



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**BIENESTAR DE VACAS LECHERAS EN SISTEMAS MIXTOS
BAJO DOS CONDICIONES DIFERENTES DE CONFINAMIENTO:
INDICADORES COMPORTAMENTALES, BIOQUÍMICOS Y
FISIOLÓGICOS**

MARÍA VICTORIA PONS ROMERO

TESIS DE MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

URUGUAY
2022



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**BIENESTAR DE VACAS LECHERAS EN SISTEMAS MIXTOS
BAJO DOS CONDICIONES DIFERENTES DE CONFINAMIENTO:**

**INDICADORES COMPORTAMENTALES, BIOQUÍMICOS Y
FISIOLÓGICOS**

MARÍA VICTORIA PONS ROMERO

Dr. (PhD) Juan Pablo Damián
Director de Tesis

Dra. (PhD) Lourdes Adrien
Co-directora

Ing. Agr. (PhD) Diego Mattiauda
Co-director

Ing. Agr. (PhD) Pablo Chilibroste
Co-director

2022

INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL DE

DEFENSA DE TESIS

Elize Van Lier; PhD

Facultad de Agronomía

Universidad de la República – Uruguay

Carolina Fiol; PhD

Facultad de Veterinaria

Universidad de la República – Uruguay

Javier Baudraco; PhD

Facultad de Agronomía

Universidad Nacional del Litoral - Argentina



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay



ACTA DE TESIS DE MAESTRÍA

ORIENTACIÓN: PRODUCCIÓN ANIMAL

LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA: PLATAFORMA ZOOM, 18/11/2022

TRIBUNAL: Elize van Lier, Carolina Fiol, Javier Baudracco

CI	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
4667767-3	MARIA VICTORIA PONS ROMERO	S. S. S.	12

NOTA: La calificación mínima para aprobar la defensa es B.B.B (6)

Temática: Muy relevante, internacional y nacionalmente

Tesis escrita: Adecuada, pero es necesario revisar la redacción antes de entregar el documento final

Presentación: Excelente presentación en diseño, animación y explicación oral

Defensa: Muy buena respuesta a las preguntas

Trabajo durante la Maestría: Sólido e independiente

TRIBUNAL	FIRMA
Elize van Lier	
Javier Baudracco	
Carolina Fiol	

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis Juan Pablo, Lourdes, Diego y Pablo. A Juan Pablo por todo el aprendizaje recibido en estos años, por siempre motivarme a mejorar y a presentar los resultados en congresos y seminarios. A Lourdes por estar siempre presente y apoyando los muestreos en el experimento, registrando comportamiento a la par por muchas horas. A Diego y Pablo por el apoyo en el camino, por la oportunidad de presentar resultados a técnicos y productores en las jornadas de Eemac.

A Ana Meikle por los aportes al proyecto y al borrador del primer artículo a ser publicado.

A todos los estudiantes de grado de Fagro y Fvet que realizaron su tesis en el experimento y colaboraron con las evaluaciones de comportamiento.

A Graciana, Lucía, Alejandra y María Noel por el trabajo en conjunto durante el experimento, colaborando en las evaluaciones de comportamiento a toda hora, y con la extracción de pelo y sangre.

A Juan Pablo nuevamente, Paula Pessina, Claudia Meneses, Matías Villagrán y Macarena Córdoba por el apoyo en la determinación de cortisol en pelo.

A ANII por financiar mi beca de maestría, necesaria para el desarrollo de este posgrado.

Al Grupo Operativo de la Plataforma de Lechería y a la Red Tecnológica Sectorial por brindarle a los productores respuestas sobre temas relevantes en los sistemas productivos y permitirnos a los estudiantes llevar a cabo tesis de grado y posgrado en los mismos.

Al grupo SPLuy por aportar diferentes puntos de vista en los seminarios que se realizaron.

A mi familia y a Álvaro por el apoyo en este proceso.

A todos los que aportaron en la formación de mi maestría, gracias.

INDICE

Resumen	11
Summary	12
1. Introducción	13
2. Antecedentes específicos	15
2.1. Sistemas de producción lechera en Uruguay	15
2.2. Bienestar animal en vacas lecheras	17
2.2.1. Indicadores comportamentales	17
2.2.2. Indicadores de salud	19
2.2.3. Indicadores fisiológicos	20
2.2.4. Indicadores bioquímicos y endócrinos	22
2.3. Tipos de encierro en los sistemas de producción de leche y su implicancia en bienestar animal	23
3. Hipótesis	27
4. Objetivos	27
4.1. Objetivo general	27
4.2. Objetivos específicos	27
5. Materiales y métodos	28
5.1. Tratamientos	28
5.2. Alimentación	29
5.3. Comportamiento	32
5.3.1. Comportamiento individual	32
5.3.2. Comportamiento agonista	33
5.4. Escore de locomoción y escore de lesión del tarso	33
5.5. Extracción de pelo y determinación de cortisol	34
5.6. Extracción de sangre y determinación de proteínas sanguíneas	34
5.7. Temperatura subcutánea de vacas lecheras	35
5.8. Precipitaciones e índice de temperatura y humedad	35
5.9. Análisis estadístico	37
6. Resultados	39
6.1. Partos de otoño	39
6.1.1. Comportamiento	39
6.1.2. Escore de locomoción y escore de lesión en piel de tarso	43
6.1.3. Cortisol en pelo	44
6.1.4. Proteínas sanguíneas	45

6.2. Partos de invierno	46
6.2.1. Comportamiento	46
6.2.2. Temperatura subcutánea.....	53
6.2.3. Escore de locomoción y escore de lesión en piel de tarso	54
6.2.4. Cortisol en pelo	55
6.2.5. Proteínas sanguíneas	56
7. Discusión	58
7.1. Partos de otoño.....	58
7.2. Partos de invierno	62
8. Conclusión	67
9. Bibliografía.....	68

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue evaluar si el encierro de tipo *compost barn* (CB) o cielo abierto (CA), utilizado en sistemas mixtos (encierro combinado con pastoreo), afecta el bienestar en vacas lecheras de la raza Holando, utilizando indicadores comportamentales, bioquímicos y fisiológicos. Se utilizaron 32 vacas con partos de otoño y 30 con partos de invierno, asignadas a dos tratamientos (CB o CA) al momento del parto. Durante el confinamiento (medio día) en CB las vacas fueron mantenidas bajo techo con cama de compost (13,5 m²/vaca), incluyendo aspersión y ventilación en verano; mientras que las vacas de CA fueron mantenidas a cielo abierto con un área de sombra (4,8 m²/vaca). En ambos tratamientos, se registró el comportamiento animal en encierro y pastoreo (comiendo, rumiando, bebiendo, echada, parada y caminando) y el número de interacciones agonistas en el encierro durante 5 meses, de vacas paridas en otoño y 3 meses de vacas paridas en invierno. Mensualmente se realizó el *escore* de locomoción y de tarso hasta los 6 meses de lactancia. En diciembre y enero se registró la temperatura subcutánea. Se colectó sangre para determinar creatin kinasa, proteínas totales, albúmina y globulina durante la lactancia de vacas paridas en ambas estaciones. Se colectaron muestras de pelo de la zona del cuello previo al parto y a los 90 y 180 días posparto de vacas paridas en ambas estaciones para determinar cortisol. El análisis estadístico se realizó en cada estación de parto por separado. Las vacas de CA estuvieron menos frecuentemente echadas en el encierro que las de CB ($P \leq 0,003$) en ambas épocas de parto. En la pastura, las vacas con partos de otoño de CA estuvieron más echadas que las de CB ($P = 0,01$). En las vacas con partos de invierno, las de CA estuvieron comiendo menos frecuentemente durante el encierro que las de CB ($P = 0,04$) en el mes de enero ($ITH > 72$). En pastoreo, las vacas CA comieron menos frecuentemente que las vacas CB ($P < 0,001$) durante las dos primeras horas en que se evaluó el comportamiento. La temperatura subcutánea de las vacas de CA fue mayor que la de las vacas de CB durante el encierro ($P < 0,01$), mientras que en pastoreo no se encontraron diferencias entre tratamientos. En las vacas con partos de invierno no se encontraron diferencias entre tratamientos en el comportamiento agonista, mientras que en las vacas paridas en otoño de CB tendieron a desplegar mayor número de interacciones agonistas que las de CA ($P = 0,09$). En el *escore* de locomoción y de lesión en tarso no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. En las vacas de partos de otoño, las de CA tuvieron menores concentraciones de proteínas totales y de globulinas que las de CB ($P \leq 0,02$), mientras que en partos de invierno la creatin kinasa tendió a ser mayor en CA que en CB ($P = 0,07$). En el cortisol en pelo no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. En conclusión, el control del ambiente durante el confinamiento en sistemas mixtos afectó los indicadores de bienestar animal en ambas épocas de lactancia. En base a los diferentes indicadores (comportamentales, bioquímicos, de salud y fisiológicos), se evidenció que el CB brinda mejores condiciones de bienestar para las vacas lecheras que el de CA.

SUMMARY

The objective of this thesis was to evaluate compost barn (CB) or open lot (CA) confinement, used in mixed systems, affects welfare in Holstein dairy cows, using behavioral, biochemical and physiological indicators. Thirty-two cows autumn calving and 30 winter calving were used, assigned to two treatments (CB or CA) at calving. During confinement (half a day) in CB, the cows were kept indoors with a compost litter (13.5m²/cow), including sprinkling and ventilation in summer; while CA cows were kept in the open lot with a shaded area (4.8 m²/cow). Confinement and grazing behavior (eating, ruminating, drinking, lying, standing and walking) and the number of agonistic interactions in confinement were recorded for 5 months of cows autumn calving and 3 months of cows winter calving. Locomotion and tarsus scores were performed monthly up to 6 months of lactation. In December and January, the subcutaneous temperature was recorded. Blood was collected to determine creatine kinase, total proteins, albumin and globulin during lactation from calving cows in both seasons. Hair samples were collected from the neck area prior to calving and at 90 and 180 days postpartum from calving cows in both seasons to determine cortisol. Statistical analysis was performed at each calving station separately. In both calving seasons, cows from CA were less frequently lying on confinement than those from CB ($P \leq 0.003$). On pasture, cows with fall calving from CA were more lying down than those from CB ($P = 0.01$). In cows calving in winter, those from CA were eating less frequently during the confinement than those from CB ($P = 0.04$) in the month of January (ITH > 72). On grazing, CA cows ate less frequently than CB cows ($P < 0.001$) during the first two hours that performance was assessed. The subcutaneous temperature of CA cows was higher than that of CB cows during confinement ($P < 0.01$), while no differences were found between treatments during grazing. In cows calving in winter, no differences were found between treatments in agonist behavior, while CB cows calving in autumn tended to display a greater number of agonistic interactions than CA cows ($P = 0.09$). No significant differences were found between treatments in locomotion and tarsal injury scores. In cows calving in fall, those from CA had lower total protein and globulin concentrations than those from CB ($P \leq 0.02$), while in winter calving creatine kinase tended to be higher in CA than in CB ($P = 0.07$). In hair cortisol, no significant differences were found between treatments. In conclusion, environmental control during confinement in mixed systems affected animal welfare indicators in both lactation periods. Based on the different indicators (behavioral, biochemical, health and physiological), it was shown that CB provides better welfare conditions for dairy cows than CA.

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de leche de base pastoril presentan ventajas desde el punto de vista del bienestar animal (BA) por brindar la posibilidad de acceder a las pasturas. Cuando las vacas acceden al pastoreo pueden expresar los comportamientos naturales de la especie, dedicando el 95% de su tiempo a pastorear, rumiar y permanecer echadas (Charlton & Rutter, 2017). Además, esto también es bien visto por la sociedad, según se vio reflejado en las encuestas de opinión de los consumidores (Cardoso et al., 2019). Sin embargo, los sistemas pastoriles también tienen aspectos que pueden comprometer el BA. La exposición a las condiciones ambientales desfavorables como la lluvia, el barro y las altas temperaturas pueden comprometer el BA (Charlton & Rutter, 2017). También se debe tener en cuenta que la producción lechera en el mundo se ha ido intensificando cada vez más, aumentando la producción por vaca y la cantidad de vacas lecheras (Fariña & Chilbroste, 2019). Esto ha llevado a que las pasturas no sean suficientes para cubrir los requerimientos de mantenimiento y producción, sobre todo en la lactancia temprana y media, donde se produce el pico de producción de leche y las vacas deben recuperar estado corporal y preñarse.

La intensificación de la producción y el aumento de la carga y el mejoramiento genético para producir más leche por vaca, hicieron que en los países que tienen sistemas de base pastoril se fue incorporando en mayor medida el uso de concentrados y ensilajes en forma de ración totalmente mezclada (DTM) (Fariña & Chilbroste, 2019; Kolver, 2003; Lazzarini et al., 2019). Estos sistemas de producción son llamados sistemas mixtos, en los que las vacas acceden a pastoreo y son suplementadas de acuerdo a la cantidad de pastura disponible en cada época del año.

Los sistemas mixtos combinan las ventajas de brindar protección a las vacas frente a las condiciones ambientales, al tiempo que permite que el animal pastoree y por lo tanto contribuya a su bienestar (Arnott et al., 2017; Fike et al., 2003). Los sistemas mixtos que combinan el pastoreo con la suplementación en confinamiento logran el máximo aprovechamiento de las condiciones pastoriles y cubren las necesidades totales de los animales (Bargo et al., 2002; Salado et al., 2020). La suplementación se puede realizar en corrales techados o en potreros al aire libre. Además, se puede incluir ventilación y aspersión para el verano evitando exponer a los animales a las condiciones climáticas extremas de invierno y verano (Smid et al., 2020).

Las exigencias internacionales con respecto al BA son un punto crítico que debe ser tenido en cuenta en los sistemas de producción de leche de nuestro país, donde aproximadamente el 70% de la leche que se produce es exportada (Fariña & Chilbroste, 2019). En Uruguay, aún no existe reglamentación sobre BA en vacas lecheras, sin embargo, es esperable que en un futuro se planteen exigencias para asegurar que la leche producida proviene de animales con un

buen nivel de bienestar. Debido a la falta de información objetiva sobre bienestar en vacas lecheras bajo las condiciones en las que se encuentran en Uruguay es que se decidió comparar sistemas mixtos, que combinan acceso a pastoreo y encierro a cielo abierto. El objetivo fue comparar y generar información sobre un sistema mixto con acceso a pastoreo con encierro a cielo abierto con un sistema en *compost barn*, ambos con acceso a pastoreo. Esto es novedoso ya que los trabajos en sistemas de encierro con *compost barn* son con estabulación total, sin acceso a pastoreo. Además, este sistema se ha comenzado a instalar en nuestro país por algunos productores, por lo que se consideró muy importante generar información sobre ello.

2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

2.1. Sistemas de producción lechera en Uruguay

La producción lechera en Uruguay se fue intensificando, desde 1985 a 2016 se ha producido un aumento de la producción de leche a una tasa de 3,2% por año (597 a 2083 millones de litros), mientras que en los últimos años se ha mantenido estable alrededor de 2200 millones de litros (DIEA, 2021). Este crecimiento en la producción de leche del país está explicado por un aumento en la productividad, dada por aumento de la producción de leche por vaca y de la carga animal (vacas/ha). Estos cambios fueron acompañados por un aumento de la proporción de concentrados y ensilaje en la dieta, aunque las pasturas continúan siendo el principal componente de la dieta de las vacas lecheras (Fariña & Chilibróste, 2019). Debido a la estacionalidad en el crecimiento y disponibilidad de las pasturas, en general, los diferentes sistemas de producción utilizan suplementos en ciertos momentos del año. En las estaciones de otoño e invierno también se suma la mayor proporción de potreros recién sembrados, debido a la secuencia de rotación de gramíneas anuales y pasturas perennes. Debido a esto es que la proporción de pastura, concentrado y ensilaje en la dieta es variable a lo largo del año, dependiendo de la posibilidad de acceso a la pastura. En promedio, la dieta anual de una vaca lechera en Uruguay es $9,5 \pm 0,6$ Kg/MS/día de cosecha directa de pastura, más el suplemento que se compone por $4,2 \pm 0,6$ Kg/MS/día de concentrado y $3,1 \pm 0,6$ Kg/MS/día de forraje (Fariña & Chilibróste, 2019).

En sistemas que utilizan pasturas como alimento es importante concentrar los partos en las épocas donde se puede cosechar mayor cantidad de pasturas y de esta manera minimizar los costos de suplementación. Los sistemas que maximizan el consumo de pastura utilizan menor cantidad de suplemento, y esto lo logran planificando la época de parto y realizando diferentes manejos en la alimentación (Fariña & Chilibróste, 2019). Según lo recabado en la encuesta lechera, el 46% de los partos se dan en otoño, el 21% en invierno, el 24% en primavera y 9% en verano (INALE/MGAP, 2019). Con los partos de otoño se busca evitar el estrés calórico en la lactancia temprana y media, que es cuando este tiene un mayor impacto en la producción de leche. Sin embargo, los meses de otoño e invierno en Uruguay tienen la desventaja que se encuentra mayor cantidad de barro y muchas veces este impide el acceso a las pasturas (Pereira et al., 2017). Los partos de invierno tardío, cercanos a la primavera, buscan hacer coincidir la mayor disponibilidad de pastura cuando los requerimientos de los animales son mayores. Además, también buscan evitar el estrés calórico en la lactancia temprana, momento en que se deben volver a preñar las vacas para el siguiente ciclo productivo. Estas ventajas se pierden si las vacas paren en la primavera tardía y verano (Becker et al., 2020).

A pesar de la planificación de la época de parto y del manejo del pastoreo, siempre surgen momentos en los que las vacas no pueden acceder a las

pasturas. Por ejemplo, las precipitaciones abundantes generan formación de gran cantidad de barro y las bajas temperaturas en invierno disminuyen la tasa de crecimiento de las pasturas. En verano disminuye la tasa de crecimiento de las pasturas debido a las altas temperaturas y al déficit hídrico (Fariña & Chilbroste, 2019). Estas condiciones determinan que las vacas no puedan acceder al pastoreo en algún momento, y por lo tanto queden encerradas a cielo abierto. Estos encierros en invierno suelen estar con mucha cantidad de barro y en algunos casos las vacas no tienen una superficie seca para echarse. En un experimento llevado a cabo en la Estación Experimental Centro Regional Sur de Facultad de Agronomía, se registró el tiempo que las vacas pasaban en la pastura y el que pasaban encerradas a cielo abierto durante un período de tres años. Con una carga de 2 vacas/ha de plataforma de pastoreo encontraron que a lo largo del año las vacas podían acceder a dos turnos de pastoreo el 42% del tiempo, a un turno de pastoreo el 37% del tiempo y el 21% del tiempo no podían acceder al pastoreo y quedaban durante todo el día encerradas alimentándose con DTM. Al diferenciar por estación, en primavera accedían a doble turno de pastoreo, a un turno de pastoreo o no tenían acceso a pastoreo el 81%, 11% y 8% del tiempo, respectivamente. En otoño e invierno accedían a doble turno de pastoreo, a un turno de pastoreo o quedaban encerradas el 24%, 49% y 27% del tiempo, respectivamente. Estos resultados demuestran que las vacas pasan gran parte del tiempo encerradas, sobre todo en otoño e invierno, estando el 52% de su tiempo en encierros a cielo abierto donde había una gran acumulación de barro en el piso (Ortega et al., 2019, comunicación personal).

En el análisis de los diferentes sistemas de producción lechera se ha visto que los tambos que tienen alta carga por hectárea y maximizan el consumo de pasturas, tienen mejor rentabilidad. Sin embargo, la rentabilidad de los sistemas comerciales de producción de leche no es la única variable que debe tenerse en cuenta en las decisiones de manejo. Los aspectos relacionados al medio ambiente, el aspecto social y el BA también deben jugar un papel importante en la toma de decisiones (Fariña & Chilbroste, 2019). Estos aspectos deben ser tenidos en cuenta porque Uruguay es un país que exporta casi el 70% de la leche o productos derivados (DIEA, 2021). Debido a esto, las exigencias internacionales sobre el cuidado del medio ambiente y el BA sobre la lechería son dos puntos importantes que deben ser evaluados en nuestro país. Con respecto al BA, se ha demostrado que cuando las vacas lecheras tienen acceso a las pasturas tienen menor incidencia de enfermedades podales y mastitis (Arnott et al., 2017). A esto, se le agrega que el pastoreo es un comportamiento natural de los rumiantes, que se ve limitado en los sistemas estabulados (Charlton & Rutter, 2017). Además, los consumidores consideran que las vacas deben tener acceso al pastoreo y que de esta manera pueden expresar su comportamiento de forma natural (Cardoso et al., 2019). Las vacas que acceden a pastoreo también producen leche con ácidos grasos que poseen propiedades benéficas para el ser humano (CLA), en relación a las vacas que consumen solo

DTM (Grille et al., 2022). Por tanto, los sistemas pastoriles de Uruguay se encuentran bien posicionados por permitir el acceso a pasturas a las vacas lecheras, aunque aún no se han reportado investigaciones o relevamientos sobre BA en el país.

2.2. Bienestar animal en vacas lecheras

El bienestar animal se puede definir como “el estado en que se encuentra un individuo en relación a sus intentos de afrontar o adaptarse a su ambiente” (Broom, 1986). Por otro lado, el *Farm Animal Welfare Council* (FAWC, 1992) considera que para que un animal se encuentre en buen estado de bienestar, se deben cumplir cinco requisitos, conocidos como “las cinco libertades”: ausencia de hambre y sed; ausencia de incomodidad física y térmica; ausencia de dolor, lesión o enfermedad; ausencia de miedo y estrés, y que pueda manifestar la conducta normal de la especie. Estos requisitos pueden tomarse como criterios para evaluar el BA, donde cada criterio está explicado por diferentes indicadores. El protocolo *Welfare Quality* fue creado en 2009 para evaluar el BA en los sistemas productivos, donde en la sección de vacas lecheras establece varios criterios y formas de evaluarlo. Este protocolo se ha instaurado para evaluar los sistemas de producción lechera en el mundo, evaluando cada uno a través de diferentes indicadores, asignando puntajes de acuerdo al nivel de BA. Sin embargo, este protocolo fue creado para sistemas de producción totalmente diferentes a los de Uruguay, más que nada pensando en los sistemas estabulados. Además, no tiene en cuenta el estrés calórico, muy relevante en los sistemas lecheros de Uruguay. Por otro lado, Manteca (2009) propuso una valoración de BA a través de indicadores ambientales (alimentación y alojamiento), sanitarios y de comportamiento (citado por Damián & Ungerfeld, 2013). En el mismo sentido, Damián & Ungerfeld (2013) plantean una clasificación de indicadores abarcando una mayor cantidad de variables. Estos autores plantean una clasificación basada en indicadores comportamentales, de salud, fisiológicos, endócrinos y bioquímicos. A modo de ejemplo, los indicadores comportamentales comprenden los comportamientos de comer, rumiar, de descanso y los comportamientos agresivos. En los indicadores de salud incluyen las tasas de morbilidad y mortalidad, además también se suman las lesiones que se puedan generar por causa de las instalaciones o manejos. Los indicadores fisiológicos comprenden la frecuencia respiratoria, cardíaca y temperatura corporal. En los indicadores endócrinos y bioquímicos se puede evaluar el cortisol, ACTH y proteínas sanguíneas. En las siguientes secciones se desarrollarán los indicadores más utilizados en vacas lecheras para evaluar el BA.

2.2.1. Indicadores comportamentales

Una de las cinco libertades del BA es que los animales puedan manifestar el comportamiento normal de la especie (FAWC, 1992). En tal sentido, el comportamiento es un gran indicador del bienestar de los animales. Cuando las

vacas acceden al pastoreo pueden expresar los comportamientos naturales de la especie, donde el 95% de su tiempo pasan pastoreando, rumiando y echadas (Charlton & Rutter, 2017). En estos tres comportamientos, el que realizan más comúnmente es pastorear, seguido de la rumia y el descanso. También existe un patrón diurno en el comportamiento, por el cual las vacas pastorean durante el día, con picos de actividad al amanecer y al atardecer, mientras que rumian y descansan más comúnmente durante la noche (Charlton & Rutter, 2017).

Tucker et al. (2021) en la revisión sobre BA y comportamiento mencionan que el BA se puede ver comprometido cuando se produce una privación de los comportamientos normales. Por ejemplo, si un animal está motivado a realizar un comportamiento, pero su entorno no le permite llevar a cabo ese comportamiento, expresa un comportamiento compensatorio. Por ejemplo, al obligar a las vacas a estar paradas por 7 horas seguidas, y luego permitirles echarse estas pasan el resto del día echadas para compensar el tiempo que no pudieron realizar este comportamiento (Munksgaard & Simonsen, 1996). Con respecto a los comportamientos prioritarios de las vacas, estas priorizan echarse antes que alimentarse luego de la privación de ambos comportamientos (Tucker et al., 2021). Esto se evidencia en experimentos que encontraron que al liberar a las vacas hacia la pastura para que comieran, las que eran mantenidas en condiciones desfavorables durante el encierro priorizaron echarse antes que pastorear, mientras que las que estuvieron más echadas en el encierro por tener condiciones más favorables no sacrificaron el tiempo de pastoreo (Fisher et al., 2003; Schütz et al., 2019). Estas diferencias en el comportamiento pueden repercutir en la producción de los animales. El sacrificio en el tiempo de pastoreo puede resultar en una reducción de la producción de leche, que podría estar asociada a un menor consumo de pastura (Tucker et al., 2021). Además, las variaciones en el comportamiento de echarse también pueden afectar el comportamiento de rumia. Cuando se restringe el tiempo en que las vacas pasan echadas, una mayor proporción de la rumia ocurre cuando se encuentran paradas (Munksgaard & Simonsen, 1996). También pueden reducir la frecuencia total de rumia debido a la privación del comportamiento de estar echadas (Cooper et al., 2007). Normalmente, la mayor parte de la rumia en vacas lecheras ocurre en la noche, cuando las vacas descansan, pero también rumian durante el día cuando no son interrumpidos con el manejo y el ordeño (Paudyal et al., 2016). El tiempo de rumia de las vacas alcanza su punto máximo aproximadamente cuatro horas luego de la alimentación (Schirmann et al., 2012), mientras que el tiempo total de rumia es muy variable. El promedio del tiempo de rumia en vacas lecheras reportado por White et al. (2017) son 436 minutos por día, con un rango de 236 a 610 minutos por día. La variabilidad en los tiempos de rumia está dada principalmente por el consumo, la composición física y química de la dieta y la ingesta de fibra neutro detergente (FDN) (Beauchemin, 2018). Por otro lado, una reducción drástica de la rumia denota un

mal estado de salud, que también se traduce en una mínima producción de leche (Tucker et al., 2021).

El tiempo en que las vacas pastorean es variable entre estudios y depende de si las vacas tienen acceso a la pastura durante todo el día o en un momento del día son privadas de acceder al pastoreo y si se les suministra suplemento, también influye el momento en que se suministra el suplemento (Chilibroste et al., 2015). Por ejemplo, Tucker et al. (2021) realizaron una recopilación de trabajos, y demuestran que las vacas pasan menos echadas en el pasto cuando tienen acceso a las pasturas durante tiempos más largos. Además, cuando la asignación de pastura es baja (60% de la capacidad de ingesta) las vacas pasan mayor proporción de su tiempo pastoreando y por lo tanto están menos echadas (Driscoll et al., 2019).

El comportamiento agresivo también es utilizado como indicador de BA, medido principalmente por el número de interacciones agonistas. En el pastoreo las interacciones agonistas son en menor número que en el confinamiento, esto es debido a la menor disponibilidad de espacio que tienen las vacas al confinarlas. Se observa mayor actividad agonística cuando se ofrece el alimento fresco, además, la competencia por el alimento aumenta a medida que se reduce el espacio por vaca en el comedero (O'Connell et al., 1989). Este comportamiento agonista puede llevar a una reducción de los tiempos de alimentación y de estar echadas, porque las vacas pueden pasar más tiempo paradas esperando para acceder a los comederos (Crossley et al., 2017). Las diferencias en la asignación de espacio también pueden generar cambios en el comportamiento de las vacas. Schütz et al., (2015) encontraron que a mayor asignación de espacio (3,0 - 4,5 – 6,0 – 7,5 – 9,0 y 10,5 m²/vaca) hubo menor comportamiento agresivo y la proporción del tiempo que las vacas estuvieron echadas fue mayor. Debido a que la mayor cantidad de interacciones agonistas se dan en los comederos durante el confinamiento, aquí es donde se vuelve importante mantener el espacio suficiente para disminuir las interacciones agonistas. En relación a esto, se han llevado a cabo diferentes experimentos con vacas confinadas durante todo el día, concluyendo que al aumentar el espacio por vaca en los comederos de 0,5 a 1 m/vaca disminuyen en un 57% las interacciones agonistas (DeVries et al., 2004; Hetti Arachchige et al., 2014).

2.2.2. Indicadores de salud

El grado de claudicación es un indicador importante de la salud y el bienestar de las vacas lecheras, ya que las vacas cojas tienen baja producción debido a la incapacidad para moverse a buscar el alimento por el dolor que le genera la afección podal. También genera efectos negativos sobre el estado corporal, el desempeño reproductivo y las vacas cojas tienen mayor probabilidad de ser descartadas (Huxley, 2013; Sadiq et al., 2017). Para realizar un control de la claudicación se ha desarrollado un score que permite evaluar las vacas de forma rápida y estimar la proporción de vacas con diferentes grados de

claudicación. Sprecher et al. (1997) han desarrollado un escore del 1 (normal) al 5 (claudicación severa) para evaluar la gravedad de la claudicación, a través del cual se evalúa principalmente la postura de la columna del animal en estación y mientras camina. Este escore es eficaz en la detección temprana de las afecciones podales y sirve para monitorear la incidencia y gravedad de las lesiones.

Otro indicador utilizado es el escore que evalúa lesiones de piel en la región del tarso, propuesto por Nocek (2009), utilizado principalmente para evaluar problemas en diseño de los encierros y/o superficies de descanso inadecuados. Este indicador consiste en observar la región del tarso durante el ordeño y puntuar del 1 al 3 (1: no hay hinchazón ni falta de pelo, 2: zona sin pelo, sin hinchazón, 3: hinchazón evidente o hay una lesión en la piel). A mayor proporción de vacas con lesiones de piel a nivel del tarso se considera que hay menor bienestar. Los niveles esperables son que ninguna vaca se encuentre en escore 3 y que menos del 5% tenga escore 2 (Nocek, 2009).

La mastitis es la enfermedad más comúnmente diagnosticada y la que genera mayores pérdidas económicas debido a costos de tratamiento, descarte de leche y de animales (Halasa et al., 2007). Debido a esto, la incidencia de mastitis se utiliza como un indicador al momento de evaluar el bienestar en vacas lecheras. Existen diferentes formas de evaluar la incidencia de la mastitis sobre la salud de las vacas, las más utilizadas son la incidencia de mastitis, el número de casos por vaca y el recuento de células somáticas (Arnott et al., 2017). Otro indicador muy utilizado que está relacionado de forma indirecta con la mastitis es el escore de suciedad de ubre, que tiene correlación con recuentos altos de células somáticas y mayor cantidad de casos de mastitis (Schreiner & Ruegg, 2003).

2.2.3. Indicadores fisiológicos

Los indicadores fisiológicos de bienestar pueden ser la frecuencia respiratoria, frecuencia cardíaca y temperatura corporal central y superficial. La frecuencia respiratoria y cardíaca se alteran rápidamente ante una situación de estrés agudo, por ejemplo, el aislamiento. Sin embargo, estos parámetros se elevan ante situaciones fisiológicas de las vacas, como el parto o el celo. Por lo que al momento de tener en cuenta estos indicadores no se deben evaluar de forma aislada (J. P. Damián & Ungerfeld, 2013). La temperatura corporal es un indicador fisiológico que refleja el estado de salud de los animales. En las vacas la temperatura corporal puede presentar una variación diurna en un rango de 0,2 a 0,9° C, en relación con la temperatura corporal mínima por la mañana y la máxima al final de la tarde (Becker et al., 2020; Kendall & Webster, 2009). Un aumento de la temperatura corporal puede estar debida a enfermedades, lesiones o estrés por calor. Estos indicadores fisiológicos son comúnmente utilizados en trabajos que buscan evaluar el efecto del estrés calórico.

Durante los episodios de estrés calórico las vacas intentan mantener la temperatura corporal constante mediante la regulación del balance de energía térmico. Para regular este balance, el calor generado por el metabolismo debe ser igual al calor perdido mediante los diferentes métodos de disipación de calor. Cuando el animal no puede disipar el calor producido por el metabolismo y el acumulado por las altas temperaturas ambientales, no pueden mantener el equilibrio térmico (Bernabucci et al., 2014). Debido a que las vacas lecheras tienen mayor actividad durante el día, acumulan mayor cantidad de calor en el día que en la noche. Es por esto, que en la noche es donde normalmente se produce la pérdida de calor acumulado. Sin embargo, durante los meses de verano la temperatura y la humedad no disminuyen lo suficiente durante la noche en comparación con el día, no se produce la pérdida del calor acumulado, y los animales pueden sufrir episodios de estrés calórico constante (Becker et al., 2020). En tal sentido, se puede evaluar la temperatura subcutánea de las vacas, lo cual brinda resultados confiables de la respuesta fisiológica de los animales a las condiciones ambientales del estrés térmico y de manejo (Lee et al., 2016).

Cuando los animales están expuestos a condiciones de estrés calórico, utilizan los métodos de disipación del calor: conducción, convección, radiación y evaporación. La conducción funciona a través del contacto físico con los objetos circundantes, por ejemplo, si un objeto es más frío el calor de la vaca fluirá por conducción hacia ese objeto. La disipación de calor por convección ocurre cuando el aire caliente circundante se reemplaza con una capa de aire más frío cerca de la superficie de la piel. Mientras que cuando la temperatura ambiental es más baja que la temperatura corporal, el ganado puede transferir el calor producido al ambiente circundante a través de la radiación. El enfriamiento por evaporación ocurre cuando el sudor o la humedad se evaporan de la piel (sudoración) o del tracto respiratorio durante la respiración. Los tres primeros métodos no requieren gasto de energía por parte de los animales, por el contrario, la pérdida de calor por evaporación requiere que el animal gaste energía. En las vacas lecheras, cuando la temperatura ambiente se encuentra entre 5 y 25°C, no tienen que gastar energía para mantener la temperatura corporal normal (Kadzere et al., 2002). Cuando la temperatura se encuentra por encima de la zona termoneutral y la humedad está elevada, los métodos de disipación del calor se vuelven insuficientes. Cuando esto ocurre se produce aumento de la temperatura corporal, disminución de la producción de leche y en casos extremos puede generar la muerte de animales (Vitali et al., 2009; Wheelock et al., 2010). Para predecir los episodios de mayor riesgo de estrés calórico es que se ha desarrollado el Índice de Temperatura y Humedad. Distintos autores reportaron que cuando el ITH supera 72 existe riesgo a que las vacas lecheras sufran estrés calórico. Sin embargo, en la bibliografía se pueden encontrar diferentes valores críticos de ITH promedio, estos niveles van desde 68 a 74 cuando se relaciona con producción de leche (Herbut et al., 2018; Zimbelman et al., 2009). Además del valor de ITH, también es importante las

horas del día y el número de días en que este se encuentra por encima del valor crítico. En nuestro país se han realizado trabajos evaluando los efectos del estrés calórico, utilizando las horas en que el ITH se encontraba por encima de 72 y el número de días continuos en que esto sucede, utilizando el concepto de ola de calor (Román et al., 2019).

2.2.4. Indicadores bioquímicos y endócrinos

Las proteínas sanguíneas pueden ser tenidas en cuenta como indicadores bioquímicos de bienestar. Dentro de las proteínas más frecuentemente utilizadas como indicadores de salud y bienestar son las proteínas totales, albúmina, globulinas, creatin kinasa y proteínas de fase aguda (Damián & Ungerfeld, 2011; 2013). Recientemente, Premi et al. (2021) reportaron valores de referencia en vacas lecheras Holstein con buen estado de salud en diferentes momentos del ciclo productivo en tambos con un nivel de bienestar alto (de acuerdo al modelo propuesto por Calamari & Bertoni, (2016). Las concentraciones de proteína totales y globulinas fueron mayores en lactancia temprana y tardía que en el parto (30 días antes del parto).

Las proteínas de fase aguda son proteínas sanguíneas que se utilizan para evaluar la respuesta sistémica no específica del sistema inmune innato a la infección, inflamación o trauma y por esto es que se consideran indicadores de salud y bienestar (Eckersall & Bell, 2010). Durante una respuesta de fase aguda, la concentración plasmática de proteínas de fase aguda positivas aumenta, y se reduce la síntesis de albúmina por el hígado, una proteína de fase aguda negativa (Premi et al., 2021). Por otro lado, la creatin kinasa se encuentra en el tejido muscular, y aparece aumentada en sangre cuando hay una lesión o alto grado de actividad muscular (J. P. Damián & Ungerfeld, 2013). En general, la actividad de la creatin kinasa vuelve a los valores normales dentro de las 24 a 48 h luego de un episodio agudo, pero el daño muscular persistente puede generar un aumento prolongado de esta proteína (Pavlata et al., 2001).

Dentro de los indicadores hormonales, el cortisol ha sido utilizado como indicador de respuesta al estrés en diferentes especies, y se puede determinar a partir de muestras de sangre, saliva, heces y orina para evaluar el estrés agudo o a través de muestras de pelo para evaluar el estrés crónico (Shi et al., 2021). La utilización de pelo para la medición de cortisol en las vacas lecheras tiene la ventaja de permitir evaluar condiciones de estrés a largo plazo y su relación con la salud y el bienestar (Comin et al., 2011). Se han encontrado niveles más elevados de cortisol en pelo en vacas enfermas con mastitis, metritis y vacas cojas en comparación con vacas sanas (Comin et al., 2013). En el último mes de gestación y en el mes del parto también se ha detectado que aumentan los niveles de cortisol en pelo cuando se comparó con la gestación temprana y media (Braun et al., 2017; Burnett et al., 2015; Comin et al., 2013). En los diferentes trabajos se ha encontrado variaciones en el nivel de cortisol en pelo de un mismo animal extraído de diferentes lugares del cuerpo y de diferente color

con resultados contradictorios entre diferentes trabajos (Burnett et al., 2014; Heimbürge et al., 2019; Tallo-Parra et al., 2014). Más allá de estos elementos a considerar, como el color y zona del cuerpo, las concentraciones de cortisol en pelo son consideradas como objetivos marcadores de estrés crónico en bovinos.

2.3. Tipos de encierro en los sistemas de producción de leche y su implicancia en bienestar animal

El lugar de preferencia de las vacas lecheras es la pastura y en este ambiente pueden desarrollar su comportamiento normal de rumiar y descansar. Sin embargo, si para acceder a la pastura deben recorrer largas distancias o se encuentran en un período de altos requerimientos, estas vacas van a preferir acceder a encierros donde se les proporcione DTM (Charlton & Rutter, 2017). Cuando las vacas no pueden acceder a pastoreo suelen estar encerradas bajo condiciones de alojamientos variadas. Por ejemplo, las vacas pueden alojarse bajo una superficie totalmente techada o con una pequeña área techada y el resto del área a cielo abierto. En las superficies techadas se pueden agregar ventiladores y aspersores para disminuir el estrés calórico en verano. En estos alojamientos o encierros también se suelen colocar materiales para que las vacas se puedan echar, estos pueden ser arena, paja, cáscara de arroz o maní, así como también subproductos de madera (aserrín, chips, cáscaras). En nuestro país, cuando las vacas no acceden al pastoreo, se las suplementa en plazas de alimentación donde se encuentran los comederos de diferentes materiales (hormigón, lona, etc.). Generalmente se encuentran a cielo abierto, donde las vacas están expuestas a las condiciones climáticas desfavorables, tanto de lluvias con formación de barro principalmente en otoño-invierno o a los altos niveles de ITH en verano (Chilibroste & Battegazzore, 2019). No existen relevamientos sobre los sistemas productivos de Uruguay de acuerdo a la infraestructura que poseen para brindar confort a los animales. Sin embargo, si existe investigación internacional sobre el efecto del barro y el estrés calórico sobre el BA. En sistemas mixtos se ha encontrado que cuando las vacas están en confinamiento con barro en el suelo, evitan echarse para luego hacerlo en la pastura (Chen et al., 2017; Fisher et al., 2003; Schütz et al., 2019). También se ha encontrado que las vacas luego de dos días de exposición al barro fueron aumentando el tiempo que estaban echadas en el barro (Chen et al., 2017). Como el comportamiento de echada es muy importante para las vacas lecheras, estos autores interpretan que a pesar de que las condiciones desfavorables continúen, las vacas necesitan echarse para descansar (Chen et al., 2017). Estas condiciones atentan contra la salud y bienestar de los animales, ya que los animales expuestos al barro también tienen mayor probabilidad de sufrir lesiones podales y mastitis (Schreiner & Ruegg, 2003; Schütz & Cox, 2014).

Los encierros a cielo abierto exponen a las vacas a mayor riesgo de estrés calórico en verano, lo que genera cambios fisiológicos y metabólicos que pueden comprometer la productividad, salud y el BA (Schütz et al., 2014). Al proveer

sombra a las vacas, se mitiga la radiación solar y se reduce la temperatura corporal, ayudando a los animales a sobrellevar el calor. Sin embargo, no facilita la pérdida de calor cuando la humedad es alta y no son efectivos los mecanismos de regular la temperatura por jadeo y sudoración (Vizzotto et al., 2015). A medida que aumenta la temperatura ambiente por encima de la zona termoneutral de las vacas (>25°C), estas reducirán el tiempo de estar echadas en un 30% para aumentar el área de superficie corporal para la disipación de calor (Cook et al., 2007; Schütz et al., 2011). En verano, con las altas temperaturas las vacas pasan menos echadas, aunque se proporcionen métodos para reducir el calor (Chen et al., 2016). Cuando se proporciona sombra a vacas con estrés por calor, pasan más tiempo rumiando, tienen una mayor producción de leche (West, 2003) y menor temperatura corporal en comparación con vacas sin sombra experimentando estrés por calor (Kendall et al., 2006). Si se suma el uso de aspersión en los encierros en períodos de estrés por calor con valores de ITH por encima del valor crítico para vacas lecheras, se logran mejores resultados que sólo dando sombra. La aspersión y ventilación generan una disminución de la temperatura corporal y de la temperatura de la piel, disminuyendo los efectos del estrés térmico sobre el comportamiento, el consumo de alimento y la producción de leche en comparación cuando sólo se utiliza sombra (Román et al., 2019; Van Os, 2019). Por lo tanto, ante episodios de mayor riesgo de estrés calórico puede ser necesario el uso de aspersión y ventilación para mantener buenas condiciones de BA. El establo con cama de compost se ha utilizado ampliamente en los últimos años, con beneficios para el bienestar y la salud de las vacas lecheras en relación con otros sistemas estabulados como *Tie stall* y *Free stall* (Bewley et al., 2017). En este tipo de confinamiento, las vacas se encuentran bajo techo con un área de cama y un área de cemento donde se ubica el área de alimentación y bebederos. Además, se pueden agregar ventiladores y aspersores para evitar el estrés por calor en verano (Leso et al., 2020). En los encierros al aire libre, también llamados *Dry lot* u *Open lot* se les proporciona una pequeña zona con techo para proteger a los animales del viento y la lluvia en invierno y de las altas temperaturas en verano (Monge et al., 2019). Además, también tienen una zona donde se encuentran los comederos para suministrar la DTM que en algunos casos también está techada y con piso de hormigón o balastro para evitar la acumulación de barro en esa zona. A pesar de ser un sistema muy utilizado en Uruguay y Argentina, no se han encontrado publicaciones sobre bienestar animal en estos encierros a cielo abierto en vacas lecheras. Existen algunos trabajos científicos que evalúan este tipo de encierro en países donde las condiciones del invierno frío y con nieve los obliga a encerrar los animales, donde en algunos casos se utilizan *Dry lot* en vacas lecheras (Smid et al., 2019, 2020).

Las investigaciones existentes sobre los sistemas de *Compost barn* y *Dry lot* son con animales estabulados durante todo el día, sin acceso a pastoreo. Sin embargo, en Uruguay es muy común utilizar sistemas similares a los *Dry lot*, pero

solo durante medio día. Estos sistemas utilizados en Uruguay se caracterizan por maximizar el consumo de pastura por hectárea, accediendo al pastoreo durante medio día. Durante el resto del día las vacas quedan encerradas a cielo abierto en el lugar donde se suplementan. El espacio donde se suplementa es comúnmente llamado “plaza de alimentación”, donde además se brinda un espacio para que los animales puedan descansar mientras no acceden a la pastura (Grille et al., 2019). De acuerdo a los que se reporta en la encuesta de INALE (2019), en establecimientos remitentes de leche el 57% de las plazas de alimentación tienen piso de hormigón, el 20% tienen piso de tierra negra, el 17% tienen piso de balastro. Lo que no se reporta en esta encuesta es cómo son las condiciones en los lugares que se les asigna a las vacas cuando estas no acceden a pastorear, por lo que es necesario un relevamiento de los sistemas lecheros de nuestro país.

Cuando las vacas están expuestas a las condiciones ambientales extremas y contrastantes del invierno y el verano, su bienestar puede verse comprometido. En invierno las vacas pueden estar más expuestas a las lluvias, con formación de barro en las zonas de descanso. Estas condiciones pueden comprometer el bienestar ya que las vacas van a evitar echarse en lugares húmedos y con barro, disminuyendo el tiempo que pasan echadas durante el día (indicador comportamental) (Chen et al., 2017; Fisher et al., 2003; Schütz et al., 2019a). Por otro lado, las altas temperaturas durante el verano pueden afectar negativamente el bienestar de las vacas lecheras debido al estrés por calor (Herbut et al., 2018).

Una alternativa para mitigar los efectos de las condiciones meteorológicas desfavorables puede ser la estabulación parcial en sistemas de *compost barn* o cama caliente. Este sistema consiste en un galpón techado sobre una cama de material vegetal donde se genera un compostaje junto con las excreciones de los animales. También se pueden agregar ventiladores y aspersores para evitar pérdidas de producción de leche y de animales frente al estrés calórico en verano (Leso et al., 2020). El sistema *compost barn* tiene un mantenimiento diario de mezcla de los componentes e incorporación de oxígeno y un cambio total del material de la cama cada un año aproximadamente, además de exigir un monitoreo continuo de los parámetros de humedad y temperatura que aseguren la fermentación y evite la proliferación de microorganismos patógenos (Barberg et al., 2007; Black et al., 2013). Este sistema se ha comenzado a implementar en algunos tambos de nuestro país, pero con estabulación total y administración de DTM sin acceso a pasturas. En Argentina y Brasil se utiliza este sistema en mayor medida que en nuestro país (Leso et al., 2020; Monge et al., 2019). Los sistemas de *compost barn* tienen algunas ventajas a favor del BA, una de ellas es que proveen una superficie más confortable para las vacas en comparación con los encierros a cielo abierto y con los sistemas clásicos de *free stall* (Leso et al., 2020). También se ha encontrado que las vacas mantenidas en *compost barn* tuvieron menor proporción de vacas con claudicación y con lesiones en la piel

del tarso que las vacas mantenidas en *free stall* con piso de cemento, y en ese sentido puede ser favorable desde el punto de vista del bienestar (Bran et al., 2019; Costa et al., 2018). Otra ventaja mencionada en la bibliografía es una mejor gestión de los desechos orgánicos, donde se mezcla la orina y las heces con el sustrato de la cama, y luego se pueden distribuir en el campo como abono. Por otro lado, el sistema de *compost barn* también ofrece limitantes, ya que necesita un manejo diario con personal capacitado y maquinaria para mantener el sustrato en condiciones óptimas de temperatura (43-65°C) y humedad (40-60%). También se requieren grandes volúmenes de sustrato que sean suficiente para realizar reposiciones y/o recambio total cuando la cama lo requiera (Janni et al., 2007).

A pesar de los beneficios que ofrece el sistema de *compost barn* para el BA cuando se los compara con otros tipos de estabulación, aún no se ha realizado una evaluación del *compost barn* en un sistema mixto. Tampoco se han realizado evaluaciones de bienestar sobre los sistemas de encierro a cielo abierto de nuestro país.

3. HIPÓTESIS

En sistemas mixtos (pasturas mas DTM) las vacas lecheras mantenidas en *compost barn* presentan mejor bienestar que las mantenidas a cielo abierto durante las dos épocas de parto (otoño e invierno), debido a las mejores condiciones de alojamiento en el *compost barn*.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Determinar si el bienestar de vacas lecheras en sistemas mixtos (pasturas más DTM) difiere entre los sistemas que utilizan encierros a cielo abierto de los que utilizan *compost barn* en dos épocas de parto (otoño e invierno).

4.2. Objetivos específicos

Evaluar si el control de las condiciones ambientales (encierro a cielo abierto vs *compost barn*) en vacas lecheras afecta:

- El comportamiento individual en confinamiento y en pastoreo.
- El comportamiento social agonista en confinamiento.
- El escore de locomoción.
- La concentración de cortisol en pelo.
- La concentración de proteínas sanguíneas.
- La temperatura subcutánea durante el verano.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el tambo de la Estación Experimental Dr. Mario A. Cassinoni (EEMAC), de la Facultad de Agronomía, Universidad de la República. El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión de Ética en el Uso de Animales de la Facultad de Agronomía (ID 682- Exp020300-000602-18).

Se evaluaron 32 vacas lecheras de la raza Holstein (24 multíparas y 8 primíparas) paridas en otoño y 30 vacas lecheras Holstein multíparas paridas en invierno. Las vacas fueron bloqueadas por número de lactancia, fecha esperada de parto, peso vivo y condición corporal antes del parto y fueron asignadas al azar a uno de dos tratamientos inmediatamente luego del parto.

En las vacas paridas en otoño (17/03/2019 \pm 9,6 días) el peso promedio al parto fue de 651 \pm 103 kg y la condición corporal al parto fue de 3,02 \pm 0,28 (escala 1-5, Edmonson et al., 1989). Las vacas se ordeñaron dos veces al día a las 4:00 y a las 15:30 h. En las vacas paridas en invierno (07/08/2019 \pm 13,2 días) el peso promedio al parto fue de 625 \pm 63 kg y la condición corporal al parto fue de 2,78 \pm 0,24. Las vacas se ordeñaron dos veces al día a las 04:30 y 16:30h.

5.1. Tratamientos

Se evaluó un sistema mixto donde las vacas tenían acceso a pastoreo por medio día y luego eran confinadas con suplementación según tratamiento: i) confinamiento en galpón techado con cama de compost complementado con aspersión y ventilación (*Compost Barn*: CB) y ii) un encierro a cielo abierto con piso de tierra y con un área de sombra (Cielo Abierto: CA). El experimento se realizó con vacas paridas en dos épocas, otoño e invierno. Las vacas paridas en otoño cursaron su lactancia temprana en otoño e invierno y lactancia media en primavera. Las vacas paridas en invierno cursaron su lactancia temprana a fines de invierno y primavera, y lactancia media en primavera-verano. En ambos tratamientos, los animales se confinaron en grupos de 4 animales por corral, en corrales separados. Luego del parto las vacas ingresaban al tratamiento y corral que les correspondía, manteniéndose en el tratamiento durante 6 meses.

Tratamientos:

- *Compost barn* (CB): Encierro en un establo techado con un área de cama de compost (13,5 m² / vaca) y otra con piso de cemento (6,7 m² / vaca). Los ventiladores estuvieron encendidos todo el tiempo que las vacas permanecieron encerradas y los aspersores se encendieron automáticamente cuando la temperatura superaba los 25 ° C, con ciclos de encendido y apagado (Figura 1). La zona de cemento tenía comederos (0,75m/vaca) y bebederos automáticos de reposición rápida. En la cama de compost se pasaba cincel dos veces al día cuando las vacas se encontraban en ordeño. Cada 20 días se agregaba nuevo material y se monitoreaba semanalmente la temperatura y la humedad de la cama de compost. El área de cemento se limpió tres veces por semana y el funcionamiento de los bebederos, ventiladores y aspersores fue

monitoreado diariamente.

- Cielo abierto (CA): Encierro a cielo abierto con piso de tierra o balastro debajo del techo y en el área de alimentación (Figura 1). El techo de nylon estaba a una altura de 4,5 metros, este techo proporcionaba un espacio por vaca de 4,8 m². El bebedero estaba debajo del techo y el comedero (1,13m/vaca) en el otro extremo del corral (Figura 1). El área central de cada corral tenía dos pasillos con piso de tierra, estos pasillos se usaban alternativamente, cambiando de uno a otro cuando las condiciones del piso eran mejores en el otro (área cerrada). El funcionamiento de bebederos y de la cerca eléctrica fue monitoreado diariamente y la limpieza del piso en el área del comedero se realizó dos veces durante el período experimental.

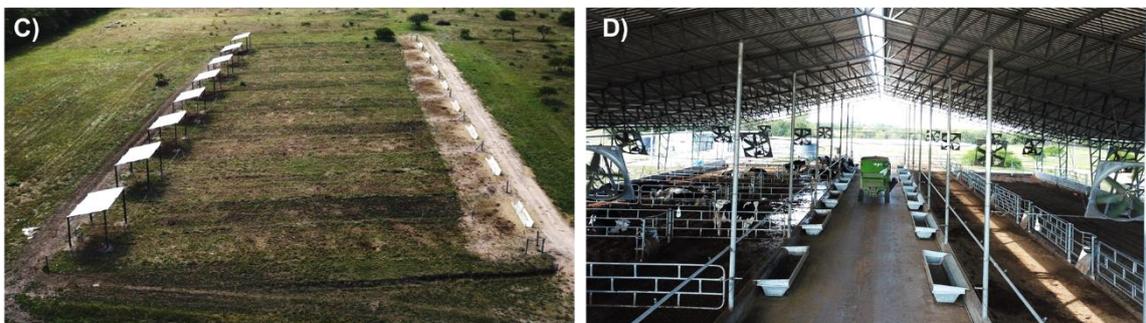
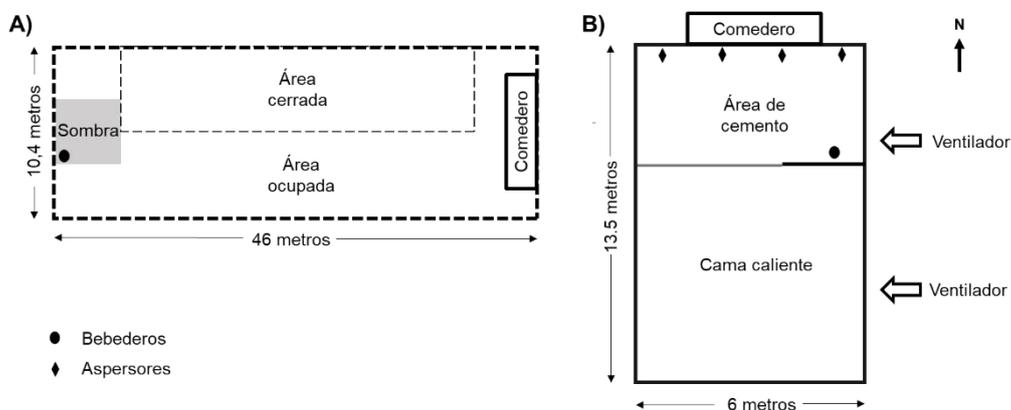


Figura 1: Diagrama y fotos de corrales en los tratamientos con confinamiento parcial a cielo abierto (A y C) y en *compost barn* (B y D). Las líneas punteadas indican cerca eléctrica, mientras que las líneas continuas indican estructuras de tubos metálicas en los lados (este y oeste) y hormigón en los extremos (norte y sur).

5.2. Alimentación

Las vacas pastorearon diariamente entre las 7:00 y las 14:30 h desde el inicio del experimento hasta el 31/10/19, luego de esta fecha accedían a pastoreo entre las 17:30 y las 3:30 h. Las pasturas consistían de praderas compuestas por *Medicago sativa* y *Dactylis glomerata* (de primer año desde implantación) o pradera compuesta por *Festuca arundinacea*, *Trifolium repens* y *Lotus*

corniculatus (tercer año desde implantación) o *Avena sativa*. Las vacas pastoreaban en una parcela con ocupación de 7 días. El sistema de pastoreo tuvo una carga anual de 2,5 vacas por hectárea de área de pastoreo y cada tratamiento tuvo su área asignada que se mantuvo durante todo el experimento. El camino desde la pastura hasta las instalaciones del tambo y encierros era de balastro y la distancia entre las áreas de confinamiento y las pasturas vario entre 1200 y 1500 metros. El suplemento se administró en forma de DTM una hora después de ingresar al confinamiento y las vacas consumieron todo el suplemento ofrecido. Las vacas de ambos tratamientos consumieron diariamente la misma mezcla de DTM compuesta por 56% de concentrado y 44% de forraje. En las tablas 1, 2 y 3 se muestran los consumos de suplemento, disponibilidad, asignación y composición de pastura para cada tratamiento y suplemento en los meses evaluados de ambas épocas de parto.

Tabla 1: Consumo de suplemento, tipo de pastura, disponibilidad y asignación de pastura de vacas lecheras Holstein paridas en otoño (evaluadas de mayo a setiembre) y en invierno (evaluadas de noviembre a enero) con acceso a pastoreo y confinamiento parcial en *compost barn* (CB) o a cielo abierto (CA)

Mes	Semana calendario (2019 y 2020)	Consumo suplemento (Kg MS/vaca/día)	Pastura	CB		CA	
				Disponibilidad (Kg MS/ha)	Asignación (Kg MS/vaca/día)	Disponibilidad (Kg MS/ha)	Asignación (Kg MS/vaca/día)
MAY	17	14	Festuca	1300	19	1700	18
JUN	22	14	Avena	1900	27	2000	29
JUL	26	14	Festuca	2500	18	2700	19
AGO	31	16	Alfalfa+Dactylis	2000	14	2000	14
SET	35	14	Avena	2500	18	2500	18
NOV	44	7	Festuca	5700	40	4800	40
DIC	50	10	Alfalfa+Dactylis	2400	17	1600	12
ENE	2	10	Festuca	1300	19	1500	21

Tabla 2: Composición de la pastura desde de mayo a setiembre (pastoreo de vacas paridas en otoño) y de noviembre a enero (pastoreo de vacas paridas en invierno) en parcelas de vacas de los tratamientos *compost barn* (CB) y cielo abierto (CA)

Mes	CB					CA				
	Cen (%)	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	Enl (Mcal/Kg MS)	Cen (%)	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	Enl (Mcal/Kg MS)
MAY	10,6	16,3	48,4	24,6	1,6	12,1	30,7	40,8	17,3	1,7
JUN	11,2	25,0	44,0	21,1	1,6	11,9	18,5	46,8	21,3	1,6
JUL	12,9	14,9	51,6	24,0	1,6	12,3	16,6	52,0	19,3	1,7
AGO	13,8	20,1	44,3	18,3	1,7	13,2	19,3	45,8	17,9	1,7
SET	11,9	16,8	44,6	21,2	1,6	16,7	19,2	42,9	17,0	1,7
NOV	12,0	14,2	54,5	28,7	1,5	11,2	17,6	52,8	22,0	1,6
DIC	11,9	15,4	51,4	27,9	1,5	10,5	18,0	44,5	26,4	1,5
ENE	7,6	8,7	34,0	20,3	1,6	9,3	15,6	34,7	22,5	1,6

Tabla 3: Composición del suplemento desde de mayo a setiembre (vacas paridas en otoño) y de noviembre a enero (vacas paridas en invierno) ofrecido a las vacas de los tratamientos *compost barn* (CB) y cielo abierto (CA)

Mes	PC (%)	FDN (%)	FDA (%)	Enl (Mcal/Kg MS)
MAY	15,9	33,1	16,5	1,63
JUN	15,1	31,0	13,6	1,68
JUL-AGO	16,4	28,0	13,5	1,68
SET	16,5	29,5	13,5	1,68
NOV-ENE	15,8	29,6	15,1	1,65

5.3. Comportamiento

5.3.1. Comportamiento individual

Las vacas fueron pintadas con un número visible para observar el comportamiento individual de cada vaca. Los comportamientos de alimentación (comer, rumiar, beber) y la actividad (echada, parada, caminando) fueron evaluados por observación visual en scan cada 10 minutos, en 3 días dentro de una semana y en cada mes (Damián et al., 2013; Grille et al., 2019). En primavera-verano, las vacas CA fueron observadas bajo sombra (techo) usando la misma metodología que para los otros comportamientos. Todos los observadores fueron entrenados previamente y se utilizó un observador por tratamiento al mismo tiempo.

Las vacas paridas en otoño se evaluaron durante 5 meses (de mayo a setiembre) y a partir de 43 días en lactancia promedio. La observación del comportamiento en encierro se realizó por la tarde y por la noche, desde 16:30 a 22:30 h (Confinamiento: 15:30-4:00 h) y en pastoreo durante la mañana de 7:00 a 14:00 h (durante todo el período de pastoreo).

En las vacas paridas en invierno, se evaluaron 3 meses de noviembre a enero, a partir de los 85 días de lactancia promedio. La observación del comportamiento en encierro se realizó durante la mañana y la tarde, desde 8:30 a 14:30 h. (Confinamiento: 7:30-15:00 h) y en pastoreo se realizó durante la tardecita desde 17:30 a 19:30 h (acceso a la pastura: 17:30-3:00 h). En primavera-verano, las vacas fueron confinadas durante la mañana y la tarde para evitar el pastoreo durante el día cuando las temperaturas eran más altas. El porcentaje de observaciones de cada comportamiento se calculó de acuerdo al número de veces que cada vaca realizó dicho comportamiento en el total de observaciones durante las 6 horas de evaluación (37 observaciones/día/vaca). Para la evaluación del comportamiento en confinamiento durante primavera-verano, el período se dividió en mañana (AM: 8:30-11:30 h) y tarde (PM: 11:30-14:30 h), según reportaron Pilatti et al. (2019). En las vacas con partos de invierno a cada vaca se le colocó un collar con sensores que registraban los minutos de rumia de forma continua durante todo el día (Allflex® SCR, Hi Tag, SCR Engineers Ltd., Netanya, Israel). Estos dispositivos que proporcionan los datos de minutos de rumia en intervalos de dos horas fueron validados por Schirmann et al. (2009).

5.3.2. Comportamiento agonista

El comportamiento agonista se observó durante el encierro inmediatamente luego de la alimentación de los animales, durante el mismo período que el comportamiento individual. Los comportamientos registrados fueron cabezazo, empuje, amenaza, evasión y choque cabeza-cabeza (Dickson et al., 1967). Se contaban el número de interacciones, además de registrar el lugar donde se llevaba a cabo la interacción (comedero, cama, bebedero). En las vacas paridas en otoño el comportamiento agonista era observado durante una hora en la tarde a partir de las 15:30 h. Había dos observadores por tratamiento, donde cada uno observaba de forma continua dos corrales.

En las vacas con partos de invierno el comportamiento agonista fue observado durante media hora. Se contaba con un observador por tratamiento, donde se comenzaba a registrar el comportamiento en el corral que recibía primero el alimento por 5 minutos y se seguía con el siguiente, hasta llegar al último corral. Luego se repetía lo mismo hasta completar 30 minutos de observación acumulada por corral (6 períodos de 5 minutos por corral).

5.4. Escore de locomoción y escore de lesión del tarso

El escore de locomoción y de lesión del tarso fueron evaluados mensualmente durante todo el experimento luego de la salida de la sala de ordeño. En las vacas con partos de otoño se evaluó desde abril a noviembre y en las vacas con partos de primavera desde octubre a febrero. El escore de locomoción era evaluado según la escala del 1 al 5 de Sprecher et al. (1997), donde 1 es normal y 5 es claudicación severa (Tabla 4). El escore de lesión del corvejón se evaluó según la escala de (Nocek, 2009), es una escala del 1 al 3 donde 1 es sana, 2 es un área depilada y 3 es lesión o edema en la zona del corvejón (Figura 2).

Tabla 4: Escore de locomoción en vacas lecheras (Sprecher et al., 1997)

Escore	Descripción clínica	Criterios de evaluación
1	Normal	Postura normal en estación y al caminar. Marcha normal.
2	Leve	Postura normal en estación, pero al caminar arquea la columna. Marcha normal.
3	Moderada	Postura de la columna arqueada tanto en estación como al caminar. Marcha alterada, pasos cortos con una o más extremidades.
4	Coja	Postura de la columna arqueada siempre es evidente. Favorece una o más extremidades al caminar.
5	Severa	Incapacidad de apoyar el peso en una o más extremidades.



Figura 2: Escore de lesión en tarso desarrollado por Nocek (2009).

5.5. Extracción de pelo y determinación de cortisol

Las muestras de pelo se extrajeron 21 días antes del parto (-21 DRP), a los 90 y 180 días relativos al parto (DRP 0= parto). En el preparto se extraía pelo de los grupos que ingresaban al preparto cada semana de acuerdo a su fecha probable de parto, mientras que en el posparto se utilizaron fechas fijas para muestrear a todos los animales. Las muestras de pelo se obtuvieron de la zona del cuello (color negro) en un cuadrado de 10x10cm de manera de tomar aproximadamente 3 gramos de pelo por vaca. Al momento del primer muestreo se registraba mediante fotografías el lugar exacto de la zona en que se extrajo la muestra para continuar los muestreos siguientes siempre en el mismo lugar. Luego de la extracción, las muestras eran identificadas con la fecha de muestreo y el número de vaca, para almacenarlas en bolsas de nylon a temperatura ambiente dentro de una caja de cartón para proteger de la luz.

El procesamiento de las muestras para extracción de cortisol se realizó en el Laboratorio de Bioquímica y en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal en Facultad de Veterinaria, Montevideo. Se siguió el procedimiento reportado por Tallo-Parra et al. (2014). Para la determinación de cortisol se utilizó un kit ELISA (Neogen® Corporation Europe, Ayr, UK), con una sensibilidad de 0,32 pg de cortisol/mg de pelo.

5.6. Extracción de sangre y determinación de proteínas sanguíneas

En el experimento se colectaron muestras de sangre sin anticoagulante de la vena coccígea luego del ordeño de la mañana. La extracción se realizó semanalmente hasta los 120 días de lactancia y quincenalmente desde los 120 días hasta el final de la lactancia. Luego de cada colecta las muestras eran centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos para extraer el suero que era identificado con la fecha y número de vaca, y almacenado a -4°C hasta su posterior análisis. Se seleccionaron las muestras que se encontraban más cercanas a las fechas de evaluación del comportamiento para analizar creatin

kinasa, proteínas totales y albúmina. La concentración de globulinas fue estimada por la diferencia entre proteínas totales y albúmina (Damián et al., 2021; Grille et al., 2019).

Las proteínas sanguíneas fueron determinadas mediante espectrofotometría (BA200, Biosystems S.A, Barcelona, España), en el Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo Animal, Facultad de Veterinaria, Montevideo, Uruguay. Se utilizaron kits comerciales de Biosystems S.A, Barcelona, España. Para todos los casos, el CV inter ensayo de los sueros control comercial fueron \leq al 10%.

5.7. Temperatura subcutánea de vacas lecheras

Se midió la temperatura subcutánea de 7 vacas de cada tratamiento (7 bloques elegidos al azar), diariamente cada una hora en diciembre y enero en las vacas paridas en invierno. Para el registro de la temperatura subcutánea se utilizaron dispositivos iButton DS1921H (Maxim Integrated TM, Texas, EE. UU.). Los dispositivos se colocaron en la zona post-escapular de cada animal, una semana antes de realizar comportamiento en diciembre. Se administró anestesia local (5 mL de Lidocaína al 2%) en la zona, se implantaron los dispositivos a través de una incisión cutánea en el tejido subcutáneo y se suturó la incisión. Los dispositivos se retiraron con el mismo procedimiento de colocación, luego de registrar la temperatura en enero.

5.8. Precipitaciones e índice de temperatura y humedad

La precipitación diaria, la temperatura y la humedad se obtuvieron de los registros de la estación meteorológica dentro de la estación experimental. La Figura 2 muestra la precipitación acumulada en los 15 días previos a la evaluación de comportamiento de vacas paridas en otoño y en invierno. Se registraron los meses en que hubo presencia de barro en toda la superficie de los corrales en el tratamiento CA asociados con la precipitación acumulada (Figura 3).

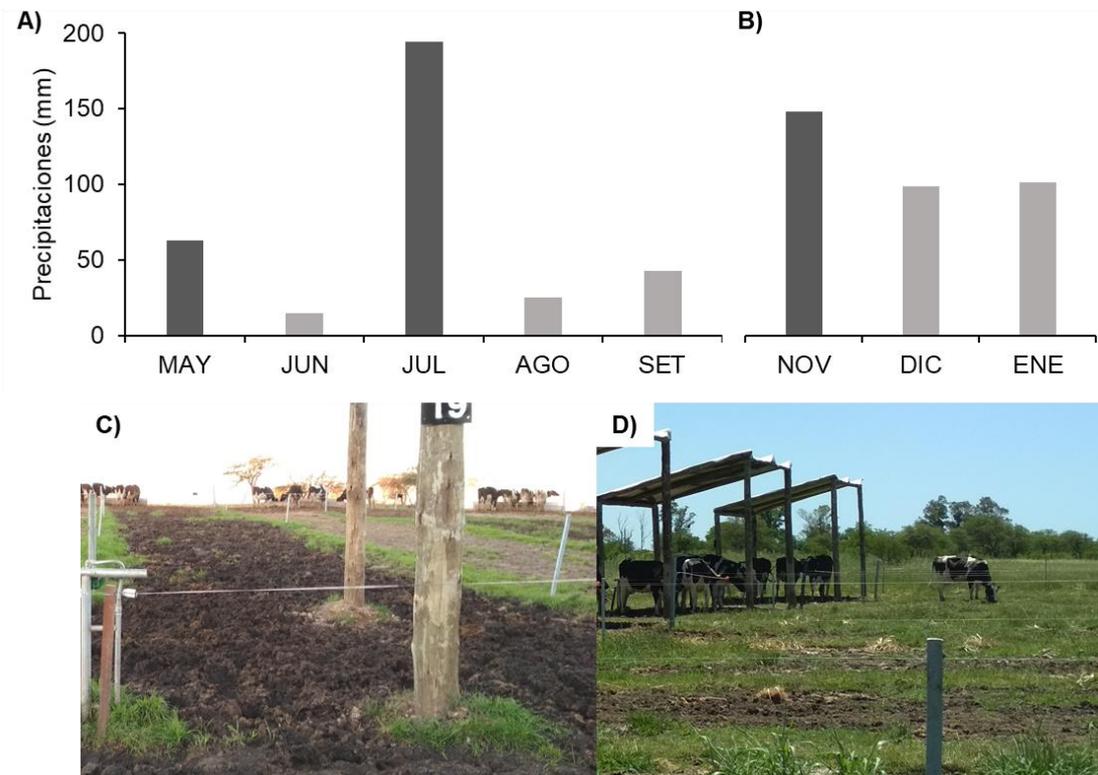


Figura 3: Lluvia acumulada (mm) durante los 15 días previos a la evaluación del comportamiento de las vacas paridas en otoño (A) (MAY: mayo; JUN: junio; JUL: julio; AGO: agosto; SET: setiembre) y de las vacas paridas en invierno (B) (NOV: noviembre; DIC: diciembre; ENE: enero). Las barras de color gris oscuro indican la presencia de barro en toda la superficie de los corrales en el tratamiento CA durante la evaluación del comportamiento (C), mientras que las barras claras indican que la superficie del corral CA se encontraba sin barro (D).

El ITH promedio, mínimo y máximo diario se calculó con la fórmula de NRC (1971). En el mes de noviembre el 20% de los días se superó el valor promedio crítico de ITH (72), en diciembre el 32% y en enero el 61% de los días. La Figura 4 muestra los valores de ITH promedio, mínimo y máximo de noviembre a enero. En todos los meses se registraron olas de calor leve pero no hubo ninguna ola de calor severa según la clasificación propuesta por Saravia et al., (2011). En noviembre hubo una ola de calor (4 días), en diciembre 2 (3 y 6 días) y en enero 2 (7 y 11 días). El comportamiento en diciembre fue evaluado la semana siguiente a una ola de calor, mientras que en enero el comportamiento fue evaluado durante una ola de calor.

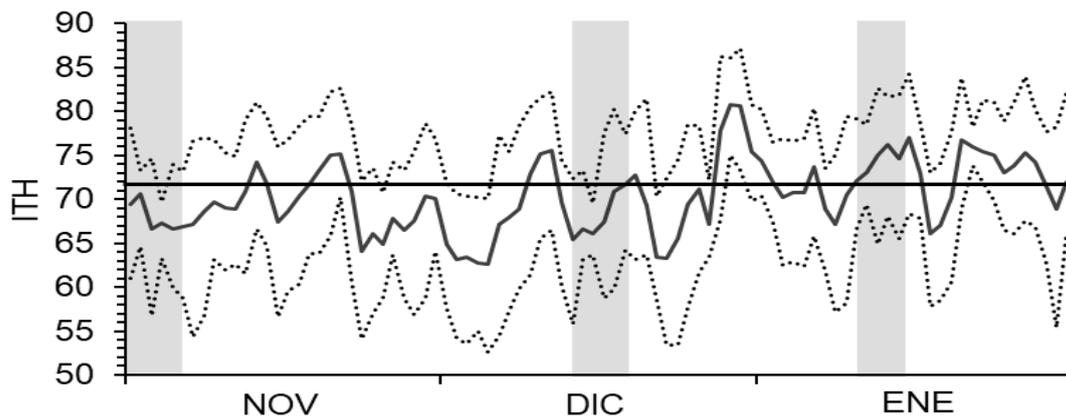


Figura 4: Índice de temperatura y humedad (ITH) promedio \pm mínimo y máximo (línea continua \pm línea de puntos) durante los meses de evaluación del comportamiento de las vacas paridas en invierno. La línea negra horizontal indica el nivel crítico de ITH (72) para las vacas lecheras. Las áreas sombreadas indican cada semana de evaluación del comportamiento.

5.9. Análisis estadístico

Los datos de cada época de parto se analizaron por separado mediante el procedimiento glimmix de SAS Studio (SAS OnDemand for Academics). El animal dentro de cada tratamiento se consideró como un efecto aleatorio. Se utilizó una estructura de covarianza autorregresiva de orden 1.

Para los datos de comportamiento de las vacas con partos de otoño, los efectos fijos fueron tratamiento de confinamiento (CB vs CA), mes del año y la interacción entre ellos. En los datos de las vacas con partos de invierno los efectos fijos fueron tratamiento, mes del año, el período del día (AM vs PM), y las interacciones tratamiento x mes, tratamiento x período y tratamiento x mes x período. Para los datos de comportamiento en la sombra (CA) los efectos fijos fueron el mes, período del día y su interacción.

Para los minutos de rumia en las vacas con partos de invierno los efectos fijos fueron tratamiento, mes del año, hora del día (suma de dos horas), y las interacciones tratamiento x mes, tratamiento x hora y tratamiento x mes x hora.

Para la temperatura subcutánea se utilizaron los registros de los días de evaluación de comportamiento, excluyendo el tiempo de ordeño. Los efectos fijos para los datos de temperatura subcutánea fueron tratamiento, mes, período del día [P(pastoreo): 17:31-4:30h, C-AM (confinamiento AM): 07:01-12:00 h, C-PM (confinamiento PM): 12:01-16:30 h], las interacciones tratamiento x mes, tratamiento x período y tratamiento x mes x período.

Para el cortisol en pelo los efectos fijos fueron tratamiento, tiempo (21 días preparto, 90 y 180 DRP), y la interacción entre ellos.

Para el análisis de las proteínas sanguíneas los efectos fijos fueron tratamiento, mes y la interacción entre ellos. Los días posparto se utilizaron como covariable. El score de locomoción se analizó (por separado para época de parto) con el software R mediante un modelo para datos ordinales considerando las variables

tratamiento, mes y su interacción.

En todas las comparaciones de medias se utilizó la prueba Tukey. Los resultados se expresan como la media \pm el error estándar de la media (EEM). Las diferencias se consideraron significativas con un alfa $\leq 0,05$. Se consideró una tendencia con un alfa entre 0,05 y 0,10.

6. RESULTADOS

6.1. Partos de otoño

6.1.1. Comportamiento

En el comportamiento de comiendo en confinamiento, las vacas del tratamiento CB tendieron a comer con mayor frecuencia que las de CA (Tabla 5). Hubo efecto significativo del mes y de la interacción tratamiento x mes para el comportamiento de comiendo (Tabla 5). Las vacas CB presentaron mayor frecuencia en el comportamiento de comer que las vacas CA en los meses de mayo y agosto (Figura 2A). El comportamiento de comer promedio de ambos tratamientos disminuyó a lo largo de los meses, donde se observó el valor más alto en mayo y el valor más bajo en setiembre (MAY: $40,4 \pm 1,30\%$; JUN: $32,6 \pm 1,41\%$; JUL: $30,2 \pm 1,22\%$; AGO: $31,9 \pm 1,22\%$; SET: $24,4 \pm 1,30\%$; Figura 2A). En la pastura las vacas del tratamiento CB estuvieron pastoreando más que las vacas de CA (Tabla 6). Se encontraron diferencias en este comportamiento a lo largo de los meses, mientras que no se encontró efecto de la interacción tratamiento x mes (Tabla 6). Desde junio a setiembre el comportamiento de comiendo promedio de ambos tratamientos fue aumentando, donde el valor más bajo se registró en junio y el valor más alto en setiembre (JUN: $36,5 \pm 3,03\%$; JUL: $50,6 \pm 2,81\%$; AGO: $47,8 \pm 2,80\%$; SET: $62,3 \pm 2,90\%$; Figura 3A).

Tabla 5: Frecuencia (media de % observaciones \pm EEM) de los comportamientos comiendo, rumiando, bebiendo, echada, parada, caminando durante el confinamiento de vacas lecheras Holstein (partos de otoño) con confinamiento parcial en *compost barn* (CB, n =16) o a cielo abierto (CA, n=16) en mayo, junio, julio, agosto y setiembre

	Tratamiento		EEM	Valor P		
	CB	CA		T	M	TxM
Comiendo	32,8	31,1	1,10	0,07	<0,0001	<0,0001
Rumiando	25,7	29,2	1,95	0,0005	<0,0001	<0,0001
Bebiendo	3,1	1,9	0,21	<0,0001	0,0004	NS
Echada	43,8	39,4	1,47	0,003	<0,0001	<0,0001
Parada	55,5	59,0	1,45	0,02	<0,0001	<0,0001
Caminando	0,4	1,1	0,12	<0,0001	<0,0001	NS

T: tratamiento. M: mes. TxM: interacción entre tratamiento y mes. NS: no significativo.

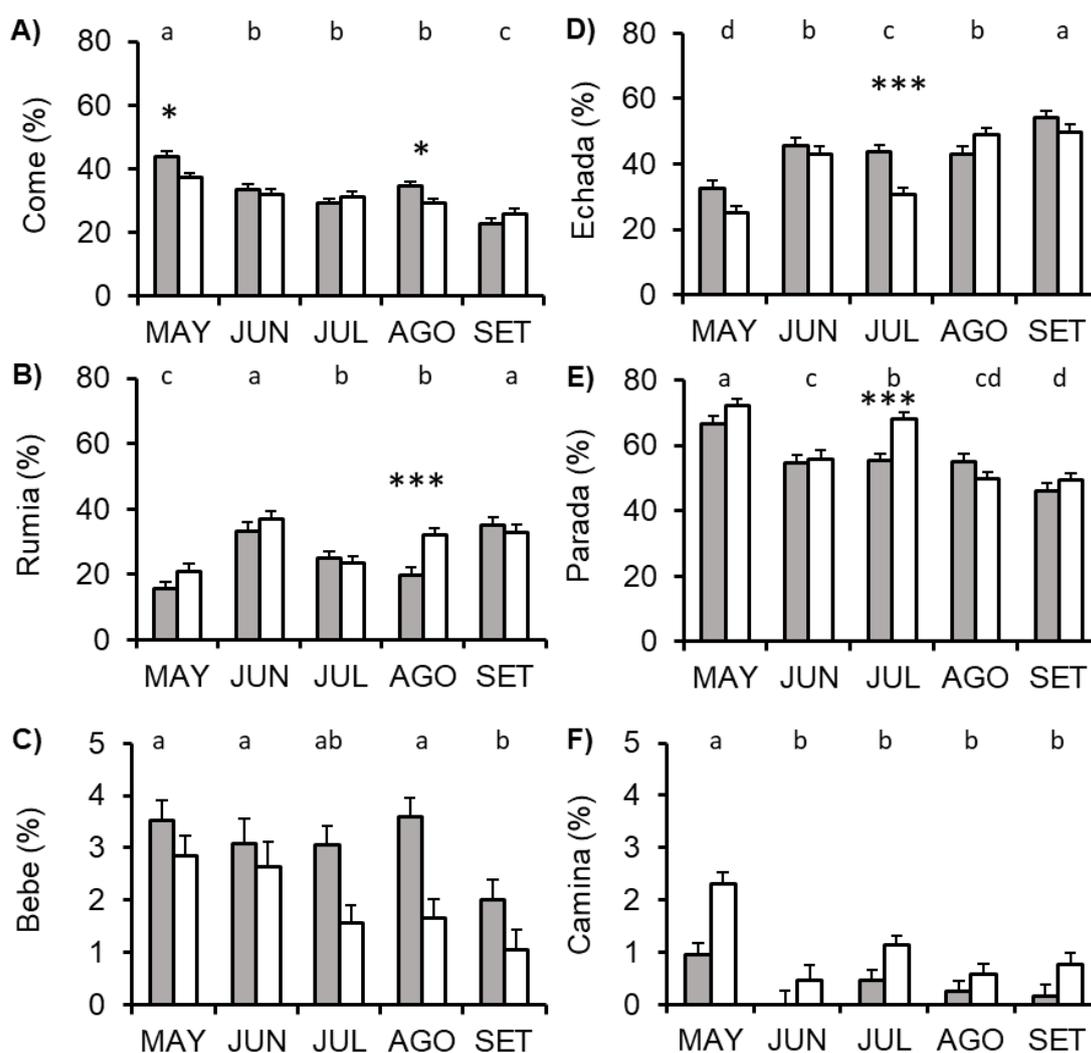


Figura 2: Frecuencia (media del % de observaciones \pm EEM) de los comportamientos de comiendo (A), rumiando (B), bebiendo (C), echadas (D), paradas (E) y caminando (F) durante el confinamiento de vacas lecheras Holstein (partos de otoño) en *compost barn* (barras grises, n=16) o a cielo abierto (barras blancas, n=16) en los meses de mayo (MAY), junio (JUN), julio (JUL), agosto (AGO) y setiembre (SET). Letras diferentes indican diferencias significativas entre meses ($p < 0,05$). Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos dentro del mismo mes (* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$).

La frecuencia de rumia durante el confinamiento fue mayor en las vacas CA que en las vacas CB (Tabla 5). En el mes de agosto, las vacas de CA rumiaron más que las vacas de CB (Figura 2B). Las vacas variaron su comportamiento de rumia a lo largo de los meses, con menores valores de rumia (promedio de ambos tratamientos) aumentando desde mayo ($18,2 \pm 2,11\%$) a junio ($35,1 \pm 2,24\%$), para luego disminuir en julio ($24,1 \pm 2,03\%$) y agosto ($25,9 \pm 2,03\%$) y aumentar nuevamente en setiembre ($33,9 \pm 2,13\%$, Figura 2B).

Durante el acceso a la pastura no se encontró efecto del tratamiento ni de la interacción tratamiento x mes en el comportamiento de rumia (Tabla 6), mientras

que sí se encontraron diferencias en el comportamiento promedio de ambos tratamientos que fue disminuyendo a lo largo de los meses (JUN: $28,7 \pm 1,62\%$; JUL: $24,5 \pm 1,39\%$; AGO: $25,7 \pm 1,39\%$; SET: $16,8 \pm 1,49\%$; Figura 3B).

Tabla 6: Frecuencia (media de % observaciones \pm EEM) de los comportamientos comiendo, rumiando, bebiendo, echada, parada, caminando durante el pastoreo de vacas lecheras Holstein (partos de otoño) con confinamiento parcial en *compost barn* (CB, n =16) o a cielo abierto (CA, n=16) en junio, julio, agosto y setiembre

	Tratamiento			Valor P		
	CB	CA	EEM	T	M	TxM
Comiendo	51,0	47,6	2,75	0,01	<0,0001	NS
Rumiando	24,2	23,7	1,32	NS	<0,0001	0,10
Bebiendo	0,3	0,2	0,08	NS	<0,0001	NS
Echada	39,4	42,7	1,80	0,01	<0,0001	NS
Parada	57,2	52,9	1,98	0,0003	<0,0001	NS
Caminando	1,2	1,2	0,17	NS	<0,0001	0,05

T: tratamiento. M: mes. TxM: interacción entre tratamiento y mes. NS: no significativo.

Las vacas del tratamiento CB bebieron agua con mayor frecuencia que las del CA durante el confinamiento, mientras que no hubo interacción tratamiento x mes (Tabla 5). Durante los primeros cuatro meses se mantuvo una frecuencia constante (MAY: $3,2 \pm 0,29\%$; JUN: $2,9 \pm 0,34\%$; JUL: $2,3 \pm 0,26\%$; AGO: $2,6 \pm 0,26\%$), la cual disminuyó en el último mes (SET: $1,5 \pm 0,29\%$; Figura 2C).

En la pastura no se encontró efecto del tratamiento ni de la interacción tratamiento x mes en el comportamiento de beber agua (Tabla 6). De junio a agosto la frecuencia promedio de ambos tratamientos en que se encontraba a las vacas bebiendo era menor que en setiembre (JUN: $0,00 \pm 0,12\%$; JUL: $0,07 \pm 0,09\%$; AGO: $0,18 \pm 0,09\%$; SET: $0,66 \pm 0,10\%$; Figura 3C).

Se encontró una mayor frecuencia de estar echadas en las vacas CB durante el confinamiento que las de CA (Tabla 5). Las vacas de CB estuvieron echadas con mayor frecuencia que las CA en el mes de julio (Figura 2D). Las vacas de ambos tratamientos estuvieron echadas en diferente frecuencia a lo largo de los meses (MAY: $28,7 \pm 1,82\%$, JUN: $44,1 \pm 2,00\%$; JUL: $37,2 \pm 1,68\%$, AGO: $46,0 \pm 1,68\%$; SET: $51,9 \pm 1,82\%$; Figura 2D).

En la pastura las vacas de CB estuvieron echadas en menor frecuencia que las vacas de CA (Tabla 6). No hubo interacción tratamiento x mes. La frecuencia promedio de estar echadas en las vacas de ambos tratamientos disminuyó desde junio a setiembre (JUN: $49,2 \pm 2,23\%$; JUL: $42,2 \pm 1,9\%$; AGO: $44,6 \pm 1,90\%$; SET: $28,3 \pm 2,04\%$; Figura 3D).

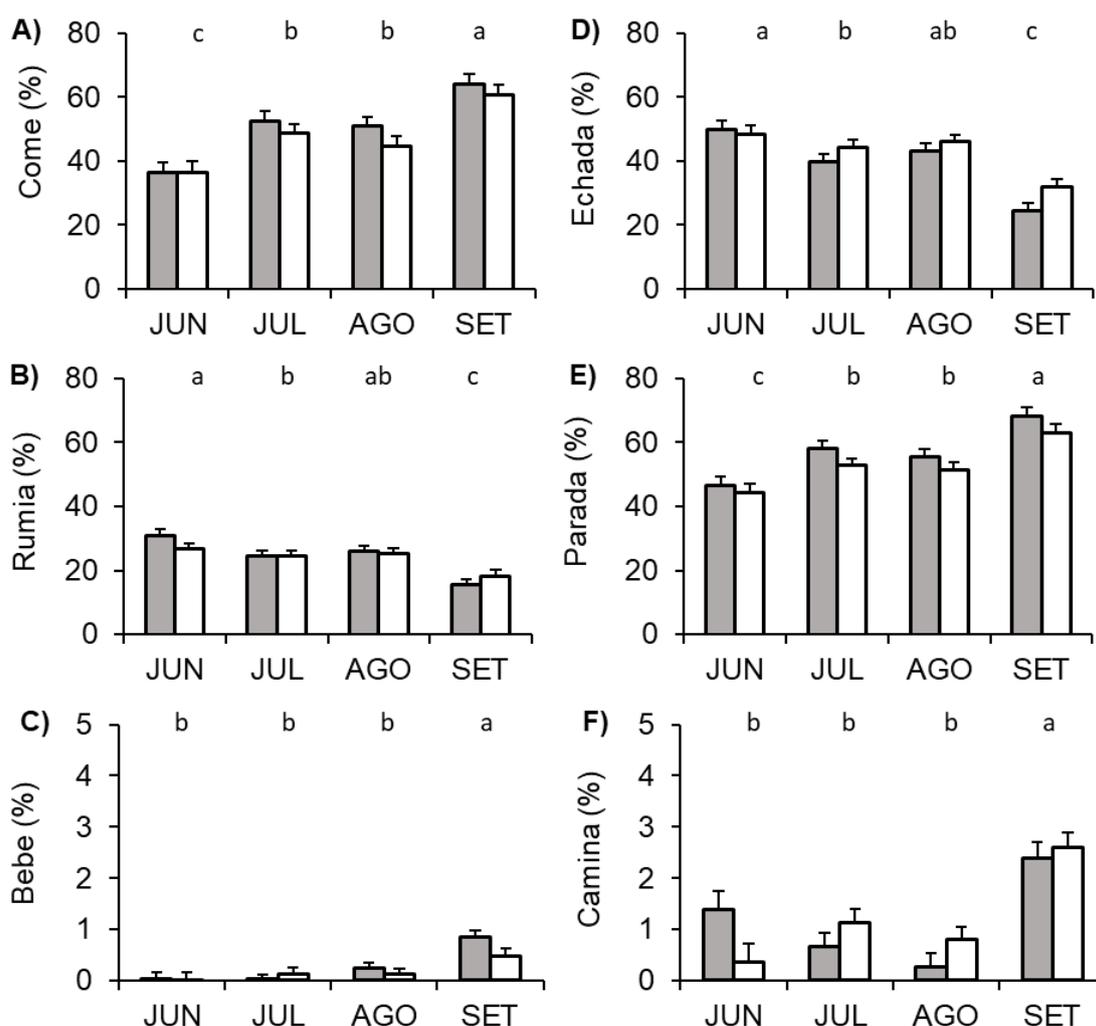


Figura 3: Frecuencia (media del % de observaciones \pm EEM) de los comportamientos de comiendo (A), rumiando (B), bebiendo (C), echadas (D), paradas (E) y caminando (F) durante el pastoreo de vacas lecheras Holstein (partos de otoño) con confinamiento parcial en *compost barn* (barras grises, n=16) o a cielo abierto (barras blancas, n=16) en los meses de junio (JUN), julio (JUL), agosto (AGO) y setiembre (SET). Letras diferentes indican diferencias significativas entre meses ($p < 0,05$).

Las vacas de CA estaban de pie con más frecuencia que las vacas CB durante el confinamiento (Tabla 5). En el mes de julio, se encontró una mayor frecuencia de estar de pie en las vacas en CA en comparación con las vacas en CB (Figura 2E). Las vacas de ambos tratamientos en promedio estuvieron de pie con mayor frecuencia en mayo, posteriormente la frecuencia disminuyó excepto en el mes de julio donde se registró una frecuencia mayor en comparación con el mes anterior (MAY: $69,3 \pm 1,80\%$; JUN: $55,2 \pm 1,99\%$; JUL: $61,7 \pm 1,66\%$; AGO: $52,5 \pm 1,66\%$; SET: $47,6 \pm 1,80\%$; Figura 2E).

Durante el acceso a la pastura las vacas de CA estuvieron menos paradas que las vacas de CB (Tabla 6). No se encontró interacción tratamiento x mes para este comportamiento (Tabla 6). La frecuencia de estar parada en promedio de

ambos tratamientos fue aumentando desde junio a setiembre (JUN: $45,4 \pm 2,34\%$; JUL: $55,5 \pm 2,05\%$; AGO: $53,5 \pm 5,05\%$; SET: $65,7 \pm 2,16\%$; Figura 3E) Las vacas en CA caminaron con más frecuencia durante el confinamiento que las vacas en CB (Tabla 5). No se encontró interacción tratamiento x mes para caminando (Tabla 5). Se observó una frecuencia promedio más alta en ambos tratamientos en el mes de mayo en comparación con los otros meses (MAY: $1,6 \pm 0,17\%$; JUN: $0,2 \pm 0,20\%$; JUL: $0,8 \pm 0,14\%$; AGO: $0,4 \pm 0,14\%$; SET: $0,5 \pm 0,17\%$; Figura 2F).

Durante el acceso a la pastura no se encontraron diferencias entre tratamientos y tampoco se encontró efecto de la interacción tratamiento x mes (Tabla 6). En el mes de setiembre las vacas de ambos tratamientos en promedio caminaron con mayor frecuencia que en los otros meses (JUN: $0,9 \pm 0,27\%$; JUL: $0,9 \pm 0,20\%$; AGO: $0,5 \pm 0,20\%$; SET: $2,5 \pm 0,22\%$; Figura 3F).

Con respecto a las interacciones agonistas (IA) durante el confinamiento las vacas mantenidas en CB tendieron a presentar mayor cantidad de IA que las CA (CB: $3,8 \pm 0,13$ IA; CA: $3,4 \pm 0,16$ IA; $P=0,09$). No se encontró efecto de la interacción tratamiento x mes, pero si hubo efecto del mes (promedio de ambos tratamientos, Figura 4)

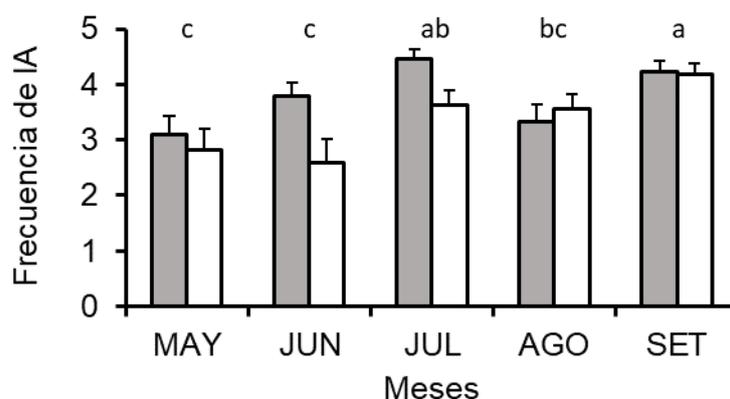


Figura 4: Frecuencia de interacciones agonistas (IA) de vacas lecheras Holstein (partos de otoño) durante el confinamiento en *compost barn* (barras grises, n=16) o a cielo abierto (barras blancas, n=16) en los meses de mayo (MAY), junio (JUN), julio (JUL), agosto (AGO) y setiembre (SET). Letras diferentes indican diferencias significativas entre meses ($p < 0,05$).

6.1.2. Escore de locomoción y escore de lesión en piel de tarso

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, meses, ni en su interacción en ambas épocas de parto. En la figura 5 se muestra la proporción de escores por tratamiento y por mes de manera descriptiva.

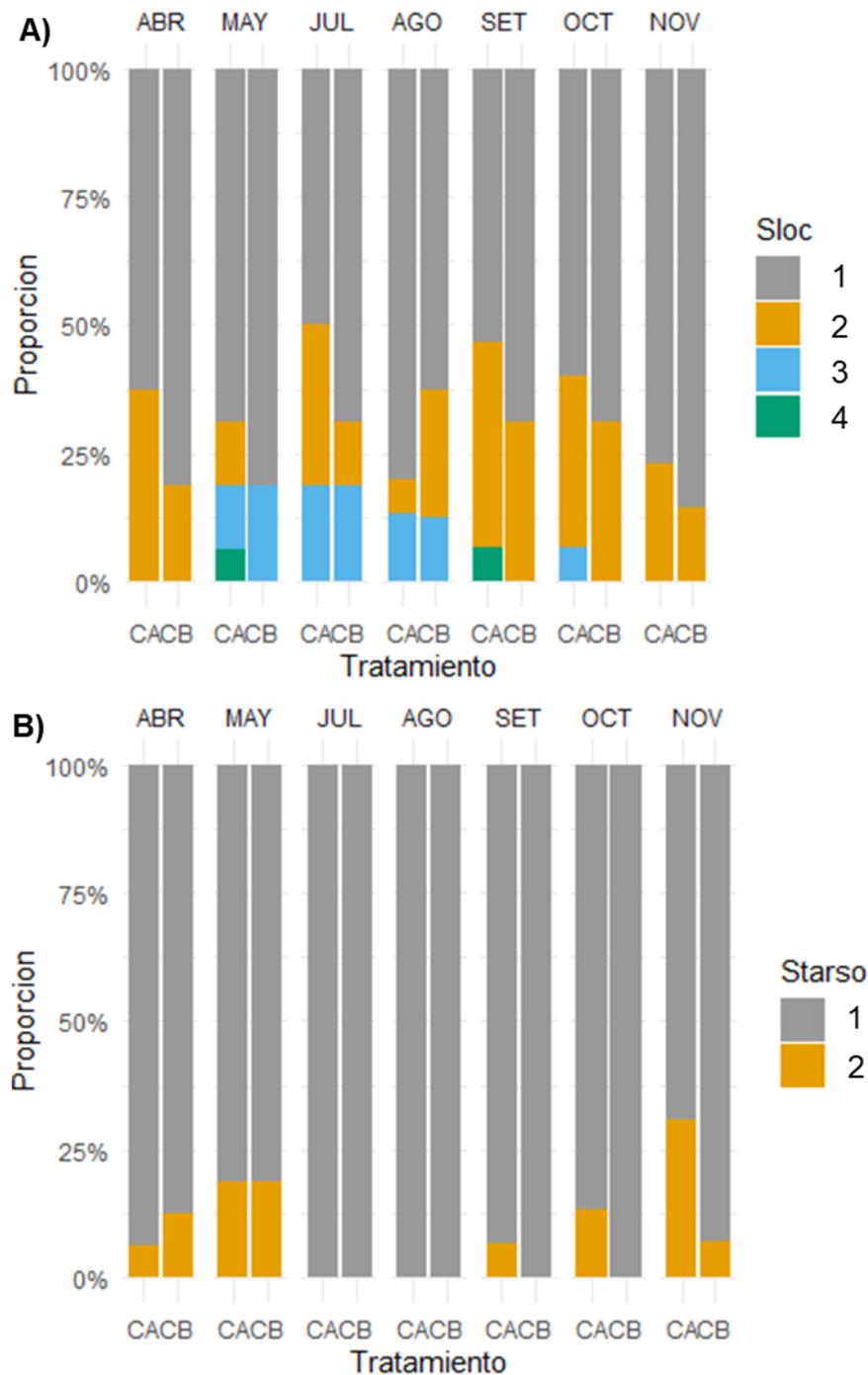


Figura 5: Proporción de los diferentes escores de locomoción (A, Sprecher et al., 1997) y escore de lesión en la piel del tarso (B, Nocek, 2009) en vacas lecheras Holstein (partos de otoño) con confinamiento parcial en *compost barn* (CB) o a cielo abierto (CA) en los meses de abril (ABR), mayo (MAY), julio (JUL), agosto (AGO), setiembre (SET), octubre (OCT) y noviembre (NOV).

6.1.3. Cortisol en pelo

No se encontraron diferencias entre tratamientos para el cortisol en pelo, tampoco se encontró efecto de la interacción tratamiento x tiempo. La media de cortisol en pelo en el tratamiento CB fue $3,0 \pm 0,30$ pg/mg y en el tratamiento CA

2,35 ± 0,30 pg/mg. La concentración de cortisol en pelo promedio de ambos tratamientos aumentó a los 90 DRP en relación al parto, bajando a los 180 DRP (-21 DRP: 2,03 ± 0,33 pg/mg, vs. 90 DRP: 3,60 ± 0,31 pg/mg vs. 180 DRP: 2,41 ± 0,34 pg/mg, p<0,02).

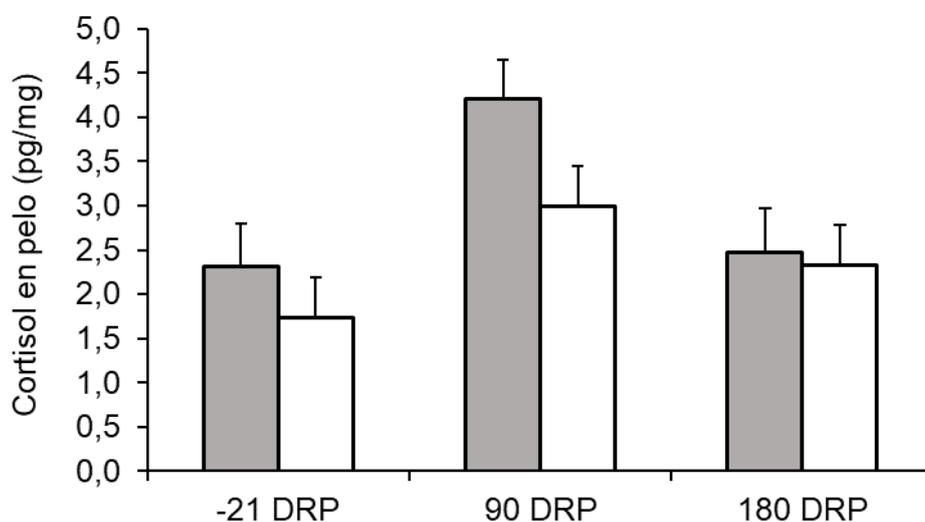


Figura 6: Cortisol en pelo de vacas lecheras Holstein (partos de otoño) con confinamiento parcial en *compost barn* (barras grises, n=15) o a cielo abierto (barras blancas, n=15) desde el parto (-21 DRP) hasta los 180 DRP.

6.1.4. Proteínas sanguíneas

Las concentraciones séricas de proteínas totales y globulinas fueron mayores en el tratamiento CB que en CA, mientras que las concentraciones de albúmina tendieron a ser mayores en el tratamiento CA con respecto al CB (Tabla 7 y Figura 7). En las concentraciones séricas de creatin kinasa no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 7 y Figura 7).

Tabla 7: Concentración sérica de proteínas sanguíneas (proteínas totales, albúmina, globulina y creatin kinasa) de vacas lecheras Holstein (partos de otoño) en un sistema mixto con confinamiento parcial en *compost barn* (CB, n=16) o a cielo abierto (CA, n=16) desde mayo a setiembre de 2019

Concentración sérica	Tratamiento			Valor p		
	CB	CA	EE	T	M	TxM
Proteínas totales (g/L)	76,6	71,9	1,10	0,02	0,003	NS
Albúmina (g/L)	34,7	36,2	0,49	0,09	<0,0001	0,06
Globulinas (g/L)	41,8	35,9	1,04	0,006	<0,0001	NS
Creatin kinasa (U/L)	272,4	198,4	39,9	NS	0,003	NS

T: tratamiento. M: mes. TxM: interacción entre tratamiento y mes. NS: no significativo.

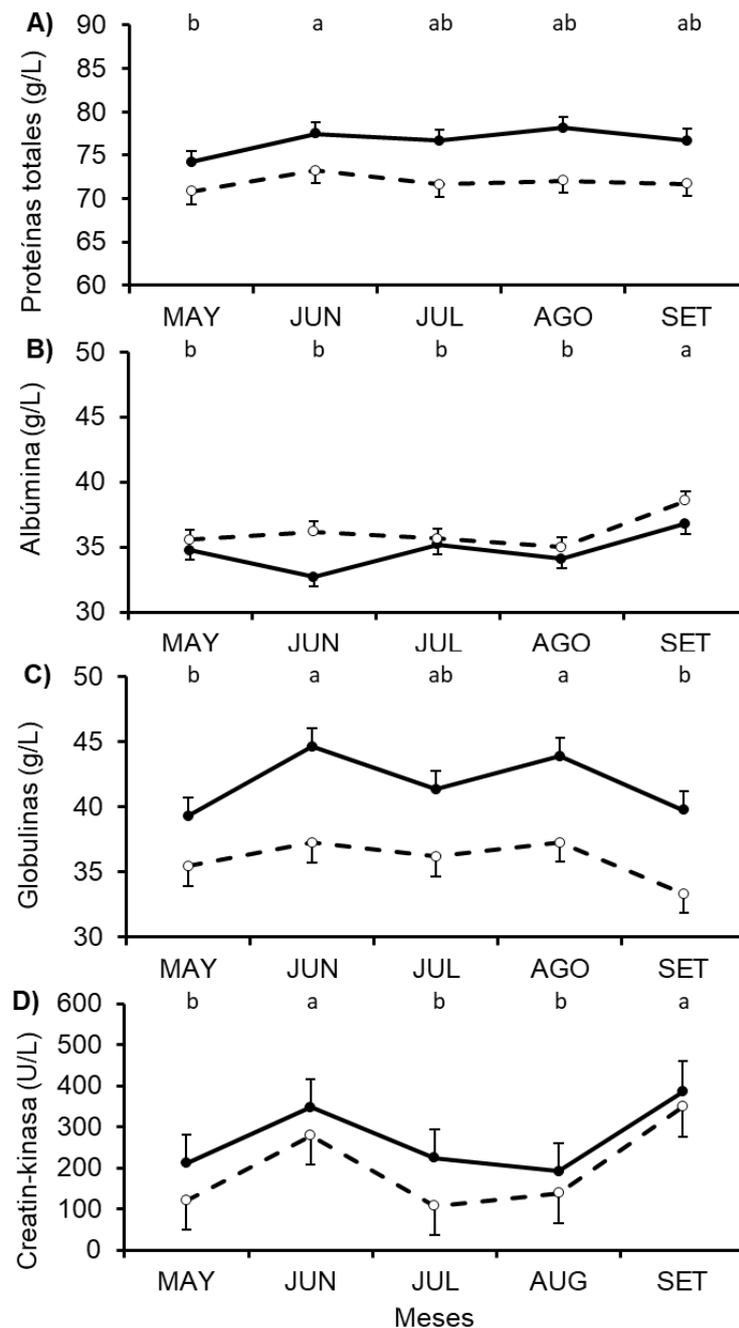


Figura 7: Concentración de proteínas totales (A), albuminas (B), globulinas (C) y creatin kinasa (D) en vacas lecheras Holstein (partos de otoño) con confinamiento parcial en *compost barn* (línea continua, n=16) o a cielo abierto (línea discontinua, n=16) en los meses de mayo (MAY), junio (JUN), julio (JUL), agosto (AGO) y setiembre (SET). Letras diferentes indican diferencias significativas entre meses ($p < 0,05$).

6.2. Partos de invierno

6.2.1. Comportamiento

En confinamiento no hubo efecto del tratamiento sobre la frecuencia en que las

vacas comían, pero sí hubo interacción entre tratamiento y mes y tratamiento x mes x periodo (Tabla 8). Durante el confinamiento en enero, las vacas de CA dedicaron menos proporción de su tiempo a comer por la mañana que las vacas en CB (Figura 8A). En noviembre y diciembre no hubo diferencia entre tratamientos, pero en enero las vacas CB comieron con mayor frecuencia que las vacas CA ($28,1 \pm 1,2\%$ vs. $23,3 \pm 1,3\%$, $p = 0,049$). La frecuencia en el comportamiento de comiendo en ambos tratamientos varió a lo largo de los meses, en diciembre ($30,6 \pm 0,8\%$) fue mayor que en enero ($25,7 \pm 0,9\%$, $p < 0,0001$), y en enero fue mayor que en noviembre ($17,4 \pm 0,8\%$, $p < 0,0001$ Figura 7A). En el período de la mañana, las vacas comieron con mayor frecuencia que en la tarde (AM: $46,7 \pm 0,8\%$, PM: $2,4 \pm 0,8\%$, Tabla 1, efecto del período). La interacción tratamiento x periodo no fue significativa (Tabla 8).

Tabla 8: Frecuencia (media de % observaciones \pm SEM) de los comportamientos comiendo, rumiando, bebiendo, echada, parada, caminando y minutos de rumia durante el confinamiento de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) en *compost barn* (CB, n =15) o a cielo abierto (CA, n=15) durante la mañana o la tarde (P: período del día) en noviembre, diciembre y enero

	Tratamiento			Valor P					
	CB	CA	EEM	T	M	P	TxM	TxP	TxMxP
Comiendo	25,1	24,1	0,79	NS	<0,0001	<0,0001	0,005	NS	<0,0001
Rumiando	31,7	30,1	1,19	NS	<0,0001	<0,0001	NS	0,02	<0,0001
Bebiendo	2,7	2,5	0,35	NS	0,01	<0,0001	NS	0,09	0,05
Echada	23,5	17,6	2,65	0,001	0,09	<0,0001	NS	<0,0001	0,02
Parada	74,2	81,7	2,84	<0,0001	NS	<0,0001	0,07	<0,0001	NS
Caminando	0,4	0,5	0,13	NS	NS	NS	0,04	NS	0,06
Minutos de rumia	32,8	30,1	1,71	0,04	<0,0001	<0,0001	0,003	0,03	<0,0001

T: tratamiento. M: mes. TxM: interacción entre sistema y mes. TxP: interacción entre sistema y periodo. TxMxP: interacción entre sistema, mes y periodo. NS: no significativo.

En la pastura, las vacas CB pastorearon con mayor frecuencia que las vacas CA (Tabla 9). En enero, las vacas CB comieron con mayor frecuencia que las vacas CA (efecto tratamiento x mes, Figura 9A). La frecuencia promedio en el comportamiento de comiendo en ambos tratamientos disminuyó de noviembre a enero (NOV: $97,3 \pm 3,0\%$, DIC: $82,8 \pm 3,0\%$, ENE: $61,4 \pm 3,3\%$, $p < 0,0001$; Figura 8A).

Tabla 9: Frecuencia (media de % observaciones \pm SEM) de los comportamientos comiendo, rumiando, bebiendo, echada, parada, caminando y minutos de rumia durante el pastoreo de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) con confinamiento parcial en *compost barn* (CB, n =15) o a cielo abierto (CA, n=15) en noviembre, diciembre y enero

	Tratamiento			Valor P					
	CB	CA	EEM	T	M	P	TxM	TxP	TxMxP
Comiendo	83,4	77,7	2,95	0,003	<0,0001	--	0,001	--	--
Rumiando	0,5	6,2	0,68	<0,0001	<0,0001	--	<0,0001	--	--
Bebiendo	0,9	1,5	0,30	NS	<0,0001	--	0,008	--	--
Echada	3,3	4,5	1,67	NS	<0,0001	--	0,0002	--	--
Parada	92,2	90,2	1,87	NS	<0,0001	--	NS	--	--
Caminando	1,9	2,3	0,48	NS	NS	--	<0,0001	--	--
Minutos de rumia	43,8	43,2	0,99	NS	0,08	<0,0001	0,0004	NS	<0,0001

T: tratamiento. M: mes. P: periodo. TxM: interacción entre sistema y mes. TxP: interacción entre sistema y periodo. TxMxP: interacción entre sistema, mes y periodo. NS: no significativo.

En confinamiento no hubo efecto del tratamiento sobre la frecuencia en que las vacas rumiaban (Tabla 8). Las vacas CB rumiaron más frecuentemente que las vacas CA durante la tarde (CB: $48,2 \pm 1,4\%$, CA: $44,0 \pm 1,4\%$, $p=0,046$, Tabla 8). Hubo mayor frecuencia de rumia en la tarde que en la mañana (PM: $46,1 \pm 1,2\%$, AM: $15,7 \pm 1,2\%$, Tabla 8). Se encontró efecto del mes, la frecuencia promedio de rumia en ambos tratamientos disminuyó de noviembre a diciembre (NOV: $34,7 \pm 1,2\%$, DIC: $27,2 \pm 1,3\%$, $p<0,0001$) y aumentó en enero (ENE: $30,8 \pm 1,5\%$, NOV vs ENE: $p=0,02$, DIC vs ENE: $p=0,04$ Tabla 8 y Figura 8B). Las interacciones tratamiento x mes no fueron significativas (Tabla 8).

En la pastura, las vacas CA rumiaron con mayor frecuencia que las vacas CB (Tabla 9). Se encontró efecto de interacción tratamiento x mes, en enero las vacas CA rumiaron más frecuentemente que las vacas CB (Figura 9B). La frecuencia promedio de rumia en ambos tratamientos fue menor en noviembre y diciembre (NOV: $0,2 \pm 0,7\%$, DIC: $1,7 \pm 0,7\%$; $p=0,08$) que en enero ($8,1 \pm 0,8\%$, $p<0,0001$; Figura 9B).

En confinamiento las vacas CB rumiaron más minutos que las vacas CA (Tabla 8). En noviembre, de 12:00 a 14:00 h, las vacas CA rumiaron más minutos que las vacas CB (Tratamiento x mes x hora, Tabla 8 y Figura 10). En enero de 12:00 a 16:00 h las vacas CB rumiaron más tiempo (Tabla 8 y Figura 10).

En pastoreo no hubo efecto de tratamiento en los minutos de rumia (Tabla 9). Sin embargo, hubo efecto de interacción tratamiento x mes x hora, en noviembre de 20:00 a 22:00 horas y en enero de 18:00 a 20:00 horas, las vacas CA rumiaron más tiempo que las vacas CB. Por el contrario, durante diciembre las vacas CB rumiaron más que las vacas CA entre las 20:00-22:00 horas y entre las 00:00-04:00 horas (Figura 10).

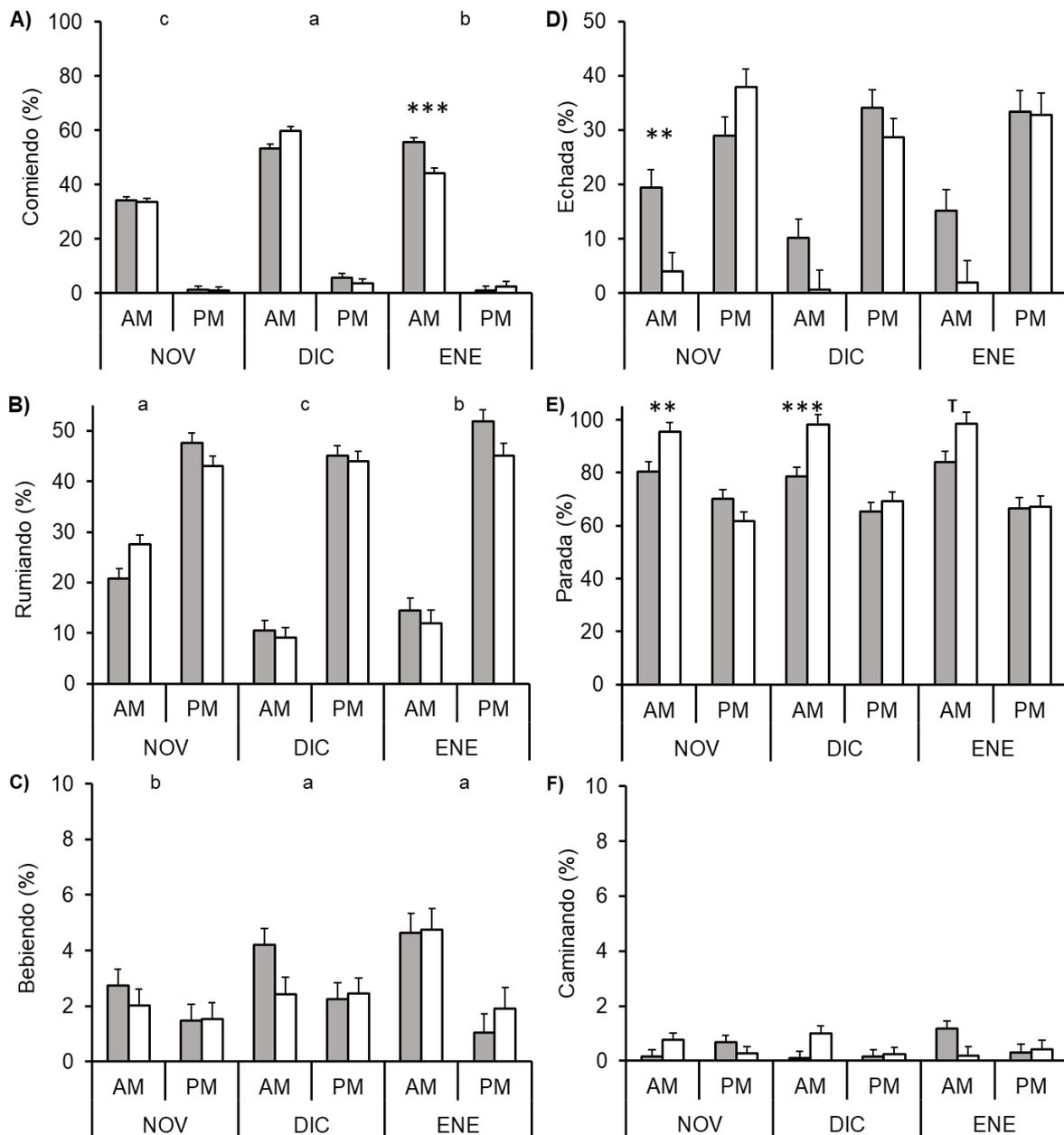


Figura 8: Frecuencia (media del % de observaciones \pm EEM) de los comportamientos de comiendo (A), rumiando (B), bebiendo (C), echadas (D), paradas (E) y caminando (F) durante el confinamiento de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) con confinamiento parcial en *compost barn* (barras grises, n=15) o a cielo abierto (barras blancas, n=15) en los meses de noviembre (NOV), diciembre (DIC) y enero (ENE) por la mañana (AM) y por la tarde (PM). Letras diferentes indican diferencias significativas entre meses ($p < 0,05$). Los asteriscos indican diferencias significativas entre tratamientos dentro del mismo mes y período del día (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$), mientras que T indica tendencia ($P < 0,10$).

No se encontraron diferencias en el comportamiento de beber agua durante el confinamiento al comparar tratamientos e interacciones tratamiento x mes,

tratamiento x mes x periodo y tratamiento x periodo (Tabla 8 y Figura 8C). La frecuencia de este comportamiento fue menor en noviembre que en diciembre y enero (NOV: $1,9 \pm 0,4\%$, DIC: $2,8 \pm 0,4\%$, ENE: $3,1 \pm 0,4\%$, $p=0,04$; Tabla 8 y Figura 8C). Por la mañana, la frecuencia de bebiendo fue mayor que por la tarde (Tabla 8).

Durante el pastoreo no hubo efecto del tratamiento sobre la frecuencia de bebiendo agua (Tabla 9). La frecuencia de este comportamiento fue menor en las vacas CB que en las vacas CA durante diciembre (Tabla 9 y Figura 9C). La frecuencia promedio en ambos tratamientos aumentó de noviembre a diciembre ($p=0,03$) y de diciembre a enero ($p=0,02$, NOV: $0,005 \pm 0,3\%$, DIC: $1,1 \pm 0,3\%$, ENE: $2,5 \pm 0,4\%$; Tabla 9 y Figura 9C).

Las vacas CB estuvieron echadas más que las vacas CA durante el confinamiento (Tabla 8). En noviembre, las vacas CA se echaron con menor frecuencia por la mañana (Figura 8D). La frecuencia promedio de echadas en ambos tratamientos tendió a disminuir de noviembre a diciembre (Tabla 8). Las vacas CB estuvieron más echadas en la mañana que las vacas CA (Tabla 8). Se registraron frecuencias promedio de echadas más altas en la tarde en comparación con la mañana (Tabla 8 y Figura 8D). Las interacciones tratamiento x mes no fueron significativas (Tabla 8).

En pastoreo no hubo efecto del tratamiento sobre la frecuencia en que las vacas estaban echadas (Tabla 9). En enero, las vacas CB estuvieron echadas con menor frecuencia que las vacas CA (Tabla 9 y Figura 9C). La frecuencia promedio de echadas en ambos tratamientos aumentó de noviembre a diciembre (NOV: $0,07 \pm 1,7\%$ vs. DEC: $6,9 \pm 1,7\%$, $p<0,0001$), sin diferencia entre diciembre y enero (ENE: $4,6 \pm 1,9\%$; Tabla 9 y Figura 9C).

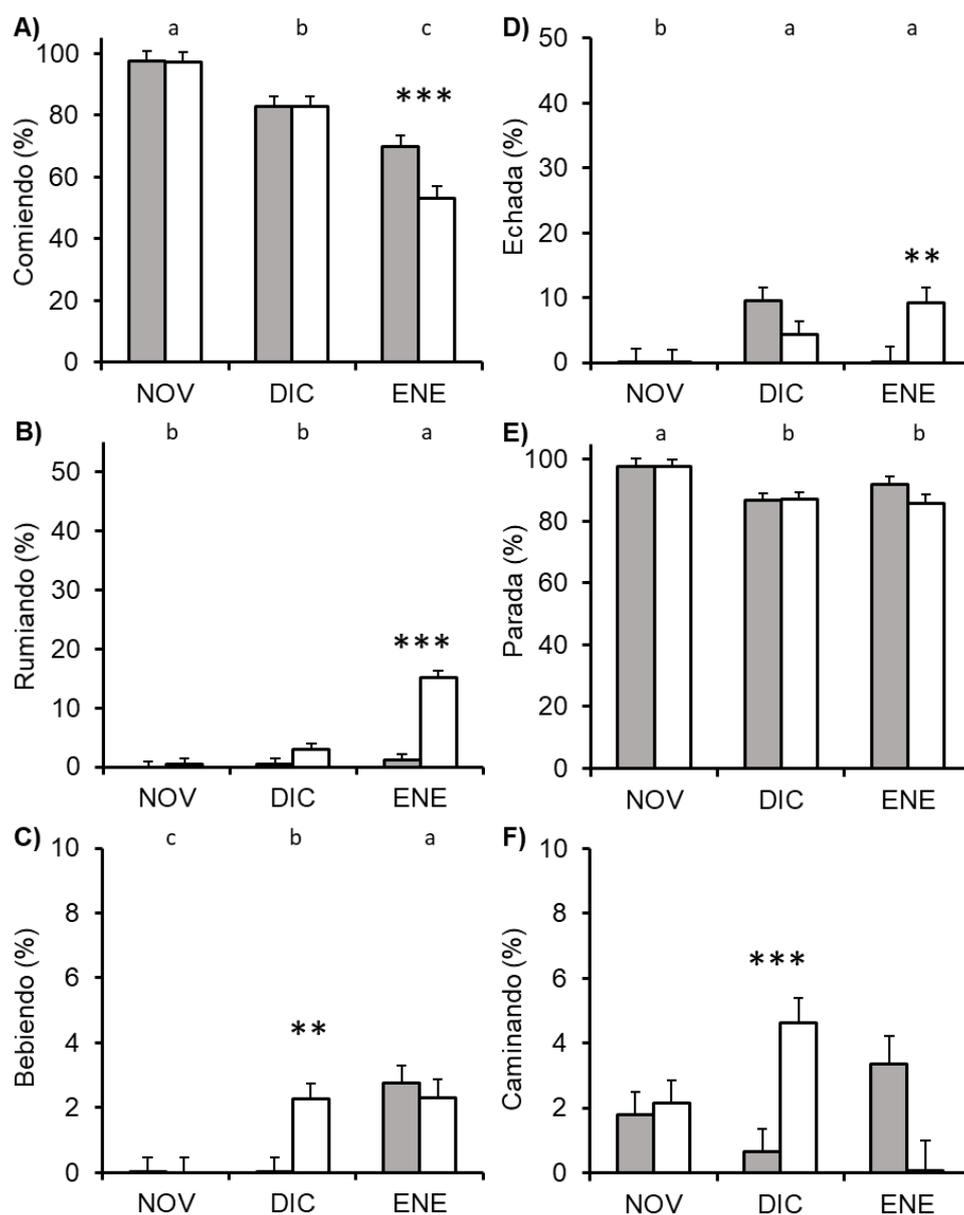


Figura 9: Frecuencia (media del % de observaciones \pm EEM) de los comportamientos de comiendo (A), rumiando (B), bebiendo (C), echadas (D), paradas (E) y caminando (F) en el pastoreo de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) con confinamiento parcial en *compost barn* (barras grises, n=15) o a cielo abierto (barras blancas, n=15) en los meses de noviembre (NOV), diciembre (DIC) y enero (ENE). Letras diferentes indican diferencias significativas entre meses ($p < 0,05$), donde $a > b > c$. Los asteriscos indican diferencias significativas entre sistemas dentro del mismo mes (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

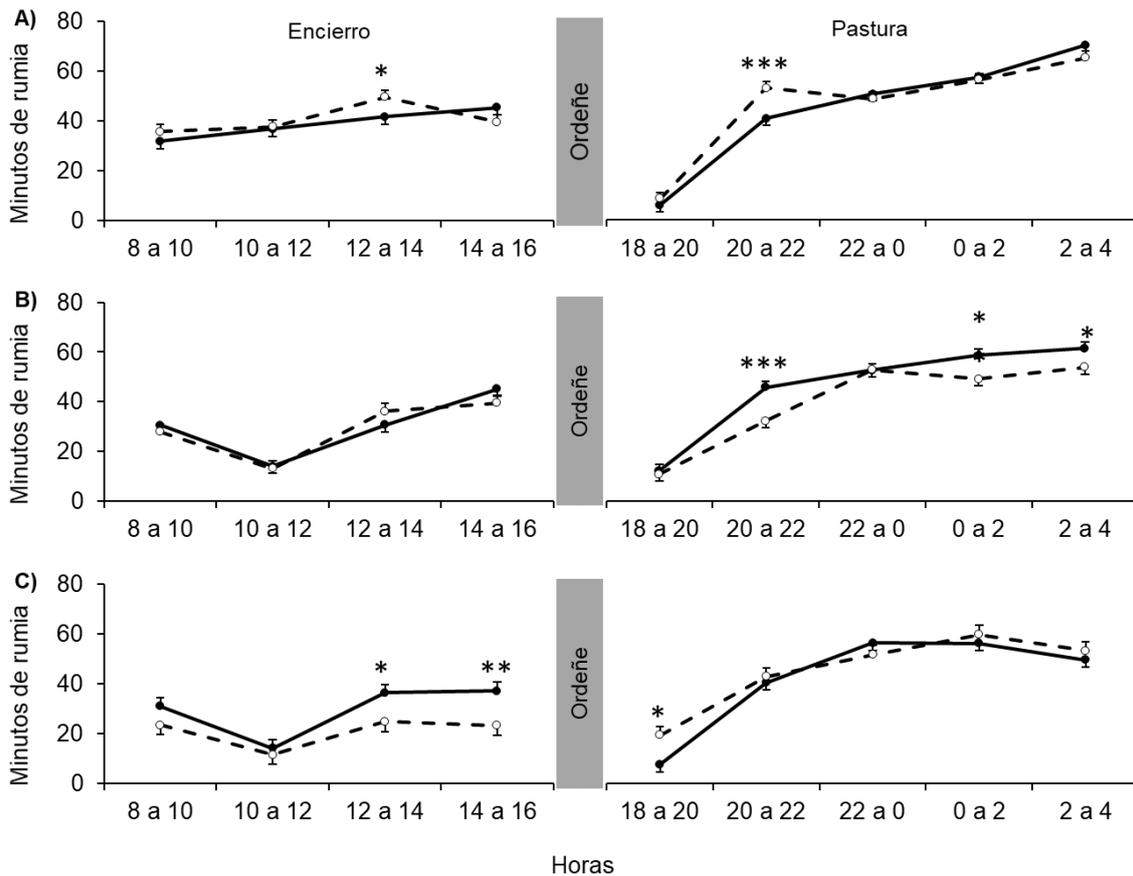


Figura 10: Minutos de rumia de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) con confinamiento parcial en *compost barn* (línea continua, n=15) o a cielo abierto (línea discontinua, n=15) en los meses de noviembre (A), diciembre (B) y enero (C). Los asteriscos indican diferencias significativas entre sistemas dentro del mismo mes y período del día (*p<0,05; ** p<0,01; ***p<0,001).

Durante el confinamiento las vacas CA estuvieron de pie con mayor frecuencia que las vacas CB (Tabla 8 y Figura 8E). Por la mañana, hubo una mayor frecuencia de estar de pie en las vacas CA en comparación con las vacas CB (CA: $97,4 \pm 3,0\%$, CB: $81,0 \pm 3,0\%$, Tabla 8). Por la mañana, las vacas estaban de pie con mayor frecuencia que por la tarde (Tabla 8 y Figura 8E). No hubo efecto de mes, interacciones tratamiento x mes y tratamiento x mes x periodo (Tabla 8).

En la pastura, no hubo efecto de tratamiento e interacción tratamiento x mes sobre la frecuencia en que las vacas estaban de pie (Tabla 9). La frecuencia promedio de estar de pie en ambos tratamientos disminuyó de noviembre a diciembre (NOV: $97,8 \pm 1,9\%$ vs. DIC: $86,9 \pm 1,9\%$; $p<0,0001$), sin diferencia entre diciembre y enero ($88,9 \pm 1,9\%$, Tabla 9 y Figura 9E).

En diciembre, las vacas CA caminaron más durante el confinamiento que las vacas CB (CA: $0,62 \pm 0,18\%$, CB: $0,13 \pm 0,18\%$, Tabla 8). En el comportamiento de caminar durante el encierro no se encontró efecto de tratamiento, mes, periodo y las interacciones tratamiento x mes x periodo, tratamiento x periodo

(Tabla 8).

Durante el pastoreo no hubo efecto del tratamiento y mes sobre la frecuencia en que las vacas caminaban (Tabla 9). Hubo interacción tratamiento mes, que se evidenció en diciembre donde las vacas CA tuvieron una mayor frecuencia de este comportamiento que las vacas CB (Tabla 9 y Figura 9E).

El uso de sombra aumentó a medida que aumentaron las temperaturas ambientales ($p < 0,0001$): de noviembre ($11,0 \pm 1,7\%$) a diciembre ($63,4 \pm 1,9\%$) ($p < 0,0001$) y de diciembre a enero ($70,4 \pm 2,6\%$; $p=0,03$). Las vacas estuvieron a la sombra con mayor frecuencia por la tarde que por la mañana ($67,0 \pm 1,7\%$ vs. $29,5 \pm 1,7\%$, respectivamente; $p < 0,0001$). Hubo interacción entre mes y período en la frecuencia en la que las vacas estuvieron en la sombra ($p < 0,0001$): en noviembre la frecuencia en la que estuvieron en la sombra fue menor que en diciembre ($17,0 \pm 2,4\%$ vs $91,4 \pm 2,8\%$, respectivamente, $p < 0,0001$) y no se encontraron diferencias entre diciembre y enero ($92,8 \pm 3,7\%$).

En el número de interacciones agonistas durante el confinamiento no fue afectado por el tratamiento, el mes, ni la interacción entre ellos. En la Figura 11 se muestran las IA de cada tratamiento a lo largo de los meses.

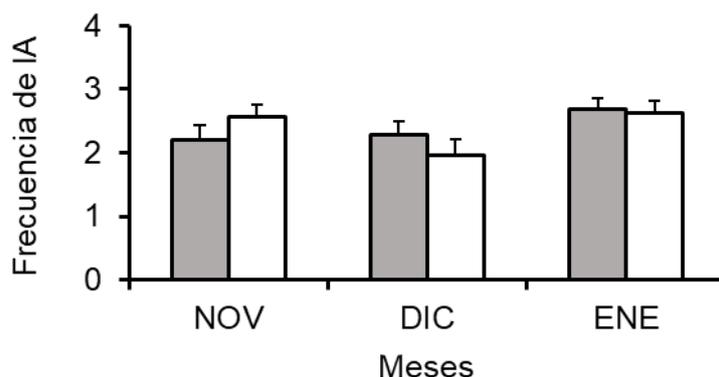


Figura 11: Número de interacciones agonistas (IA) de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) durante el confinamiento en *compost barn* (barras grises, $n=15$) o a cielo abierto (barras blancas, $n=15$) en los meses noviembre (NOV), diciembre (DIC) y enero (ENE).

6.2.2. Temperatura subcutánea

Las vacas CA presentaron valores de temperatura subcutánea más altos en comparación con las vacas CB (CB: $37,6 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$; CA: $38,3 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$; $P < 0,0001$, Figura 12). Se encontró una tendencia en la interacción tratamiento x mes ($P=0,07$), mientras que no se encontró efecto del período sobre la temperatura subcutánea. Las vacas CA tuvieron mayor temperatura subcutánea en los períodos C-AM (CA: $38,3 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$, CB: $37,5 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$) y C-PM (CA: $38,3 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$, CB: $37,4 \pm 0,11^{\circ}\text{C}$) que las vacas CB ($p < 0,0001$, Figura 12). Por la mañana, las vacas CB tuvieron una temperatura más alta en diciembre que en

enero ($37,9 \pm 0,13^{\circ}\text{C}$ vs $36,9 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$, respectivamente; $P=0,007$), mientras que en la tarde no se encontraron diferencias entre meses para este tratamiento. Se registraron temperaturas subcutáneas más altas en diciembre en comparación con enero ($38,1 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$ vs. $37,8 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$ respectivamente, Figura 12).

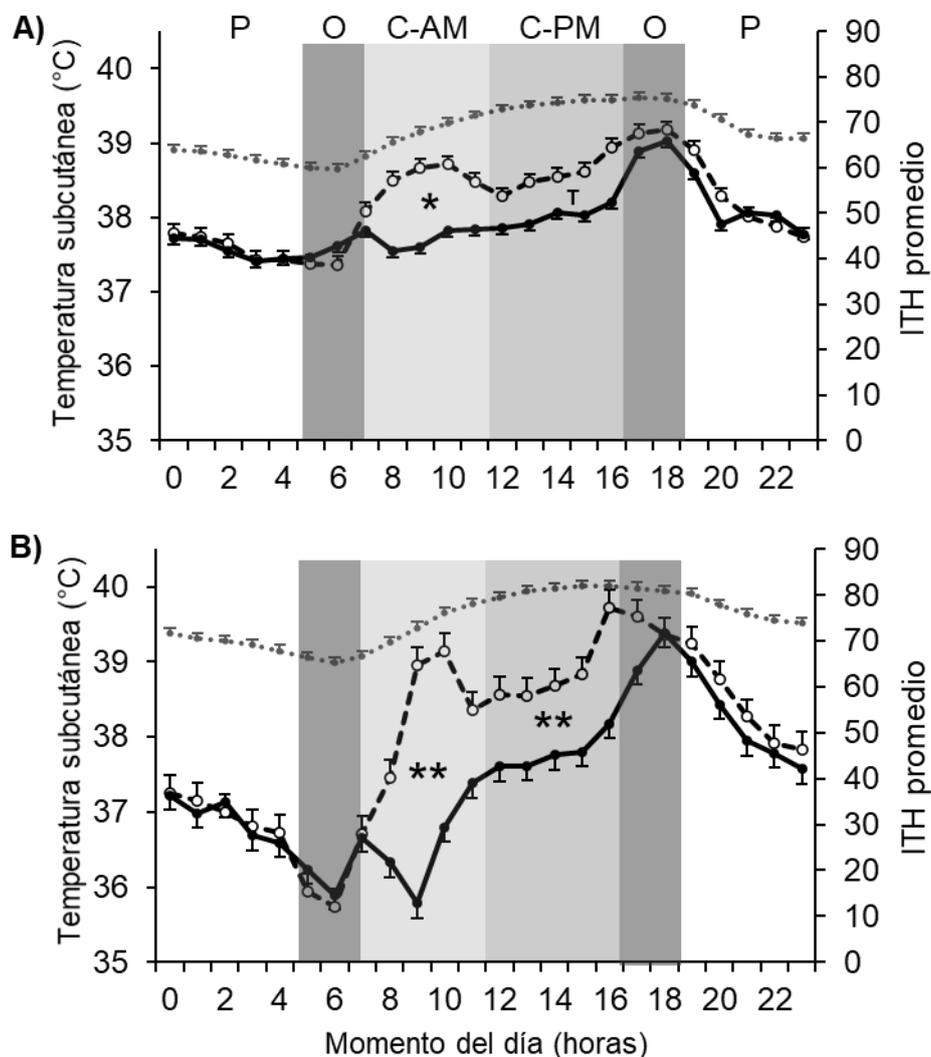


Figura 12: Temperatura subcutánea promedio por hora del día ($^{\circ}\text{C}$) de vacas lecheras Holstein durante pastoreo (P: 17:31-04:30h), ordeño (O, sombra gris oscuro) y confinamiento (sombra gris, C -AM: 7:01-12:00h, C-PM: 12:01-16:30h) en sistema mixto con confinamiento parcial en *compost barn* ($n=7$, línea continua) o a cielo abierto ($n=7$, línea discontinua negra) durante los días de comportamiento en los meses de diciembre (A) y enero (B). La línea discontinua gris indica ITH promedio por hora. Los asteriscos indican diferencias significativas de temperatura entre sistemas para los períodos C-AM y C-PM ($*p<0,05$; $**p<0,01$), T indica tendencia.

6.2.3. Escore de locomoción y escore de lesión en piel de tarso

No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, meses ni en su interacción en ambas épocas de parto en el escore de locomoción y lesión en

piel de tarso. En la Figura 13 se muestra la proporción de escores por tratamiento y por mes de manera descriptiva.

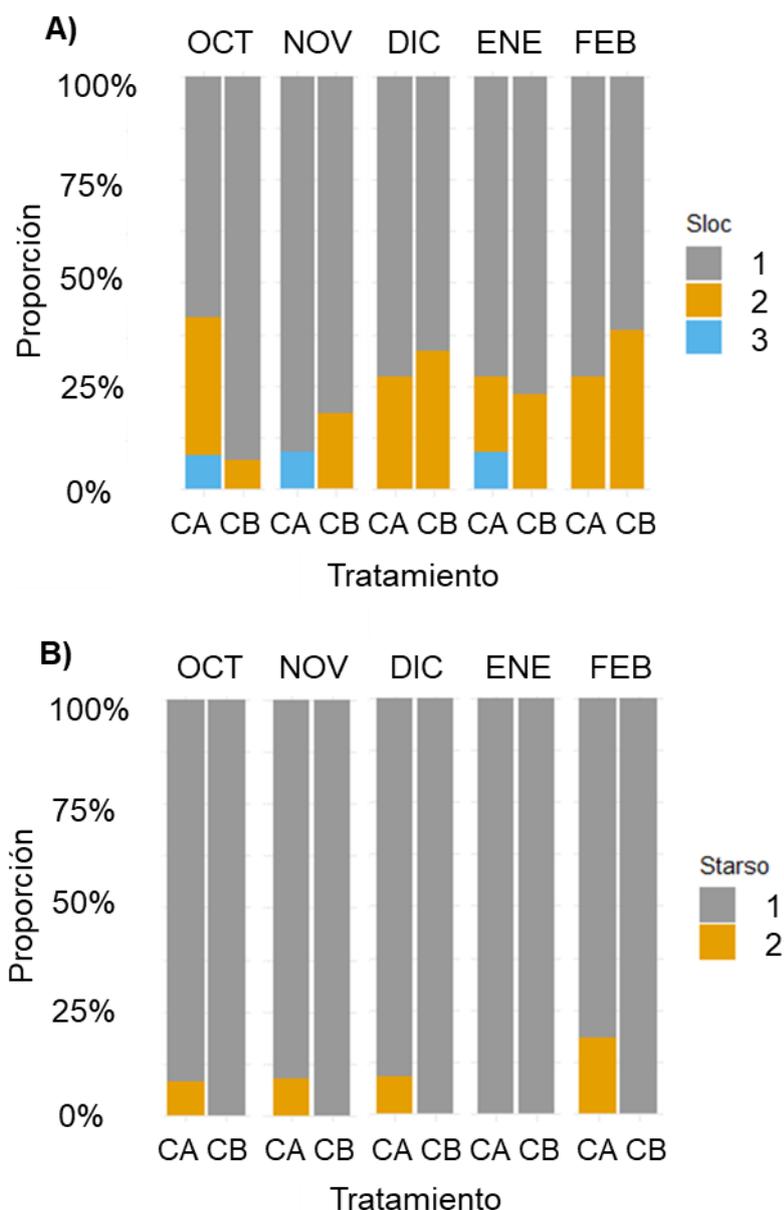


Figura 13: Proporción de los diferentes escores de locomoción (A, Sprecher et al., 1997) y escore de lesión en la piel del tarso (B, Nocek, 2009) en vacas lecheras Holstein (partos de invierno) con confinamiento parcial en *compost barn* (CB) o a cielo abierto (CA) en los meses de octubre (OCT), noviembre (NOV), diciembre (DIC), enero (ENE) y febrero (FEB).

6.2.4. Cortisol en pelo

No se encontraron diferencias entre tratamientos para el cortisol en pelo, tampoco se encontró efecto de la interacción tratamiento x tiempo. La media de cortisol en pelo en el tratamiento CB fue $3,7 \pm 0,2$ pg/mg y en el tratamiento CA

3,5 ± 0,2 pg/mg. Durante el parto los niveles de cortisol en pelo promedio de ambos tratamientos fueron menores que a los 90 y 180 días posparto (-21 DRP: 2,68 ± 0,25 pg/mg, vs. 90 DRP: 4,34 ± 0,24 pg/mg y 180 DRP: 3,87 ± 0,25pg/mg, P<0,004).

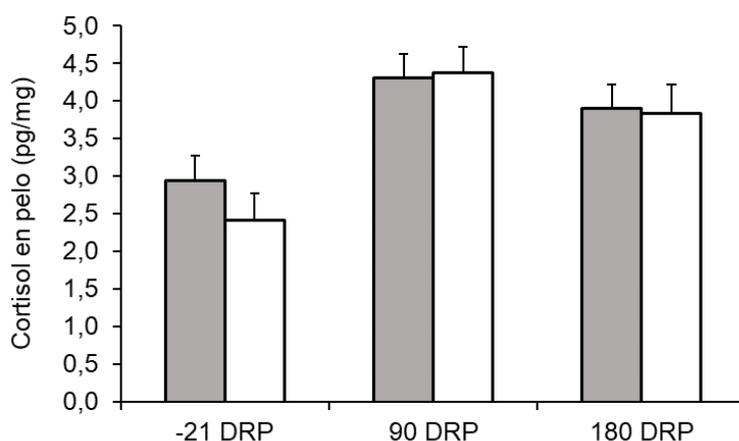


Figura 14: Cortisol en pelo de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) con confinamiento parcial en *compost barn* (barras grises, n=15) o a cielo abierto (barras blancas, n=15) desde el parto (-21 DRP) hasta los 180 DRP.

6.2.5. Proteínas sanguíneas

En la concentración de proteínas totales, albúmina, y globulina no se encontraron diferencias entre tratamientos, así como tampoco en la interacción tratamiento x mes. La concentración de proteínas totales en suero fue mayor en enero que en diciembre (ENE: 78,6 ± 0,7 g/L, DEC: 75,8 ± 0,7 g/L), pero no se encontraron diferencias entre noviembre y enero y entre noviembre y diciembre. La creatin kinasa tendió a ser más alta (aproximadamente un 360 % más) en las vacas CA que en las vacas CB (Tabla 10 y Figura 15).

Tabla 10: Concentración sérica de proteínas sanguíneas (proteínas totales, albumina, globulina y creatin kinasa) de vacas lecheras Holstein (partos de invierno) en un sistema mixto con confinamiento parcial en *compost barn* (CB, n=15) o a cielo abierto (CA, n=15) en noviembre, diciembre de 2019 y enero de 2020

Concentración sérica	Tratamiento			Valor p		
	CB	CA	EEM	T	M	TxM
Proteínas totales (g/L)	76,2	78,0	1,13	NS	0,0007	NS
Albumina (g/L)	34,9	34,3	1,53	NS	0,08	NS
Globulina (g/L)	41,3	43,7	2,46	NS	0,06	NS
Creatin kinasa (U/L)	97,9	354,1	58,61	0,07	NS	NS

T: tratamiento. M: mes. TxM: interacción entre tratamiento y mes.

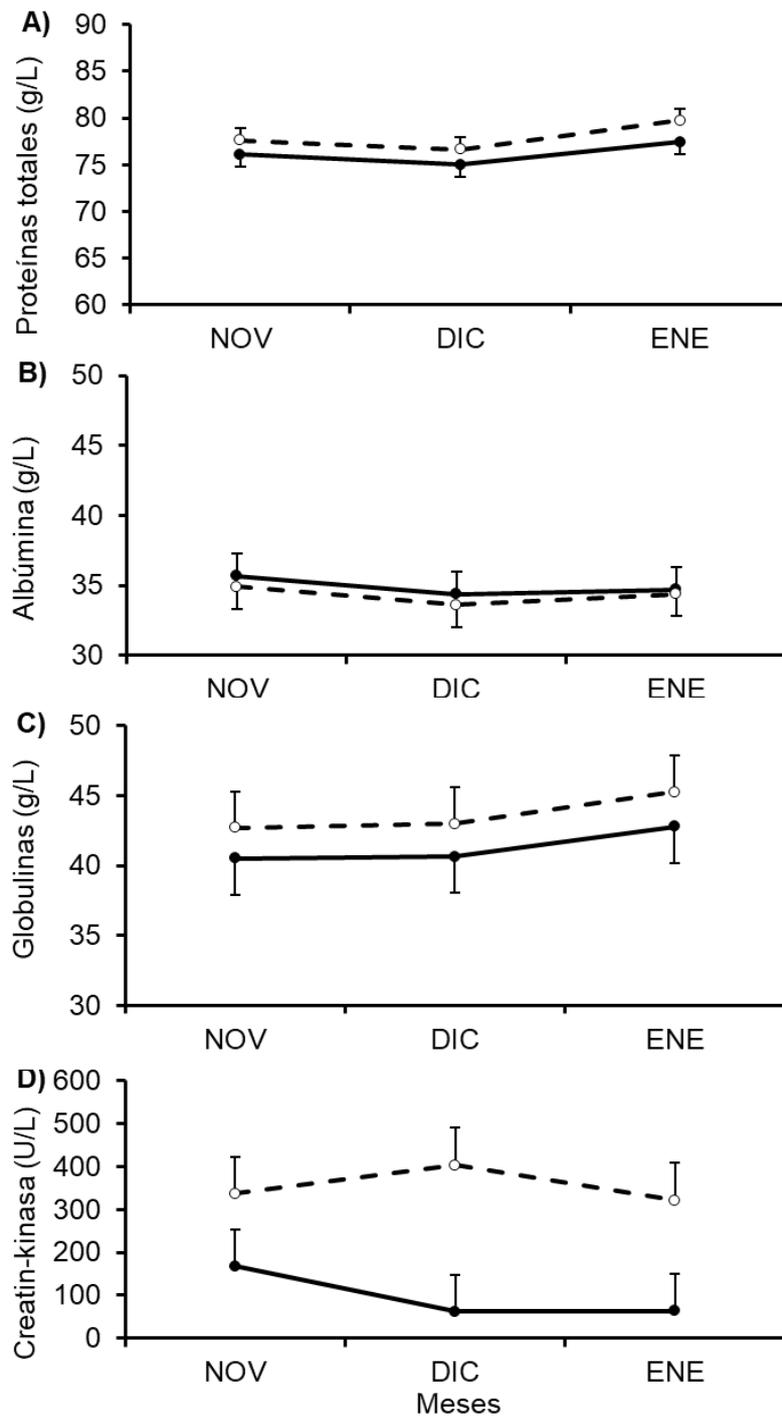


Figura 15: Concentración de proteínas totales (A), albuminas (B), globulinas (C) y creatin kinasa (D) en vacas lecheras Holstein (partos de invierno) con confinamiento parcial en *compost barn* (línea continua, n=15) o a cielo abierto (línea discontinua, n=15) en los meses de noviembre (NOV), diciembre (DIC) y enero (ENE).

7. DISCUSIÓN

Este estudio demuestra que diferentes condiciones de confinamiento (*compost barn* o a cielo abierto) afectan de manera diferente las variables utilizadas como indicadores de bienestar animal de vacas en sistemas mixtos (pastoreo más DTM) en dos épocas de parto diferentes. Las principales diferencias encontradas fueron en los indicadores comportamentales, fisiológicos (en verano) y bioquímicos. El manejo diferencial durante el encierro no modificó los indicadores de salud evaluados (escore de locomoción y de lesión en piel de tarso) ni el cortisol en pelo. Con respecto al comportamiento, los principales hallazgos fueron que durante el confinamiento las vacas en CB estuvieron más echadas y menos paradas en ambas estaciones de parto (otoño e invierno) que las vacas mantenidas a CA. En este sentido, estos comportamientos podrían indicar que las vacas CB se encontraban en un mejor estado de bienestar que las de CA independientemente de la época de parto (Fregonesi & Leaver, 2001). Las concentraciones de proteínas totales y globulinas de las vacas paridas en otoño fueron menores en el tratamiento CA que en CB, incluso los valores de PT en las vacas CA se encuentran por debajo del rango de referencia propuesto por Premi et al. (2021). Estas menores concentraciones de proteínas en CA con respecto a CB podría evidenciar una alteración en el metabolismo de las proteínas por un mayor nivel de estrés en las vacas de CA (Buckham et al., 2008). Con respecto a la temperatura subcutánea, se encontró que las vacas mantenidas en CA estuvieron expuestas a mayores temperaturas ambientales durante el confinamiento que las mantenidas en CB. Asociado a esto, se encontró que las vacas de CB estaban de pie con menos frecuencia y estaban echadas y rumiaban (PM) con más frecuencia que las vacas CA. Esto podría deberse a una diferente estrategia de las vacas mantenidas en CA para disminuir la temperatura corporal, como lo reportan Tao et al. (2020). En su conjunto, se evidenció que el *compost barn* brinda mejores condiciones de bienestar que el de cielo abierto para vacas lecheras manejadas en sistemas mixtos.

7.1. Partos de otoño

En esta época de parto se demostró que las diferentes condiciones de confinamiento (CB vs. CA) afectaron el bienestar de las vacas en sistemas mixtos (pastoreo más DTM), esto se evidenció por los indicadores comportamentales (frecuencia de echadas) y bioquímicos (concentraciones séricas de proteínas totales y globulinas). Según estos indicadores, el estado de bienestar de las vacas CB fue mejor que el de las vacas CA. En la bibliografía se reporta que el descanso es muy importante para el BA en las vacas lecheras. Las vacas demuestran preferencia por echarse en superficies suaves y secas, por ejemplo, como la superficie de descanso que brindan las camas de compost y las pasturas (Charlton & Rutter, 2017; Fernández et al., 2020; Tucker et al., 2021). Por el contrario, cuando el lugar de descanso está húmedo y con barro (CA) podría afectar las condiciones de descanso, porque la incómoda superficie

de descanso podría evitar que las vacas CA expresen este comportamiento similar al de las vacas CB. En julio, cuando se encontró una gran cantidad de barro en los corrales de CA, las vacas de este tratamiento disminuyeron su comportamiento de estar echadas durante el confinamiento en comparación con las de CB. Este resultado está de acuerdo con Chen et al. (2017), quienes observaron que el descanso se redujo en un 75% cuando el suelo estaba muy embarrado. Por otro lado, la cama de compost proporcionó una superficie de descanso más cómoda para las vacas CB, lo que también podría influir en el hecho de que las vacas CB estaban echadas con mayor frecuencia en comparación con las de CA (Leso et al., 2020). Sin embargo, en el pastoreo las vacas de CA estuvieron más echadas, quizás para compensar este comportamiento que no pudieron expresar en el encierro a cielo abierto, o prefirieron la superficie más suave para echarse como lo es la pastura. Además, al estar más echadas en la pastura, las vacas de CA estuvieron pastoreando menos que las vacas de CB. Esta estrategia compensatoria en relación al comportamiento ha sido reportada por diferentes autores. Fisher et al. (2003) reportan resultados similares a los encontrados en este experimento, donde la superficie incómoda del confinamiento disminuyó el comportamiento de estar echadas, compensando con estar echadas en la pastura. Tolkamp et al. (2010) reportaron además que a medida que se restringe el comportamiento de echarse aumenta la probabilidad de echarse cuando se brinden condiciones más cómodas. Por lo tanto, las diferentes condiciones en la estabulación llevaron a que las vacas de CA desarrollen una estrategia diferente de comportamiento que las de CB. Estas diferencias se evidenciaron tanto en el encierro como en las pasturas.

La frecuencia de rumia en confinamiento de las vacas CB fue menor en comparación con las vacas CA. Esta diferencia se da principalmente en agosto, en donde también se encontró una mayor frecuencia de alimentación en las vacas CB en comparación con las vacas CA. Según estos resultados, el hecho de que las vacas CB comieran durante mayor proporción de tiempo, podría estar asociado a que estos animales rumiaran menos (Beauchemin, 2018). Las vacas CA podrían tener diferentes estrategias en su comportamiento durante el confinamiento que las de CB, y estas diferencias también podrían estar asociadas con las diferencias encontradas en el comportamiento de pastoreo. El comportamiento de comer y rumiar está influenciado principalmente por el manejo de la alimentación, por el consumo de alimento, por las características físico-químicas de la dieta y el estado de salud de los animales (Beauchemin, 2018). En este experimento, las diferencias en consumo no se pueden comprobar debido que no se realizó la estimación objetiva del mismo. Las características de la dieta mostrada en la Tabla 1 y 2 no evidencian claras diferencias en el alimento ofrecido a las vacas de ambos tratamientos. Además, tampoco se evidencian problemas graves de salud que limiten los comportamientos de comer y rumiar. Existe una relación compensatoria entre el

comportamiento de comer y rumiar, donde las vacas que pasan más tiempo comiendo dedican menos tiempo a rumiar (Beauchemin, 2018). Debido a esto, se sugiere que las vacas de CA en la pastura al estar más echadas y menos comiendo que las vacas de CB necesitaron consumir más rápidamente la misma. Al tener menor tiempo disponible para pastorear, tuvieron menor oportunidad de seleccionar la pastura, generando diferencias de composición en la pastura que consumían con la consecuente diferencia en el comportamiento de rumia entre las vacas de CA y CB. En tal sentido, se ha reportado que las vacas lecheras pueden tener menor consumo cuando se restringe el tiempo de pastoreo (Mattiauda et al., 2013). Además, a pesar que las vacas no son los rumiantes más selectivos, igualmente pueden seleccionar las pasturas que consumen cuando se les brinda la posibilidad, y esto también se ha relacionado con mejores condiciones de bienestar (Gregorini et al., 2015). Sumado a lo anterior, en las vacas de CA se encontraron menores concentraciones sanguíneas de proteínas totales y globulinas, lo cual puede estar relacionado con el menor consumo de las vacas de este tratamiento, que, aunque no se pudo comprobar directamente, la menor frecuencia de comiendo reportada anteriormente y la menor producción de leche en este tratamiento reportada por Rodríguez (2021) parecen indicarlo.

La mayor frecuencia de beber y la menor frecuencia de caminar en las vacas CB, podría deberse a la distancia para acceder al agua en sus respectivos corrales. Las vacas CA tuvieron que caminar más para acceder al agua, y probablemente debido a esto, bebieron con menos frecuencia que las vacas CB. También se debe tener en cuenta el mayor espacio disponible en los corrales CA en comparación con los corrales CB. Dado que se ha reportado que cuando los animales tienen más espacio en los corrales caminan más (Telezhenko et al., 2012). En este sentido, parece que las diferentes condiciones ambientales durante el confinamiento en sistemas mixtos determinan la forma en que las vacas se comportan y se adaptan a las condiciones de estos sistemas de manejo.

La expresión de mayor comportamiento agonista encontrado en las vacas de CB en comparación con las CA, es un aspecto que puede considerarse negativo para este sistema, y que deberá tenerse en cuenta para el futuro del manejo de animales en estas condiciones. Posiblemente, el hecho de que las vacas CB presentan más IA esté asociado al menor espacio por animal, principalmente en los comederos, ya que todas las IA registradas fueron en los comederos. Esta mayor competencia por el alimento puede perjudicar los comportamientos de alimentación y de descanso de las vacas, ya que pueden pasar más tiempo en el frente del comedero compitiendo por el alimento (Crossley et al., 2017). En *free stall*, De Vries et al. (2004) encontraron que las vacas que tenían acceso a 0,5m/vaca de frente de comedero tuvieron mayor cantidad de interacciones agonistas y menor actividad de alimentación que las que tenían 1m/vaca. Por lo tanto, en nuestro tratamiento CB (0,75m/vaca) si aumentáramos la asignación de espacio en el comedero esperaríamos que disminuyeran las interacciones

agonistas, y aumentara la actividad de alimentación.

En relación al indicador del score de locomoción, si bien no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, a modo descriptivo se puede observar que solo en el tratamiento CA se registraron casos de claudicación grado 4. Esto puede estar relacionado con las condiciones más abrasivas del piso en los encierros de las vacas en CA. Además, también puede estar relacionado a que las vacas se encontraban paradas y caminando en mayor frecuencia que las vacas de CB durante el confinamiento. En la revisión de Sadiq et al. (2017) mencionan que pisos abrasivos como los de concreto generan mayor riesgo a que las vacas presenten claudicación que los pisos de goma o con paja. En el relevamiento realizado por Costa et al. (2018) en Brasil donde evaluaron el score de locomoción encontraron que en los sistemas que mantenían las vacas estabuladas en *compost barn* había una menor proporción de vacas cojas y con lesiones en la piel del tarso que en los sistemas donde mantenían a las vacas estabuladas en *free stall*. En nuestro experimento tampoco se encontraron diferencias significativas en el score de lesión en piel de tarso. Sin embargo, en noviembre, las vacas de CA estuvieron en una mayor proporción de score 2 (tres veces mayor), con pérdida de pelo en la zona. Además, las vacas de CA en noviembre superaron el 5% de las vacas con score 2, lo cual fue mencionado como "límite" en la escala de Nocek (2009). Esto podría estar relacionado con que en noviembre se registraron abundantes precipitaciones en los 15 días previos, con presencia de barro en los corrales como se muestra en la figura 3.

Los niveles de cortisol en pelo se encontraron dentro de los niveles reportados (Comin et al., 2013; Tallo-Parra et al., 2014). Aunque en esta época de partos y lactancia las vacas de CA presentaron claras diferencias de comportamiento y de indicadores bioquímicos en sangre, las diferencias entre los sistemas no se hicieron evidente en las concentraciones de cortisol en pelo. Probablemente, las condiciones de CA no fueron tan extremas como las que se pueden encontrar en algunos sistemas comerciales de nuestro país y esto contribuyó a que las buenas condiciones de CA hayan ayudado a evitar diferencias en este indicador. Si bien no se encontraron diferencias entre tratamientos, la concentración de cortisol en pelo aumentó desde el parto a los 90 DRP, evidenciando que en el período posparto las vacas de ambos tratamientos probablemente presentaron mayor estrés. Esto ha sido reportado por la bibliografía, donde el período de transición resulta ser el de mayor estrés para la vaca lechera, debido a cambios fisiológicos, desde el propio parto, hasta la adaptación metabólica a la lactación, así como cambios en la alimentación y formación de nuevos grupos de vacas (Braun et al., 2017).

Al evaluar todos los comportamientos durante la lactancia otoño-invierno, los comportamientos indicadores de bienestar (echada, parada, camina, rumia, interacciones agonistas) se vieron afectados por las condiciones del confinamiento. Las vacas CB descansaron más que las vacas CA durante el confinamiento, posiblemente debido a una superficie de descanso más cómoda

durante todo el período. Por tanto, en relación a estos comportamientos en su conjunto, sumado a los indicadores bioquímicos (proteínas totales y globulinas), mantener a las vacas en mejores condiciones durante el encierro contribuye a un mejor estado de bienestar de las vacas paridas en otoño.

7.2. Partos de invierno

En base a los resultados de diferentes indicadores, el estado de bienestar de las vacas CB fue mejor que el de las vacas CA.

Actualmente, el aumento de la temperatura durante el verano es un estresor importante en los sistemas de producción (Tao et al., 2020), afectando su comportamiento, fisiología, bioquímica y producción y generando importantes pérdidas económicas (Tucker et al., 2021). Considerando que se estima un aumento de la temperatura ambiental en las próximas décadas (Gunn et al., 2019), evaluar mejores condiciones en los sistemas de producción que puedan ayudar a controlar y mejorar el BA es un desafío constante. Si bien la construcción de estructuras techadas con aspersion y ventilación (como se muestra en este trabajo en el tratamiento CB) representa un gran costo económico para los productores, este trabajo destaca la importancia para el bienestar de los animales durante el verano en nuestras condiciones productivas.

De acuerdo al comportamiento, se puede interpretar que las vacas CB se encontraban en mejor estado de bienestar que las de CA. Esto se sustenta porque las vacas en CB estuvieron más echadas durante el encierro, que las vacas en CA. En pastoreo, las vacas de CA estaban más echadas (ENE) y rumiando que las vacas de CB, y estas últimas dedicaban más tiempo a pastorear. Aquí se pudo observar diferentes estrategias en cada uno de los tratamientos. En CB se observó un comportamiento de descanso adecuado, ya que consumieron el suplemento y luego se echaron cuando se encontraban en el *compost barn*, y al acceder a la pastura pasaron la mayor parte del tiempo pastoreando. Las vacas accedían al pastoreo en la tardecita, por lo que era esperable que cuando accedieran al pastoreo, en las primeras dos horas de evaluación tuvieran su primera sesión de pastoreo (Chilibroste et al., 2015). En CA se observó una compensación en el comportamiento de echadas durante el pastoreo en el mes de enero, como menciona Tucker et al. (2021). Esto se da cuando los animales se ven obligados a estar parados por varias horas, compensando el tiempo que no pudieron estar echados cuando se les brinda las condiciones de confort (baja de la temperatura en la tardecita), sacrificando otros comportamientos importantes, por ejemplo, pastorear. Sumado a esto, las vacas en CA tendieron a presentar niveles más altos de creatin kinasa que aquellas en CB, lo que puede estar asociado con el comportamiento de echarse sobre una superficie incómoda. La superficie de apoyo dura podría estar asociada con el valor más alto de creatin kinasa (indicador de daño muscular, Pavlata et al.,

2001). Por otro lado, si bien en el escore de locomoción no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, las vacas manifestaron escore del 1 al 3, por lo que no hubo vacas con claudicaciones graves. Además, las únicas vacas que en algunos meses presentaron claudicación grado 3 fueron las del tratamiento CA. Con respecto a los indicadores comportamentales (destacando el comportamiento de echadas como indicador de bienestar), las claudicaciones y la concentración sanguínea de creatin kinasa podemos decir que las vacas de CA tuvieron peores condiciones de bienestar animal que las de CB.

En este estudio, se demostró que las vacas mantenidas en diferentes condiciones durante el confinamiento (CB o CA) presentaron diferencias en la temperatura corporal. La temperatura subcutánea para evaluar el efecto del estrés por calor se ha utilizado en novillos (Lee et al., 2016) y recientemente en vacas lecheras (Chung et al., 2020). Esta herramienta permitió mostrar cambios térmicos bajo las condiciones de manejo descritas en este trabajo en respuesta al estrés por calor. La temperatura subcutánea más baja durante los meses de verano en las vacas CB durante el confinamiento puede indicar que estas vacas estuvieron en mejores condiciones durante el verano que las CA. En las vacas CA, la temperatura subcutánea durante el confinamiento reflejó o acompañó los cambios en el ITH diario e incluso los cambios en la temperatura corporal fueron más bruscos durante el día que en las vacas CB. Estas diferencias se hicieron evidentes en ciertos momentos de ITH crítico durante las horas de confinamiento, tanto en diciembre como en enero (Figura 12). Sin embargo, no ocurrió lo mismo en las vacas CB, ya que tenían acceso a ventilación y aspersion, lo que posiblemente impidió grandes y bruscos aumentos de la temperatura corporal durante las horas del día. Los resultados son consistentes con lo que se ha informado de que la temperatura corporal y de la piel disminuye cuando las vacas lecheras son rociadas con agua y ventiladas al mismo tiempo (Chen et al., 2016; Van Os, 2019). Por otro lado, durante la mañana (09:00 h) de diciembre se observó una diferencia máxima en las medias de temperatura de 1,1 °C entre ambos tratamientos, mientras que en enero la diferencia máxima fue de 3,2 °C, con mayor temperatura en las vacas de CA que las CB. Por lo tanto, a diferencia de las vacas CB (que tuvieron aspersion y ventilación), las vacas CA estuvieron expuestas a mayor estrés por calor durante los meses de diciembre y enero, repercutiendo negativamente sobre su bienestar (Van Os, 2019). Además, la mayor variación de temperatura a lo largo del día durante enero en las vacas del tratamiento CA podría generar un cambio en la estrategia de estos animales para adaptarse a estos sistemas, incluyendo un mayor gasto energético en tratar de regular la temperatura corporal, así como aumentar la tasa de respiración y estar en pie (Allen et al., 2015; Becker et al., 2020). En tal sentido, proporcionar solo sombra a las vacas CA podría no haber sido suficiente para proteger a las vacas del estrés por calor, como se evidenció en este estudio. En relación a esto, cuando el ITH está por encima del umbral crítico (72), las vacas optan por mojarse a la sombra para aumentar la pérdida de calor (Van Os,

2019), pero a diferencia de las vacas CB, las vacas CA no tuvieron acceso a aspersión y ventilación, que en conjunto podrían haber determinado las diferencias en la temperatura corporal de las vacas entre ambos tratamientos. En definitiva, en este trabajo se demostró que los animales mantenidos en diferentes condiciones durante el confinamiento en verano presentan diferencias en la temperatura subcutánea, afectando su fisiología y comportamiento para tratar de adaptarse al sistema. Por lo tanto, todos estos indicadores en su conjunto manifiestan que las vacas de CA se enfrentaron a peores condiciones, sufriendo estrés calórico y comprometiendo su bienestar.

El estrés por calor modifica la frecuencia de algunos comportamientos en las vacas, provocando que se pongan de pie con más frecuencia y que se echen y rumien menos (Becker et al., 2020). Resultados similares se obtuvieron en el presente estudio, ya que las vacas CA tuvieron mayor temperatura subcutánea durante los períodos con alto ITH. También tuvieron menor frecuencia de estar echadas y mayor frecuencia de estar de pie y menos minutos de rumia en comparación con las vacas CB durante el confinamiento. Karimi et al. (2015) reportaron que las vacas lecheras expuestas a estrés por calor disminuyeron la frecuencia del comportamiento de rumia y aumentaron el comportamiento de pie en comparación a cuando se les proporcionó ventilación y aspersión. En el mismo sentido, Bava et al. (2012) también reportaron que durante los períodos donde el ITH excedía 72, las vacas se echaban con menos frecuencia y se paraban con más frecuencia que cuando el ITH estaba por debajo de 72. En este experimento, durante enero, cuando el ITH promedio superó los 72, las vacas CA comieron con menos frecuencia que las vacas CB durante el encierro y el pastoreo. Se ha reportado ampliamente en la literatura que las vacas estresadas por el calor reducen su comportamiento alimentario, el consumo de alimento y, por lo tanto, la producción de leche en litros y sólidos (Román et al., 2019; Tao et al., 2020; West, 2003). Las vacas pueden disminuir su comportamiento de alimentación para evitar producir una gran cantidad de calor metabólico, que se suma al calor ambiental, lo que dificulta la pérdida de calor por convección debido al alto ITH, lo que resulta en tener que aumentar la frecuencia respiratoria (Becker et al., 2020; Van Os, 2019). Con una menor disponibilidad de energía debido a un menor consumo, junto con mayores costos de mantenimiento, las vacas lecheras con estrés calórico podrían comprometer su balance energético (Becker et al., 2020). El bienestar de las vacas CA se vio afectado negativamente en comparación con las vacas CB, como lo evidenciaron los indicadores comportamentales (menor frecuencia de echadas y minutos de rumia, mayor frecuencia de estar de pie en las vacas CA en comparación con las vacas CB), fisiológicos (temperatura corporal más alta en CA vacas en comparación con las vacas CB) y los metabolitos séricos (CA tendía a tener una creatin quinasa más alta que las vacas CB). Las diferencias en los indicadores mencionados entre ambos sistemas podrían indicar que las vacas CA sufrieron mayor estrés por calor en comparación con las vacas CB. Por lo tanto, en relación con estos

indicadores en su conjunto, mantener las vacas en un establo techado, con ventilación y aspersión durante el confinamiento en verano contribuye a un mejor estado de bienestar.

En el período del día en que las vacas CA estuvieron más expuestas a ITH alto (horas de confinamiento), mostraron comportamientos que indican estrés por calor. Por ejemplo, una menor frecuencia de echada y una mayor frecuencia de estar de pie durante la mañana en vacas CA que en vacas CB podría deberse a la mayor exposición al estrés por calor, como se evidencia por la temperatura subcutánea más alta. En relación a esto, se ha propuesto que las vacas sin acceso a ventilación y aspersión evitan echarse durante los períodos de ITH por encima del valor crítico (Pilatti et al., 2019). Por la tarde, el mayor uso de la sombra por parte de las vacas CA podría haber reducido el efecto de las altas temperaturas en el comportamiento según lo informado por Tucker et al. (2008). Sin embargo, la menor frecuencia de rumia en las vacas CA, principalmente en enero (minutos de rumia) podría indicar que su bienestar es peor que el de las vacas CB. En el mes de noviembre, donde en la semana de evaluación de comportamiento no hubo ITHs promedios superior a 72, se observaron diferentes estrategias en el comportamiento de rumia. En este mes, durante dos períodos del día (12 a 14 en encierro y 20 a 22 en pastura) las vacas del tratamiento CA rumiaron más minutos que las de CB, debido a que las vacas de CA no estaban sufriendo estrés calórico en ese momento. En diciembre, durante el pastoreo las vacas de CB rumiaron más minutos en dos períodos (20:00 a 22:00h y 0:00 a 4:00h), posiblemente a las diferencias de % de FDN en la pastura, donde la Festuca en la parcela del tratamiento CB tenía 51,4% y en la del tratamiento CA 44,5%. Beauchemin (2018) en su revisión menciona que el principal componente de la dieta que modifica la rumia es el contenido de FDN, donde a mayor contenido de FDN consumido los animales rumian más. Por lo tanto, el mayor % de FDN en la parcela del tratamiento CB puede explicar porque en diciembre estas vacas rumiaron más en algunos períodos del día.

Por la mañana, las vacas de ambos tratamientos comían y estaban más paradas con más frecuencia que por la tarde, principalmente por el manejo de la alimentación, ya que el suplemento fresco se les daba por la mañana. Este mismo resultado ha sido reportado por Pilatti et al. (2019), lo que puede deberse a que la mayor actividad de alimentación generalmente ocurre después de que se entrega el alimento (King et al., 2016). Esto sucede porque en los sistemas mixtos de Uruguay se busca maximizar el consumo de pastura, suplementando a las vacas después de la sesión de pastoreo y agregando un período de ayuno hasta el próximo pastoreo (Chilibroste et al., 2015). De esta manera los animales consumen rápidamente el suplemento que se les ofrece por la mañana, debido también a un período de ayuno, desde las 4:00h cuando salen a la pastura hasta las 8:00h cuando ingresan a los encierros a comer suplemento. En resumen, las diferentes condiciones en el confinamiento modificaron la frecuencia de algunos comportamientos, lo que se agudizó en el horario de la mañana cuando las vacas

CA estaban menos a la sombra, siendo este grupo más vulnerable a las condiciones ambientales del verano por la mayor exposición al estrés por calor.

Durante el pastoreo, las principales diferencias encontradas en comer, rumiar y echarse pueden indicar que las vacas CA aprovecharon las primeras horas de la noche para realizar las conductas que se vieron comprometidas en el encierro. Las vacas de CA utilizaron las primeras horas en la pastura para echarse y rumiar más que las vacas CB, que priorizaron este momento para pastorear. En este sentido, Tucker et al. (2021) reportan que cuando las vacas pasan mucho tiempo de pie por las condiciones de confinamiento, como las vacas CA en este experimento, aumentan su motivación para acostarse cuando ingresan al pastoreo. Esto podría determinar que las vacas CA tuvieran menor consumo de pastura o que consumieran la misma cantidad que las de CB, pero con menor selección debido a un aumento de la tasa de consumo. Estas diferentes estrategias de comportamiento determinaron que en los períodos de estrés por calor las vacas de CA produjeron menos leche que las de CB (Rodrigues, 2021) debido al estrés por calor, tal como lo reportaron Kappes et al. (2022) y Maia et al. (2020).

El estrés por calor, además de reducir el tiempo de rumia, también genera un cambio en el patrón de comportamiento de la rumia durante el día, aumentando el tiempo dedicado a la rumia cuando ITH disminuye en la noche (Maia et al., 2020). En este experimento este patrón ocurrió en enero (niveles más altos de ITH), donde las vacas CB rumiaron más tiempo que las vacas CA durante la tarde (12:00h a 16:00h, confinamiento), mientras que las vacas CA pasaron más tiempo rumiando en las primeras dos horas en la pastura (18:00 a 20:00 h, Figura10). A pesar de los resultados encontrados en el comportamiento de pastoreo, estos deben tomarse con cautela debido a que solo se evaluaron visualmente las dos primeras horas en pastoreo.

Teniendo en cuenta las diferencias en comportamiento y temperatura subcutánea entre los tratamientos CA y CB durante el verano se esperaba que las vacas en CA se iban a encontrar con estrés crónico detectable con el cortisol en pelo, sin embargo, no se encontraron diferencias entre tratamientos. La bibliografía reporta niveles elevados de cortisol en pelo ante situaciones de enfermedad que generan dolor crónico como lo son las claudicaciones severas, mastitis y metritis o ante situaciones de cambio brusco de la rutina (Comin et al., 2013). También está reportado que, en el posparto, sobre todo alrededor del mes del parto debido a las exigencias en este período, aumentan los niveles de cortisol en pelo respecto al período seco (Braun et al., 2017). Además, es esperable que las concentraciones de cortisol en pelo disminuyan a los 180 DRP como se encontró en las vacas paridas de otoño. Sin embargo, en esta estación de parto las concentraciones de cortisol en pelo se mantuvieron elevadas hasta los 180 DRP. Estos resultados podrían indicar que ambos tratamientos sufrieron el efecto del estrés calórico durante el verano. En las condiciones de este

experimento, los cambios de comportamiento y en la temperatura corporal no fueron tan extremos como para generar diferencias en las concentraciones de cortisol en pelo entre tratamientos. Se deben tener en cuenta que en el tratamiento CA las condiciones podrían haber sido mejores a los sistemas comerciales. También debe tenerse en cuenta que aquí se evaluó un verano solo, existiendo veranos con olas de calor más graves que las que se registraron en el verano 19-20. Por otra parte, es importante resaltar que los valores de cortisol, como mencionado en los partos de otoño, fueron similares a los reportados por Tallo-Parra et al. (2014) realizados también en pelo de color negro de vacas sanas. Por lo tanto, en este experimento las vacas de CA adaptaron su comportamiento para disminuir el estrés calórico en los meses de verano sin evidenciarse diferencias en el cortisol en pelo.

8. CONCLUSIÓN

Este estudio demuestra que las condiciones de confinamiento brindadas (*compost barn* o a cielo abierto) afectan de manera diferente las variables utilizadas como indicadores de bienestar animal de vacas en sistemas mixtos (pastoreo más DTM) en dos épocas de parto diferentes. Las principales diferencias encontradas entre las condiciones de encierro se observaron en indicadores comportamentales, fisiológicos y bioquímicos, siendo más evidentes en la época de partos de invierno, posiblemente debido al estrés. En este sentido, y en base a los diferentes indicadores utilizados, se evidencia que las vacas CB se encontraban en un mejor estado de bienestar que las de CA independientemente de la época de parto. Aunque se encontraron diferencias entre tratamientos en indicadores comportamentales, fisiológicos y bioquímicos, el indicador hormonal de cortisol en pelo no fue afectado por el tratamiento, resaltando el hecho de que los animales probablemente no estuvieron expuestos a un estrés crónico extremo. Teniendo en cuenta que el sistema CA de confinamiento es el más utilizado en nuestro país, debe considerarse que nuestros sistemas productivos pueden comprometer el bienestar animal de las vacas en situaciones puntuales durante el encierro, ya sea durante el invierno con gran acumulación de barro, o en el verano con mayor exposición al estrés calórico. La importancia de este trabajo es que evidencia de forma objetiva que el comportamiento de las vacas se modifica según las características del ambiente durante el encierro. Esto se puede tener en cuenta al momento de diseñar instalaciones, así como también el orden de las actividades a lo largo del día. En estudios futuros debería evaluarse económicamente las alternativas de encierro evaluadas en el presente estudio para complementar con los resultados obtenidos en este estudio.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Allen, J. D., Hall, L. W., Collier, R. J., & Smith, J. F. (2015). Effect of core body temperature, time of day, and climate conditions on behavioral patterns of lactating dairy cows experiencing mild to moderate heat stress. *Journal of Dairy Science*, *98*(1), 118–127. <https://doi.org/10.3168/JDS.2013-7704>
- Arnott, G., Ferris, C. P., & O'Connell, N. E. (2017). Review: welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal*, *11*(2), 261–273. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001336>
- Barberg, A. E., Endres, M. I., Salfer, J. A., & Reneau, J. K. (2007). Performance and welfare of dairy cows in an alternative housing system in Minnesota. *Journal of Dairy Science*, *90*(3), 1575–1583. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71643-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71643-0)
- Bargo, F., Muller, L. D., Delahoy, J. E., & Cassidy, T. W. (2002). Performance of high producing dairy cows with three different feeding systems combining pasture and total mixed rations. *Journal of Dairy Science*, *85*(11), 2948–2963. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74381-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74381-6)
- Bava, L., Tamburini, A., Penati, C., Riva, E., Mattachini, G., Provolo, G., & Sandrucci, A. (2012). Effects of feeding frequency and environmental conditions on dry matter intake, milk yield and behaviour of dairy cows milked in conventional or automatic milking systems. *Italian Journal of Animal Science*, *11*(3), 230–235. <https://doi.org/10.4081/ijas.2012.e42>
- Beauchemin, K. A. (2018). Invited review: Current perspectives on eating and rumination activity in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *101*(6), 4762–4784. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13706>
- Becker, C. A. A., Collier, R. J. J., & Stone, A. E. E. (2020). Invited review: Physiological and behavioral effects of heat stress in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *103*(8), 6751–6770. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17929>
- Bernabucci, U., Biffani, S., Buggiotti, L., Vitali, A., Lacetera, N., & Nardone, A. (2014). The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *97*(1), 471–486. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6611>
- Bewley, J. M., Robertson, L. M., & Eckelkamp, E. A. (2017). A 100-Year Review: Lactating dairy cattle housing management. *Journal of Dairy Science*, *100*(12), 10418–10431. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13251>
- Black, R. A., Taraba, J. L., Day, G. B., Damasceno, F. A., & Bewley, J. M. (2013). Compost bedded pack dairy barn management , performance , and producer satisfaction. *Journal of Dairy Science*, *96*(12), 8060–8074. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6778>
- Bran, J. A., Costa, J. H. C., von Keyserlingk, M. A. G., & Hötzel, M. J. (2019). Factors associated with lameness prevalence in lactating cows housed in freestall and compost-bedded pack dairy farms in southern Brazil.

- Preventive Veterinary Medicine*, 172.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.104773>
- Braun, U., Michel, N., Baumgartner, M. R., Hässig, M., & Binz, T. M. (2017). Cortisol concentration of regrown hair and hair from a previously unshorn area in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 114(January), 412–415. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.07.005>
- Broom, D. M. (1986). Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal*, 142(6), 524–526. [https://doi.org/10.1016/0007-1935\(86\)90109-0](https://doi.org/10.1016/0007-1935(86)90109-0)
- Buckham, K. R., Weber, P. S. D., Burton, J. L., Earley, B., & Crowe, M. A. (2008). Transportation of young beef bulls alters circulating physiological parameters that may be effective biomarkers of stress. *Journal of Animal Science*, 86(6), 1325–1334. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0762>
- Burnett, T. A., Madureira, A. M. L., Silper, B. F., Nadalin, A., Tahmasbi, A., Veira, D. M., & Cerri, R. L. A. (2014). Short communication : Factors affecting hair cortisol concentrations in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7685–7690. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8444>
- Burnett, T. A., Madureira, A. M. L., Silper, B. F., Tahmasbi, A., Nadalin, A., Veira, D. M., & Cerri, R. L. A. (2015). Relationship of concentrations of cortisol in hair with health , biomarkers in blood , and reproductive status in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4414–4426. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8871>
- Calamari, L., & Bertoni, G. (2016). Model to evaluate welfare in dairy cow farms. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.S1.301>, 8(SUPPL. 1), 301–323. <https://doi.org/10.4081/IJAS.2009.S1.301>
- Cardoso, C. S., von Keyserlingk, Marina A. G., & Hötzel, M. J. (2019). Views of dairy farmers, agricultural advisors, and lay citizens on the ideal dairy farm. *Journal of Dairy Science*, 102(2), 1811–1821. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14688>
- Charlton, G. L., & Rutter, S. M. (2017). The behaviour of housed dairy cattle with and without pasture access : A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 192(November 2016), 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.05.015>
- Chen, J. M., Schütz, K. E., & Tucker, C. B. (2016). Cooling cows efficiently with water spray: Behavioral, physiological, and production responses to sprinklers at the feed bunk. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4607–4618. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10714>
- Chen, J. M., Stull, C. L., Ledgerwood, D. N., & Tucker, C. B. (2017). Muddy conditions reduce hygiene and lying time in dairy cattle and increase time spent on concrete. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 2090–2103. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11972>
- Chilibroste, P., & Battegazzore, G. (2019). *Proyecto Producción Competitiva*.

- Chilibroste, P., Gibb, M. J., Soca, P., & Mattiauda, D. A. (2015). Behavioural adaptation of grazing dairy cows to changes in feeding management: Do they follow a predictable pattern? *Animal Production Science*, *55*(3), 328–338. <https://doi.org/10.1071/AN14484>
- Chung, H., Li, J., Kim, Y., van Os, J. M. C., Brounts, S. H., & Choi, C. Y. (2020). Using implantable biosensors and wearable scanners to monitor dairy cattle's core body temperature in real-time. *Computers and Electronics in Agriculture*, *174*. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105453>
- Comin, A., Peric, T., Corazzin, M., Veronesi, M. C., Meloni, T., & Zufferli, V. (2013). Hair cortisol as a marker of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in Friesian dairy cows clinically or physiologically compromised. *Livestock Science*, *152*(1), 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.11.021>
- Comin, A., Prandi, A., Peric, T., Corazzin, M., Dovier, S., & Bovolenta, S. (2011). Hair cortisol levels in dairy cows from winter housing to summer highland grazing. *Livestock Science*, *138*(1–3), 69–73. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2010.12.009>
- Cook, N. B., Mentink, R. L., Bennett, T. B., & Burgi, K. (2007). The effect of heat stress and lameness on time budgets of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *90*(4), 1674–1682. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-634>
- Cooper, M. D., Arney, D. R., & Phillips, C. J. C. (2007). Two- or Four-Hour Lying Deprivation on the Behavior of Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, *90*(3), 1149–1158. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(07\)71601-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(07)71601-6)
- Costa, J. H. C., Burnett, T. A., Keyserlingk, M. A. G. von, & Hötzel, M. J. (2018). Prevalence of lameness and leg lesions of lactating dairy cows housed in southern Brazil : Effects of housing systems. *Journal of Dairy Science*, 1–11. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13462>
- Crossley, R. E., Harlander-Matauschek, A., & DeVries, T. J. (2017). Variability in behavior and production among dairy cows fed under differing levels of competition. *Journal of Dairy Science*, *100*(5), 3825–3838. <https://doi.org/10.3168/JDS.2016-12108>
- Damián, J., Hötzel, M., Banchemo, G., & Ungerfeld, R. (2013). Behavioural response of grazing lambs to changes associated with feeding and separation from their mothers at weaning. *Research in Veterinary Science*, *95*(3), 913–918. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.08.001>
- Damián, J. P., de Soto, L., Espindola, D., Gil, J., & van Lier, E. (2021). Intranasal oxytocin affects the stress response to social isolation in sheep. *Physiology & Behavior*, *230*, 113282. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113282>

- Damián, J. P., & Ungerfeld, R. (2013). Indicadores de bienestar animal en especies productivas : una revisión crítica. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 21(2), 103–113.
- DeVries, T. J., von Keyserlingk, M. A. G., & Weary, D. M. (2004). Effect of Feeding Space on the Inter-Cow Distance, Aggression, and Feeding Behavior of Free-Stall Housed Lactating Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 87(5), 1432–1438. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(04\)73293-2](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(04)73293-2)
- Dickson, A. D. P., Barr, G. R., & Wieckert, D. A. (1967). Social relationship of dairy cows in a feed lot. *Behaviour*, 29(2), 195–203.
- DIEA. (2021). *Anuario estadístico agropecuario*. <https://Descargas.Mgap.Gub.Uy/DIEA/Anuarios/Anuario2021/LIBRO%20ANUARIO%202021%20Web.Pdf>.
- Driscoll, K. O., Lewis, E., & Kennedy, E. (2019). Effect of feed allowance at pasture on the lying behaviour of dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 213(January), 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.02.002>
- Eckersall, P. D., & Bell, R. (2010). Acute phase proteins : Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, 185(1), 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.009>
- Fariña, S. R., & Chilbroste, P. (2019). Opportunities and challenges for the growth of milk production from pasture: The case of farm systems in Uruguay. *Agricultural Systems*, 176(May), 102631. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2019.05.001>
- Fernández, A., Mainau, E., Manteca, X., Siurana, A., & Castillejos, L. (2020). Impacts of compost bedded pack barns on the welfare and comfort of dairy cows. *Animals*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/ANI10030431>
- Fike, J. H., Staples, C. R., Sollenberger, L. E., Macoon, B., & Moore, J. E. (2003). Pasture forages, supplementation rate, and stocking rate effects on dairy cow performance. *Journal of Dairy Science*, 86(4), 1268–1281. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73711-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73711-4)
- Fisher, A. D., Stewart, M., Verkerk, G. A., Morrow, C. J., & Matthews, L. R. (2003). The effects of surface type on lying behaviour and stress responses of dairy cows during periodic weather-induced removal from pasture. *Applied Animal Behaviour Science*, 81(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00240-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00240-X)
- Fregonesi, J. A., & Leaver, J. D. (2001). Behaviour, performance and health indicators of welfare for dairy cows housed in strawyard or cubicle systems. *Livestock Production Science*, 68(2–3), 205–216. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(00\)00234-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(00)00234-7)

- Gregorini, P., Villalba, J. J., Provenza, F. D., Beukes, P. C., & Forbes, J. M. (2015). Modelling preference and diet selection patterns by grazing ruminants: A development in a mechanistic model of a grazing dairy cow, MINDY. *Animal Production Science*, 55(3), 360–375. <https://doi.org/10.1071/AN14472>
- Grille, L., Adrien, M. L., Méndez, M. N., Chilibroste, P., Olazabal, L., & Damián, J. P. (2022). Milk Fatty Acid Profile of Holstein Cows When Changed from a Mixed System to a Confinement System or Mixed System with Overnight Grazing. *International Journal of Food Science*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5610079>
- Grille, L., Adrien, M. L., Olmos, M., Chilibroste, P., & Damián, J. P. (2019). Diet change from a system combining total mixed ration and pasture to confinement system (total mixed ration) on milk production and composition, blood biochemistry and behavior of dairy cows. *Animal Science Journal*, 90(11), 1484–1494. <https://doi.org/10.1111/asj.13288>
- Gunn, K. M., Holly, M. A., Veith, T. L., Buda, A. R., Prasad, R., Alan Rotz, C., Soder, K. J., & Stoner, A. M. K. (2019). Projected heat stress challenges and abatement opportunities for U.S. Milk production. *PLoS ONE*, 14(3), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214665>
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly*, 29(1), 18–31. <https://doi.org/10.1080/01652176.2007.9695224>
- Heimbürge, S., Kanitz, E., & Otten, W. (2019). General and Comparative Endocrinology The use of hair cortisol for the assessment of stress in animals. *General and Comparative Endocrinology*, 270(June 2018), 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.09.016>
- Herbut, P., Angrecka, S., & Walczak, J. (2018). Environmental parameters to assessing of heat stress in dairy cattle—a review. In *International Journal of Biometeorology* (Vol. 62, Issue 12, pp. 2089–2097). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s00484-018-1629-9>
- Hetti Arachchige, A. D., Fisher, A. D., Wales, W. J., Auldish, M. J., Hannah, M. C., & Jongman, E. C. (2014). Space allowance and barriers influence cow competition for mixed rations fed on a feed-pad between bouts of grazing. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3578–3588. <https://doi.org/10.3168/JDS.2013-7553>
- Huxley, J. N. (2013). Impact of lameness and claw lesions in cows on health and production. *Livestock Science*, 156(1–3), 64–70. <https://doi.org/10.1016/J.LIVSCI.2013.06.012>
- INALE/MGAP. (2019). *Encuesta lechera*. <https://www.inale.org/Wp-Content/Uploads/2021/09/Resultados-Encuesta-2019-3.Xlsx>.

- Janni, K. A., Endres, M. I., Reneau, J. K., & Schoper, W. W. (2007). Compost Dairy Barn Layout and Management Recommendations. *Applied Engineering in Agriculture*, 23(1), 97–102. <https://doi.org/10.13031/2013.22333>
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., & Maltz, E. (2002). Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science*, 77(1), 59–91. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00330-X)
- Kappes, R., Deise, -, Knob, A., Scheid, A. L., Bruno, -, Barreta, E., Laiz Perazzoli, -, Bruna, -, Mendes, B., Dileta, -, Alessio, R. M., André, -, & Neto, T. (2022). Rumination time, activity index, and productive performance of Holstein and crossbred Holstein × jersey cows exposed to different temperature-humidity indexes. *International Journal of Biometeorology* 2022, 1, 1–11. <https://doi.org/10.1007/S00484-021-02237-3>
- Karimi, M. T. T., Ghorbani, G. R. R., Kargar, S., & Drackley, J. K. K. (2015). Late-gestation heat stress abatement on performance and behavior of Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 1–11. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9281>
- Kendall, P. E., Nielsen, P. P., Webster, J. R., Verkerk, G. A., Littlejohn, R. P., & Matthews, L. R. (2006). The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperate climate. *Livestock Science*, 103(1–2), 148–157. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2006.02.004>
- Kendall, P. E., & Webster, J. R. (2009). Season and physiological status affects the circadian body temperature rhythm of dairy cows. *Livestock Science*, 125(2–3), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.04.004>
- King, M. T. M., Crossley, R. E., & DeVries, T. J. (2016). Impact of timing of feed delivery on the behavior and productivity of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1471–1482. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9790>
- Kolver, E. S. (2003). Nutritional limitations to increased production on pasture-based systems. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(2), 291–300. <https://doi.org/10.1079/PNS2002200>
- Lazzarini, B., Baudracco, J., Tuñon, G., Gastaldi, L., Lyons, N., Quattrochi, H., & Lopez-Villalobos, N. (2019). Review: Milk production from dairy cows in Argentina: Current state and perspectives for the future. *Applied Animal Science*, 35(4), 426–432. <https://doi.org/10.15232/AAS.2019-01842>
- Lee, Y., Bok, J. D., Lee, H. G. J., Lee, H. G. J., Kim, D., Lee, I., Kang, S. K., & Choi, Y. J. (2016). Body temperature monitoring using subcutaneously implanted thermo-loggers from holstein steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(2), 299–306. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0353>
- Leso, L., Barbari, M., Lopes, M. A., Damasceno, F. A., Galama, P., Taraba, J. L., & Kuipers, A. (2020). Invited review: Compost-bedded pack barns for

- dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1072–1099.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16864>
- Maia, G. G., Siqueira, L. G. B., Vasconcelos, C. O. de P., Tomich, T. R., Camargo, L. S. de A., Rodrigues, J. P. P., de Menezes, R. A., Gonçalves, L. C., Teixeira, B. F., Grandó, R. de O., Nogueira, L. A. G., & Pereira, L. G. R. (2020). Effects of heat stress on rumination activity in Holstein-Gyr dry cows. *Livestock Science*, 239(March), 104092.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2020.104092>
- Manteca, X. (2009). *Etología veterinaria*.
- Mattiauda, D. A., Tamminga, S., Gibb, M. J., Soca, P., Bentancur, O., & Chilbroste, P. (2013). Restricting access time at pasture and time of grazing allocation for Holstein dairy cows: Ingestive behaviour, dry matter intake and milk production. *Livestock Science*, 152(1), 53–62.
<https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.12.010>
- Monge, J. L., Alves, F., Alves, C. E., Osorio, J. A., & Chiavassa, C. (2019). Instalaciones para confinamiento de vacas lecheras del tipo compost barn en la Argentina y Brasil: Revisión. *II Simpósio Internacional de Ambiência e Engenharia Na Produção Animal Sustentável*, 248–256.
<https://www.researchgate.net/publication/333676983>
- Munksgaard, L., & Simonsen, H. B. (1996). Behavioral and Pituitary Adrenal-Axis Responses of Dairy Cows to Social Isolation and Deprivation of Lying Down. *Journal of Animal Science*, 74(4), 769–778.
<https://doi.org/10.2527/1996.744769x>
- Nocek, J. (2009). *Hock assessment for cattle*. Cornell Cooperative Extension.
- O'Connell, J., Giller, P. S., & Meaney, W. (1989). A Comparison of Dairy Cattle Behavioural Patterns at Pasture and during Confinement. *Irish Journal of Agricultural Research*, 28(1), 65–72.
- Paudyal, S., Maunsell, F., Richeson, J., Risco, C., Donovan, A., & Pinedo, P. (2016). Peripartur ruminant dynamics and health status in cows calving in hot and cool seasons. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 9057–9068.
<https://doi.org/10.3168/jds.2016-11203>
- Pavlata, L., Pechová, A., Illek, J., Aktas, M., Auguste, D., Lefebvre, H. P., Toutain, P. L., & Braun, J. P. (2001). Muscular Dystrophy in Dairy Cows Following a Change in Housing Technology. *Veterinary Research Communications*, 70(5), 353–369. <https://doi.org/10.1007/BF01839386>
- Pereira, I., Cruz, I., Rupprechter, G., & Meikle, A. (2017). Salud y eficiencia reproductiva de vacas lecheras en sistemas de base pastoril de florida: resultados preliminares del monitoreo. *XLV Jornadas Uruguayas de Buiatría*.
- Pilatti, J. A., Vieira, F. M. C., Rankrape, F., & Vismara, E. S. (2019). Diurnal behaviors and herd characteristics of dairy cows housed in a compost-

- bedded pack barn system under hot and humid conditions. *Animal*, 13(2), 399–406. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001088>
- Premi, M., Mezzetti, M., Ferronato, G., Barbato, M., Cappelli, F. P., Minuti, A., & Trevisi, E. (2021). Changes of plasma analytes reflecting metabolic adaptation to the different stages of the lactation cycle in healthy multiparous holstein dairy cows raised in high-welfare conditions. *Animals*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/ANI11061714>
- Rodrigues, G. (2021). Impacto del tipo de encierro en sistemas mixtos sobre producción, metabolismo e indicadores de salud de la vaca lechera. In *Tesis de maestría*. <https://drive.google.com/drive/u/0/folders/1tFZuGuCYTE-fq02iXxpJiUEM88lwaAkn>
- Román, L., Saravia, C., Astigarraga, L., Bentancur, O., & la Manna, A. (2019). Shade access in combination with sprinkling and ventilation effects performance of Holstein cows in early and late lactation. *Animal Production Science*, 59(2), 216–224. <https://doi.org/10.1071/AN16571>
- Sadiq, M. B., Ramanoon, S. Z., Mossadeq, W. M. S., Mansor, R., & Syed-Hussain, S. S. (2017). Association between lameness and indicators of dairy cow welfare based on locomotion scoring, body and hock condition, leg hygiene and lying behavior. In *Animals* (Vol. 7, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ani7110079>
- Salado, E. E., Maciel, M. G., Bretschneider, G., Cuatrin, A., & Gagliostro, G. A. (2020). Productive Response and Reproductive Performance of Dairy Cows Subjected to Different Feeding Systems. *Open Journal of Animal Sciences*, 10(01), 10–32. <https://doi.org/10.4236/ojas.2020.101002>
- Saravia, C., Astigarraga, L., Van Lier, E., & Bentancur, O. (2011). Impacto de las olas de calor en vacas lecheras en Salto (Uruguay). *Agrociencia Uruguay*, 15(1), 93–102. <https://doi.org/10.2477/vol15iss1pp93-102>
- Schirmann, K., Chapinal, N., Weary, D. M., Heuwieser, W., & von Keyserlingk, M. A. G. (2012). Rumination and its relationship to feeding and lying behavior in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(6), 3212–3217. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4741>
- Schirmann, K., von Keyserlingk, M. A. G., Weary, D. M., Veira, D. M., & Heuwieser, W. (2009). Validation of a system for monitoring rumination in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 6052–6055. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2361>
- Schreiner, D. A., & Ruegg, P. L. (2003). Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3460–3465. [https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302\(03\)73950-2](https://doi.org/10.3168/JDS.S0022-0302(03)73950-2)
- Schütz, K. E., Cave, V. M., Cox, N. R., Huddart, F. J., & Tucker, C. B. (2019). Effects of 3 surface types on dairy cattle behavior, preference, and

- hygiene. *Journal of Dairy Science*, 102(2), 1530–1541.
<https://doi.org/10.3168/JDS.2018-14792>
- Schütz, K. E., & Cox, N. R. (2014). Effects of short-term repeated exposure to different flooring surfaces on the behavior and physiology of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(5), 2753–2762.
<https://doi.org/10.3168/JDS.2013-7310>
- Schütz, K. E., Cox, N. R., & Tucker, C. B. (2014). A field study of the behavioral and physiological effects of varying amounts of shade for lactating cows at pasture. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3599–3605.
<https://doi.org/10.3168/JDS.2013-7649>
- Schütz, K. E., Huddart, J., Sutherland, M. A., Stewart, M., & Cox, N. R. (2015). Effects of space allowance on the behavior and physiology of cattle temporarily managed on rubber mats. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6226–6235. <https://doi.org/10.3168/JDS.2015-9593>
- Schütz, K. E., Rogers, A. R., Cox, N. R., Webster, J. R., & Tucker, C. B. (2011). Dairy cattle prefer shade over sprinklers: Effects on behavior and physiology. *Journal of Dairy Science*, 94(1), 273–283.
<https://doi.org/10.3168/jds.2010-3608>
- Shi, R., Dou, J., Liu, J., Sammad, A., Luo, H., Wang, Y., Guo, G., & Wang, Y. (2021). Genetic parameters of hair cortisol as an indicator of chronic stress under different environments in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17856>
- Smid, A. M. C., Burgers, E. E. A., Weary, D. M., Bokkers, E. A. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2019). Dairy cow preference for access to an outdoor pack in summer and winter. *Journal of Dairy Science*, 102(2), 1551–1558. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15007>
- Smid, A. M. C., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2020). Effect of outdoor open pack space allowance on the behavior of freestall-housed dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(4), 3422–3430.
<https://doi.org/10.3168/jds.2019-17066>
- Smid, A.-M. C., Weary, D. M., & von Keyserlingk, M. A. G. (2020). The Influence of Different Types of Outdoor Access on Dairy Cattle Behavior. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 257.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00257>
- Sprecher, D. J., Hostetler, D. E., & Kaneene, J. B. (1997). A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology*, 47, 1179–1187.
- Tallo-Parra, O., Manteca, X., Sabes-Alsina, M., Carbajal, A., & Lopez-Bejar, M. (2014a). Hair cortisol detection in dairy cattle by using EIA: Protocol validation and correlation with faecal cortisol metabolites. *Animal*, 9(6), 1059–1064. <https://doi.org/10.1017/S1751731115000294>

- Tallo-Parra, O., Manteca, X., Sabes-Alsina, M., Carbajal, A., & Lopez-Bejar, M. (2014b). Hair cortisol detection in dairy cattle by using EIA: Protocol validation and correlation with faecal cortisol metabolites. *Animal*, *9*(6), 1059–1064. <https://doi.org/10.1017/S1751731115000294>
- Tao, S., Orellana Rivas, R. M., Marins, T. N., Chen, Y. C., Gao, J., & Bernard, J. K. (2020). Impact of heat stress on lactational performance of dairy cows. *Theriogenology*, *150*, 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.048>
- Telezhenko, E., von Keyserlingk, M. A. G., Talebi, A., & Weary, D. M. (2012). Effect of pen size, group size, and stocking density on activity in freestall-housed dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *95*(6), 3064–3069. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4953>
- Tolkamp, B. J., Haskell, M. J., Langford, F. M., Roberts, D. J., & Morgan, C. A. (2010). Are cows more likely to lie down the longer they stand? *Applied Animal Behaviour Science*, *124*(1–2), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2010.02.004>
- Tucker, C. B., Jensen, M. B., de Passillé, A. M., Hänninen, L., & Rushen, J. (2021). Invited review: Lying time and the welfare of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *104*(1), 20–46. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-18074>
- Tucker, C. B., Rogers, A. R., & Schütz, K. E. (2008). Effect of solar radiation on dairy cattle behaviour, use of shade and body temperature in a pasture-based system. *Applied Animal Behaviour Science*, *109*(2–4), 141–154. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.03.015>
- Van Os, J. M. C. (2019). Considerations for Cooling Dairy Cows with Water. In *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice* (Vol. 35, Issue 1, pp. 157–173). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.10.009>
- Vitali, A., Segnalini, M., Bertocchi, L., Bernabucci, U., Nardone, A., & Lacetera, N. (2009). Seasonal pattern of mortality and relationships between mortality and temperature-humidity index in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *92*(8), 3781–3790. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2127>
- Vizzotto, E. F., Fischer, V., Thaler Neto, A., Abreu, A. S., Stumpf, M. T., Werncke, D., Schmidt, F. A., & McManus, C. M. (2015). Access to shade changes behavioral and physiological attributes of dairy cows during the hot season in the subtropics. *Animal*, *9*(9), 1559–1566. <https://doi.org/10.1017/S1751731115000877>
- West, J. W. W. (2003). Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, *86*(6), 2131–2144. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73803-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73803-X)
- Wheelock, J. B., Rhoads, R. P., VanBaale, M. J., Sanders, S. R., & Baumgard, L. H. (2010). Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating

Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93(2), 644–655.
<https://doi.org/10.3168/jds.2009-2295>

White, R. R., Hall, M. B., Firkins, J. L., & Kononoff, P. J. (2017). Physically adjusted neutral detergent fiber system for lactating dairy cow rations. II: Development of feeding recommendations. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9569–9584. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12766>

Zimbelman, R., Rhoads, R. P., Rhoads, M. L., Duff, G. C., Baumgard, L. H., & Collier, R. J. (2009). *A Re-evaluation of the Impact of Temperature Humidity Index (THI) and Black Globe Humidity Index (BGHI) on Milk Production in High Producing Dairy Cows*.
<https://www.researchgate.net/publication/251735409>