ, Sanders SR, Baumgard LH. 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 93: 644–655.
- Widowski TM. 2001. Shade-seeking behavior of rotationally-grazed cows and calves in a moderate climate. En: *International Symposium of Livestock Environment (6^o, 2001, Louisville, Kentucky)*. International Symposium of Livestock Environment. Ray Bucklin and Robert W. Bottcher. pp 632-639.
- Younas M, Fuquay JW, Smith AE, Moore AB. 1993. Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *Journal of Dairy Science*. 76 (2): 430–436.
- Yousef MK. 1985. Stress physiology: definition and terminology. En: Yousef MK. (Eds.). *Stress physiology in livestock*. Florida: Boca Raton. 3-7.
- Zimelman RB, Rhoads RP, Baumgard LH, Collier RJ. 2009. Revised temperature humidity index (THI) for high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 92: E-Suppl. 1-347.

6. ANEXOS

6.1. ANEXO 1: CRONOGRAMA DE MEDICIONES

Cronograma de mediciones experimentales según día experimental (DE): Composición de leche (grasa (G), proteína (P), lactosa (Lac), urea en leche (MUN) y recuento de células somáticas (RCS)), variables fisiológicas en la mañana y tarde (temperatura rectal (TR) y frecuencia respiratoria (FR)), evaluación del comportamiento (Comp), muestreo de sangre (Sangrado), estimación de consumo (consumo) y peso vivo y condición corporal (PV y CC).

DE	Composición de leche		TR y FR		Comp	Sangrado	Consumo	PV y CC
	G, P, Lac	MUN	am	pm				
0			x	x				
1								
2	x							
3								
4	x		x	x				
5								
6								
7	x	x			x			x
8	x		x	x				
9	x	x				x		
10								
11	x	x	x	x				
12								
13								
14	x	x						
15								
16	x							
17	x	x				x		
18	x	x	x	x				
19								
20								

21	x	x						
22								
23	x	x						
24	x	x			x			x
25	x	x	x	x				
26	x							
27	x							
28	x							
29	x	x	x	x		x		
30	x	x					x	
31	x	x					x	
32	x	x	x	x				
33								
34	x	x						
35	x	x						x
36	x		x	x				
37	x			x		x		
38	x			x				
39	x				x			
40								
41								
42	x	x		x				
43	x	x						
44	x	x						
45	x		x	x				
46	x	x	x	x				
47								
48								
49	x						x	x
50	x						x	

51	x			x			x	
52	x				x			
53			x	x		x		
54								
55	x							
56	x							
57	x	x		x				
58	x	x						
59	x	x						
60								
61	x	x						
62	x	x						
63	x							
64	x		x	x				
65	x	x	x	x		x		
66	x	x			x			
67	x	x						
68								
69								
70	x	x					x	x
71	x	x					x	
72	x	x					x	
73								
74			x	x				
75								
76								
77								
78			x	x				
79								
80					x			

81	x	x	x	x				x
----	---	---	---	---	--	--	--	---

6.2. ANEXO 2: CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DIARIA

ITH y horas diarias con ITH ≥ 72 en los día experimentales.

Fecha	Día experimental	Tmed	Tmax	Tmin	HR	ITH	hrsITH ≥ 72
10/12/2012	0	23	32,5	17,5	71	70,9	8
11/12/2012	1	21,5	28,1	16,3	64	68,2	4
12/12/2012	2	24,5	31,9	16	63	72,4	12
13/12/2012	3	23,9	28,3	19,9	49	70,2	3
14/12/2012	4	23,6	30,2	16,2	60	70,8	9
15/12/2012	5	25,1	31,5	20	62	73,2	12
16/12/2012	6	20,9	25,1	14,6	89	68,9	0
17/12/2012	7	19,9	25,1	14,6	60	65,6	0
18/12/2012	8	18,6	25	14,7	78	64,6	0
19/12/2012	9	21,7	24,3	17,4	84	69,9	8
20/12/2012	10	22,8	28,9	17,1	86	71,9	0
21/12/2012	11	21	26,8	15,2	54	66,8	0
22/12/2012	12	22,5	30	14,6	50	68,5	8
23/12/2012	13	24,6	32,5	16,4	67	72,9	14
24/12/2012	14	30	35,8	24	72	81,7	24
25/12/2012	15	22,5	27,8	17,4	75	70,5	4
26/12/2012	16	18,7	22,4	16,1	68	64,3	0
27/12/2012	17	18,3	22,4	14	72	63,9	0
28/12/2012	18	20	27,1	14,2	65	66,1	2
29/12/2012	19	22,7	28,3	17,8	64	69,9	10
30/12/2012	20	25,7	32,3	18,1	66	74,5	13
31/12/2012	21	25	31,7	20,2	74	74,3	11
01/01/2013	22	16,4	20,6	12,3	57	60,9	,
02/01/2013	23	16,7	22,2	12	63	61,2	,
03/01/2013	24	19,2	26,2	11,5	65	64,9	0
04/01/2013	25	23,4	31	16,8	74	71,8	12
05/01/2013	26	23,9	30,1	18,8	73	72,5	13
06/01/2013	27	23,9	29,6	18,6	78	72,9	13
07/01/2013	28	25,1	31	21	73	74,3	15
08/01/2013	29	24,2	29,2	20,9	73	72,9	11
09/01/2013	30	23,5	29,6	15,3	65	71,1	10

10/01/2013	31	23,9	30,4	17,3	61	71,4	10
11/01/2013	32	23,4	31,6	17,2	58	70,4	10
12/01/2013	33	22,5	28,9	15,3	64	69,6	10
13/01/2013	34	24,3	29,2	18	63	72,1	10
14/01/2013	35	24,4	29,2	17	71	73,1	10
15/01/2013	36	24,7	29	19,8	69	73,3	11
16/01/2013	37	25,2	30	18,8	68	73,9	13
17/01/2013	38	24,7	27,1	21,8	78	74,2	11
18/01/2013	39	23,8	27	20,1	76	72,6	10
19/01/2013	40	20,6	25,2	16,1	76	67,6	0
20/01/2013	41	20,5	24,9	13,5	68	66,9	0
21/01/2013	42	21,1	26,3	15	72	68,1	5
22/01/2013	43	23,4	29,9	17,6	70	71,5	10
23/01/2013	44	25,9	33,2	20	70	75,2	15
24/01/2013	45	27,3	34,6	19,7	68	77,1	14
25/01/2013	46	17,9	22	14,1	61	62,9	0
26/01/2013	47	19,4	26,1	11	46	64,3	0
27/01/2013	48	23,3	31,3	14,8	46	69,2	8
28/01/2013	49	26,6	34,6	19,2	47	73,5	13
29/01/2013	50	26	31,5	19,6	58	73,9	16
30/01/2013	51	25,8	34	18,7	67	74,7	15
31/01/2013	52	25,7	32,2	19,7	75	75,5	15
01/02/2013	53	28,2	35,5	21	64	77,8	17
02/02/2013	54	23,6	27,1	20,4	68	71,6	11
03/02/2013	55	19,2	22,7	14	56	64,5	0
04/02/2013	56	19	27	9,8	62	64,5	0
05/02/2013	57	22,3	30,5	14,1	59	68,9	8
06/02/2013	58	23,1	30,3	16,2	65	70,6	8
07/02/2013	59	22,9	30,3	15,6	74	71,1	10
08/02/2013	60	24,1	30,8	18,9	69	72,4	11
09/02/2013	61	25,6	33,8	19,6	69	74,6	14
r10/02/2013	62	24,9	32,4	21	80	74,7	16
11/02/2013	63	24,5	29,3	21,2	75	73,6	13
12/02/2013	64	26,4	32,4	19,8	69	75,8	14
13/02/2013	65	24,6	31,1	21,1	73	73,6	12
14/02/2013	66	24	29,8	19,8	79	73,2	12
15/02/2013	67	24,7	30,8	18,2	73	73,7	13
16/02/2013	68	26,8	33,5	21	71	76,7	15
17/02/2013	69	25,3	29,8	20,2	72	74,5	15

18/02/2013	70	20,4	23,4	16,7	54	66,0	0
19/02/2013	71	16,5	18,6	14,7	75	61,2	0
20/02/2013	72	18,4	23	15,7	84	64,5	0
21/02/2013	73	19,3	24,5	17	84	65,9	0
22/02/2013	74	20,9	28,1	15,5	67	67,5	6
23/02/2013	75	23	29	17,1	68	70,7	8
24/02/2013	76	21,8	26,2	19,8	88	70,4	6
25/02/2013	77	17,9	22,4	15,7	69	63,1	0
26/02/2013	78	16,1	21,5	9,2	67	60,4	0
27/02/2013	79	17,1	23,4	10	68	61,9	0
28/02/2013	80	18,6	25,7	13,2	71	64,3	0
01/03/2013	81	21,7	29,2	14,5	67	68,7	8

6.3. ANEXO 3: ESFERAS DE VERNON

Cantidad de horas diarias y horario en que las temperaturas de las esferas ubicadas en el tratamiento SAV son significativamente diferentes ($P > 0,05$) a las ubicadas en la SOM (SAV vs SOM), las temperaturas del SOM son significativamente diferentes ($P > 0,05$) a las del SOL (SOM vs SOL) y las temperaturas de las esferas del SAV son significativamente diferentes ($P > 0,05$) a las del SOL (SAV vs SOL).

Fecha	Día experimental	N° de horas			Horario		
		SAV vs SOM	SOM vs SOL	SAV vs SOL	SAV vs SOM	SOM vs SOL	SAV vs SOL
11/12/2012	1	1	4	5	12	16, 19	12
12/12/2012	2	2	2	3	11, 12	12, 15	11, 15,17
13/12/2012	3	0	6	4		12,13, 15 a 18	15 a 18
14/12/2012	4	0	0	0			
15/12/2012	5	0	3	2		15, 17, 18	17,18
16/12/2012	6	0	0	0			
17/12/2012	7	0	2	2		15,16	15,16

18/12/2012	8	0	0	1			18
19/12/2012	9	0	0	0			
20/12/2012	10	0	0	0			
21/12/2012	11	0	7	6		12, 14 a 19	12, 15-19
22/12/2012	12	0	1	0		15	
23/12/2012	13	0	6	5		13-18	13- 15 a 18
24/12/2012	14	0	0	0			
25/12/2012	15	0	0	0			
26/12/2012	16	0	0	0			
27/12/2012	17	0	2	3		12,14	12,14, 18
28/12/2012	18	0	0	2			17,18
29/12/2012	19	0	0	0			
30/12/2012	20	0	2	2		17,18	17,18
31/12/2012	21	0	0	0			
01/01/2013	22	0	0	0			
02/01/2013	23	0	1	2		17	17,18
03/01/2013	24	0	0	1			17
04/01/2013	25	0	4	4		12, 15, 16	12,13, 16, 17
05/01/2013	26	0	0	0			
06/01/2013	27	0	1	1		12	12
07/01/2013	28	0	3	5		16, 18	15, 19
08/01/2013	29	0	3	4		12 a 14	12 a16
09/01/2013	30	0	0	5		12 a 16	
10/01/2013	31	0	2	5		13, 14	12 a 16
11/01/2013	32	0	0	4		12,13,	

						17, 18	
12/01/2013	33	0	1	3		16	15 a 17
13/01/2013	34	0	3	4		12 a 14	12 a 14
14/01/2013	35	0	1	1		12	12
15/01/2013	36	0	1	3		13	13 a 15
16/01/2013	37	0	3	2		13,14, 16	14, 16
17/01/2013	38	0	1	1		12	12
18/01/2013	39	0	1	2		12	12,13
19/01/2013	40	0	0	0			
20/01/2013	41	0	1	1		12	12
21/01/2013	42	0	1	1		13	13
22/01/2013	43	0	3	4		13, 15	13,15, 18
23/01/2013	44	0	0	2			16,18
24/01/2013	45	0	0	1			17
25/01/2013	46	0	1	0		12	
26/01/2013	47	0	3	4		15, 18, 19	15, 17 a 19
27/01/2013	48	0	1	1		15	17
28/01/2013	49	0	0	1			17
29/01/2013	50	0	3	3		12,13, 15	12,13, 15
30/01/2013	51	0	2	3		12, 14	12, 14, 17
31/01/2013	52	0	2	3		13, 15	11, 13, 15
01/02/2013	53	0	0	0			

02/02/2013	54	0	0	0			
03/02/2013	55	0	0	0			
04/02/2013	56	0	5	5		12 a 16	12 a 16
05/02/2013	57	0	3	4		12, 13, 15	12, 13, 15, 17
06/02/2013	58	0	2	2		12, 14	12, 14
07/02/2013	59	0	2	2		12, 14	12, 14
08/02/2013	60	0	2	2		12, 13	12,13
09/02/2013	61	0	3	3		12,13, 15	12, 13, 14
10/02/2013	62	0	0	1			13
11/02/2013	63	0	1	3		16	16,17, 18
12/02/2013	64	0	0	0			
13/02/2013	65	0	0	0			
14/02/2013	66	0	3	3		12, 14, 15	12, 15, 17
15/02/2013	67	0	2	2		12, 13	12, 13
16/02/2013	68	0	1	2		14	14, 16
17/02/2013	69	0	0	1			17
18/02/2013	70	0	0	0			
19/02/2013	71	0	0	0			
20/02/2013	72	0	0	0			
21/02/2013	73	0	0	0			
22/02/2013	74	0	0	2			12,18
23/02/2013	75	0	0	0			
24/02/2013	76	0	0	0			
25/02/2013	77	0	0	0			
26/02/2013	78	0	0	0			

27/02/2013	79	0	1	4		18	12,13, 14,18
28/02/2013	80	1	0	1	17		17
01/03/2013	81	0	0	0			

6.4. ANEXO 4: BLACK GLOBE HUMIDITY INDEX

BGHI según día experimental y cantidad de horas diarias y horario en que las temperaturas de las esferas ubicadas en el tratamiento SAV son significativamente diferentes ($P > 0,05$) a las ubicadas en la SOM (SAV vs SOM), las temperaturas del SOM son significativamente diferentes ($P > 0,05$) a las del SOL (SOM vs SOL) y las temperaturas de las esferas del SAV son significativamente diferentes ($P > 0,05$) a las del SOL (SAV vs SOL).

Día experimental	SAV	SOL	SOM	SAV vs SOL	SOM vs SOL	SAV vs SOM
0	70,4	72,8	73,2	1	0	1
1	70,8	74,1	71,5	7	6	1
2	73,6	76,3	73,9	6	3	0
3	69,1	71,7	69,3	6	5	0
4	72,9	74,5	73,1	0	0	0
5	73,4	74,6	73,4	2	4	0
6	66,5	68,1	66,8	1	1	0
7	65,0	66,5	65,2	2	2	0
8	69,7	71,3	69,8	0	0	0
9	71,0	71,5	71,1	0	0	0
10	66,7	68,5	66,7	1	1	0
11	68,4	71,1	68,0	7	6	0
12	71,0	73,4	70,9	2	2	0
13	79,4	82,0	79,3	4	5	0
14	78,2	79,3	78,3	0	0	0
15	66,5	68,2	66,6	0	0	0
16	65,5	67,3	65,4	1	1	0

17	66,1	67,7	66,2	2	1	0
18	69,6	71,9	70,0	1	0	0
19	72,3	74,0	72,5	0	0	0
20	77,6	79,6	77,7	1	1	0
21	65,0	66,0	65,0	0	0	0
22	62,8	65,0	62,6	4	4	0
23	63,9	65,9	63,7	0	1	0
24	69,8	71,8	69,7	2	2	0
25	75,0	76,1	74,2	1	2	0
26	74,6	76,7	74,5	3	2	0
27	75,0	76,8	75,2	1	0	0
28	75,9	79,2	76,4	8	5	0
29	71,5	73,8	71,9	5	3	0
30	71,6	74,1	72,0	5	1	0
31	71,9	74,4	72,3	5	1	0
32	72,4	74,7	72,6	0	0	0
33	72,6	75,5	72,9	7	5	0
34	72,1	74,6	72,3	5	4	0
35	72,3	74,7	72,5	3	1	0
36	73,3	75,3	73,5	2	0	0
37	74,5	76,5	74,7	3	3	0
38	72,8	74,3	72,9	2	0	0
39	70,7	72,2	70,9	0	0	0
40	66,9	68,9	67,1	3	3	0
41	68,0	70,2	68,2	2	1	0
42	70,8	73,1	70,9	1	1	0
43	73,5	75,8	73,7	3	2	0
44	76,3	78,1	76,6	0	0	0
45	72,0	72,5	72,6	0	0	0
46	62,9	63,6	63,3	0	0	0

47	66,2	69,2	66,9	5	4	0
48	72,0	74,1	72,4	1	1	0
49	75,9	78,7	76,5	3	2	0
50	75,7	78,3	76,1	4	4	0
51	76,3	79,0	76,6	5	4	0
52	76,1	78,0	76,3	1	1	0
53	77,5	79,0	77,6	0	0	0
54	67,0	68,5	67,3	1	1	0
55	61,9	64,3	62,2	3	4	0
56	67,2	69,4	67,4	5	5	0
57	70,2	72,5	70,3	4	2	0
58	71,0	73,3	71,2	4	3	0
59	72,6	74,9	72,8	4	4	0
60	72,8	74,9	73,0	3	2	0
61	76,0	78,1	76,1	2	3	0
62	72,8	73,5	73,0	0	0	0
63	73,6	76,2	74,1	4	2	0
64	74,7	76,1	75,1	0	0	0
65	73,2	75,0	73,6	1	1	0
66	73,7	76,2	73,9	7	6	0
67	74,9	77,0	75,1	1	0	0
68	77,1	79,0	77,3	2	2	0
69	70,3	71,5	70,7	0	0	0
70	63,6	64,1	63,9	0	0	0
71	63,6	64,2	63,9	0	0	0
72	66,8	67,2	67,1	0	0	0
73	66,9	69,1	67,2	1	0	0
74	69,0	70,7	69,0	1	1	0
75	72,4	73,7	72,4	0	0	0
76	67,9	69,3	68,2	0	0	0

77	61,6	62,9	62,1	0	0	0
78	62,5	64,8	63,0	4	2	0
79	64,8	66,8	65,1	4	2	0
80	75,7	80,0	75,4	0	0	0

6.5. ANEXO 5: CARACTERIZACIÓN CLIMÁTICA DE LAS SESIONES DE ASPERSIÓN Y VENTILACIÓN

Temperatura (T;°C) y humedad relativa (HR; %) del aire al iniciar (0) y terminar (2) la sesión de aspersión y ventilación y la diferencia entre ellas (T₂-T₀;°C y HR₂-HR₀;) en la sesión de la mañana y la tarde según día experimental (DE)

DE	Mañana						Tarde					
	T ₀	T ₂	T ₂ -T ₀	HR ₀	HR ₂	HR ₂ -HR ₀	T ₀	T ₂	T ₂ -T ₀	HR ₀	HR ₂	HR ₂ -HR ₀
8	22,2	18,9	-3,3	59,6	69,5	9,9	23,8	24,9	1,1	67,8	65	-2,8
10	23	23,2	0,2	73	72,8	-0,2	23,6	25	1,4	80,8	77	-3,8
11	22,6	24,1	1,5	81,1	78,3	-2,8	22,8	25,2	2,4	68,8	60,8	-8
12	23,6	25,1	1,5	51,3	38,6	-12,7	24,8	27,4	2,6	32,4	28,2	-4,2
13	24	25,6	1,6	59,1	55,4	-3,7	36,5	29,9	-6,6	27,3	34,4	7,1
14	35,1			32,9								
15	29,4	30,6	1,2	73,6	70,7	-2,9						
16	21,2	21,7	0,5	56,6	56,1	-0,5	23,8	23,8	0	47,6	47,8	0,2
17	22,6	23,2	0,6	55,6	54,7	-0,9	23,8	25,6	1,8	57,5	51,4	-6,1
18	21,2	21	-0,2	61,3	62	0,7	32,6	28,9	-3,7	34,5	39	4,5
19												
20												
21	27,2	30,4	3,2	72,2	63,4	-8,8						
22	19,8	20,2	0,4	49,9	48,4	-1,5	24,6			39,2		
23	22,7	23,9	1,2	44	35,9	-8,1	23	25,5	2,5	59	41,5	-17,5
24	20,8	23,8	3	65,8	54,4	-11,4	23,1	27,7	4,6	51,6	44,3	-7,3
25	23	25,7	2,7	70,4	66	-4,4	28,9	30,6	1,7	61,4	56,9	-4,5

26	25,2	26,4	1,2	72	68,9	-3,1	29,1	28,9	-0,2	61,5	54,6	-6,9
27	26,4	26,7	0,3	72,5	67	-5,5	33,8	30,5	-3,3	48,5	58,7	10,2
28	26,9	26,8	-0,1	70,3	70,7	0,4	32,9	32	-0,9	55,2	51,5	-3,7
29		29,1			63		30,2	27,3	-2,9	63,6	68,8	5,2
30	27,5	26,7	-0,8	52	55	3	28,5	29,5	1	55,3	51,5	-3,8
31	25,7	29,1	3,4	59	44	-15	27,4	30,7	3,3	59	47,7	-11,3
32	26,4	26,9	0,5	55,8	45,4	-10,4	27,8	31,1	3,3	40,6	37,2	-3,4
33	25,3	25,1	-0,2	56,6	57	0,4	30,1	31,1	1	46	42	-4
34	26,2			57			37	30,8	-6,2	33	44	11
35	28	25,8	-2,2	55	60	5	29,5	34,1	4,6	56	43	-13
36	26,6	25,8	-0,8	60	58,7	-1,3	28,1	30,5	2,4	58	55	-3
37	27,1	28,5	1,4	62	58	-4	31,5	30,5	-1	50	54	4
38	25,5	23,7	-1,8	75	80	5						
39	24,4	24	-0,4	76,9	80,2	3,3	27,6	29,8	2,2	59	59	0
40	21,1	22,3	1,2	80,7	74,6	-6,1	26,8	26,4	-0,4	50,5	49,2	-1,3
41	20,4	22,7	2,3	65,3	57,8	-7,5	29,9	26,4	-3,5	44,9	50,7	5,8
42	21,9	24	2,1	66,5	58	-8,5	28,4	27,5	-0,9	50	51,8	1,8
43	25,7			58,5			27,5			53,4		
44	26,1	25,4	-0,7	68,1	69,4	1,3	28,2	32,1	3,9	56,8	45	-11,8
45	27	27	0	69,1	62,5	-6,6	34,6	34,1	-0,5	43	47,1	4,1
46	21,2	19	-2,2	50,5	60,9	10,4	22,5	21,5	-1	42,6	45,4	2,8
47	23,4	21,9	-1,5	45	46,6	1,6	26,5	29	2,5	29	28	-1
48	22,8	23,7	0,9	47	44,7	-2,3	30,5	30,5	0	33,1	34,2	1,1
49	30,7	28,6	-2,1	35	41	6	31,6	33,8	2,2	45	39	-6
50	33,4	32	-1,4	83	40	-43	31,5	32,6	1,1	46	40	-6
51	31,4	29,8	-1,6	56	62	6	38,8	34,2	-4,6	45	39	-6
52	32,1	28,6	-3,5	60	61	1	35	31,8	-3,2	53	59	6
53	31,1	28,7	-2,4	60	67,7	7,7	34,6	35,1	0,5	43	42	-1
54	36	29,2	-6,8	45	61	16	28,3	26	-2,3	53	56	3
55	25,8	21,9	-3,9	44	48	4	26,2	23,9	-2,3	35	39	4

56	26,8	26,9	0,1	37	33	-4	28,1	27,7	-0,4	32	34	2
57	26,4	23,3	-3,1	45	56	11	30,7	30,1	-0,6	40	39	-1
58	23,1	25,3	2,2	31,2	51	19,8	30	29,8	-0,2	42	49	7
59	26,6	25,1	-1,5	60	64	4	29,2	29,2	0	52	55	3
60	31,5	28,6	-2,9	45	53	8	31	28,5	-2,5	44	49	5
61	27,1	26,9	-0,2	62	65	3	33	31	-2	38	52	14
62	27,2	28,2	1	61	58	-3	28,2	21,5	-6,7	69	7	,
63	25,1	25,6	0,5	77	76	-1	29,6	30,9	1,3	54,1	49,9	-4,2
64	32,5	27,1	-5,4	53	68,4	15,4	33,7	32,8	-0,9	45,6	45,3	-0,3
65	25,5	24,7	-0,8	60,5	63,6	3,1	30,5	29,7	-0,8	41,5	44,7	3,2
66	24,5	24,4	-0,1	73,3	77	3,7	32,5	31,5	-1	51	52,6	1,6
67	28,1	28,9	0,8	60,7	57,4	-3,3	29,5	31,5	2	53,7	53,1	-0,6
68	26,8	26,7	-0,1	74,2	74,8	0,6	30,9	30	-0,9	61,1	67,6	6,5
69	28,2	26,5	-1,7	69	70	1	29,8	29,7	-0,1	57,7	57,7	0
70	26,5	23	-3,5	44,2	44,6	0,4	24,8	24	-0,8	36	38,2	2,2
71	20,2	18,8	-1,4	66	71	5	19,1	17,3	-1,8	58,8	67,5	8,7
72	21,1	23,5	2,4	69	62	-7	20,6	20,2	-0,4	81,6	85,1	3,5
73							22,8	26,7	3,9	69,4	55,1	-14,3
74	23,8	23,8	0	53,4	65,6	12,2	24,9	27,8	2,9	57,9	45,6	-12,3
75	21,3	23,4	2,1	68,4	62,5	-5,9	30,3	29,2	-1,1	43,5	49,2	5,7
76							25,2	26,7	1,5	71	69,5	-1,5
77	21,4	18,8	-2,6	63	71,3	8,3	22,5	22	-0,5	49	50,8	1,8
78	21,3	18,5	-2,8	57,1	53,8	-3,3	21,9	21,7	-0,2	44,5	44,8	0,3
79	19,7	20,9	1,2	71	55,4	-15,6	31,1	25,3	-5,8	29,8	34,1	4,3
80	19,3	19,8	0,5	62	60	-2	23,3	24,2	0,9	56	58,6	2,6
81		20					27,2	27,1	-0,1	24,5	30,6	6,1