

EVALUACIÓN DEL BIENESTAR EN VACAS EN UN SISTEMA DE ORDEÑE AUTOMATIZADO DURANTE LA ÉPOCA ESTIVAL. ESTUDIO DE CASO

LEVA, P. E.¹; GHIANO, J. E. J.³; TOFFOLI, G. D.¹; FERNANDEZ, G. B.^{1,2};

SOSA, J. L.²; GARCIA, M. S.¹; TAVERNA, M.³ & WALTER, E.³

RESUMEN

Treinta y siete vaquillonas fueron alojadas en un corral con acceso a un tambo robotizado. Poseían sombras de red en el comedero y en los lugares de descanso. Desde las 18:00 hs hasta las 08:00 hs tenían acceso a una pastura. Se registró el comportamiento semanalmente durante 24 horas. Dos veces por semana en 5 horarios, se observó la frecuencia respiratoria. La producción individual se registró diariamente. Semanalmente se analizó la composición de la leche. En dos fechas se realizaron toma de sangre para evaluar el nivel de cortisol. La frecuencia respiratoria media fue de 70 ± 12 rpm. La producción de leche fue de $28 \pm 1,6$ L v-1 d-1. El cortisol presentó valores entre 10 y 48 ng ml-1. Los animales destinaron 25,1 % y 26,1 % a las conductas de comer y rumiar respectivamente y sólo 0,7% a beber. Los resultados preliminares indicarían la factibilidad de introducir sistemas robotizados combinados con métodos de mitigación del estrés.

Palabras clave: comportamiento, frecuencia respiratoria, cortisol.

ABSTRACT

Evaluation of well-being in cows In an automated ordering system last season. Case study.

Thirty-seven heifers were housed in a pen with access to a robotic dairy farm. They had shadows in the feeder and resting places. From 18:00 hs to 08:00 hs had access a pasture. Behavior was recorded weekly for 24 hours. Twice a week at 5 times the respiratory rate was observed individual production was recorded daily. Weekly dairy control was performed. Two dates blood collection

1.- Facultad de Ciencias Agrarias, UNL. 86-Kreder 2805. (3080HOF) Esperanza, provincia de Santa Fe. Telefax +54 (3496) 426400. Email: pleva@fca.unl.edu.ar

2.- Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL. 86-Kreder 2805. (3080HOF) Esperanza, provincia de Santa Fe.

3.- Técnicos de la Estación Experimental Inta Rafaela. C.C. 22 (2300) Rafaela, provincia de Santa Fe.

Manuscrito recibido el 20 de octubre de 2016 y aceptado para su publicación el 24 de mayo de 2017.

P. E. Leva *et al.*

were performed to evaluate the level of cortisol. The average respiratory rate was 70 rpm. Milk production was 28 l v-1 d-1. The present cortisol values between 10 and 48 ng ml-1. Animals destined to 25, 1 % and 26, 1 % eating and ruminating behaviors and only 0.7% respectively to drink. The results are preliminary; indicate the feasibility of introducing automated systems combined with stress mitigation methods.

Key words: behavior, respiratory rate, cortisol.

INTRODUCCIÓN

Los principales factores ambientales que producen estrés térmico en la vaca lechera son la temperatura y la humedad (7, 14, 23, 36). Por lo tanto uno de los aspectos a considerar relacionados al manejo para vacas lecheras en condiciones de tiempo cálido es el manejo del ambiente. Existe mucha bibliografía sobre el manejo de la vaca lechera durante el verano (10, 35). La mayoría de estas investigaciones fueron realizadas en establecimientos con sala de ordeño convencional, donde los animales son llevados a ellas a horarios fijos.

En los últimos años, en muchos países se ha incorporado el sistema de ordeño automatizado (VMS) donde los animales deciden su propio programa de ordeño. La incorporación de sistema automatizado de ordeño (VMS) tiene el potencial para aumentar la producción de leche hasta en un 12%, disminuir la mano de obra hasta en un 18% y al mismo tiempo mejorar el bienestar de las vacas lecheras al permitir que ellas mismas puedan elegir cuando ser ordeñadas (15). Pero por otro lado, la mayoría de VMS son unidades de una sola parada, lo que resulta en una experiencia de ordeño aislado que difiere drásticamente de la mayoría de los sistemas convencionales. El aislamiento social en un ambiente desconocido puede aumentar las respuestas de estrés en el ganado lechero (26, 27).

El VMS se ha utilizado desde hace casi 20 años en Europa mientras que en la Argentina no existen establecimientos que posean VMS. Esto se puede deber al desconocimiento de cómo adaptar esta tecnología y estos conceptos a las condiciones predominantes de nuestro país. Se sabe que para que los animales se muevan por su propia voluntad, se los debe incentivar a través de la alimentación; esto es, el manejo de la pastura y de los suplementos.

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la implementación de un sistema de ordeño voluntario en vacas lecheras en pastoreo y con ración parcialmente mezclada con encierre estratégico diurno en relación al desempeño productivo y el bienestar durante la época estival.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de experimentación

El presente estudio presenta las características de un estudio de casos múltiples y se enmarcó bajo un enfoque cuantitativo. El estudio se llevó a cabo en el VMS de EEA INTA Rafaela (31° 11'S, 61° 33'W). El período de investigación se extendió desde 6 de enero hasta el 25 de febrero de 2016.

Animales

Se trabajó con un total de 37 vacas de primera lactancia 130 ± 70 días de lactancia (DEL) con 30L/v/d de producción promedio diaria. Los animales tuvieron acceso entre las 08:00 hs y las 18:00 hs al patio de comida ubicado al N de la unidad de ordeño. Este corral de eje longitudinal E-W está provisto de una estructura de media sombra fija y dos estructuras de media sombra móviles con eje longitudinal N-S. La estructura fija está ubicada en parte W, en la zona de comedero y las móviles en la parte E. La superficie de sombra disponible por animal fue de 4 m². Desde las 18 hs y después de haber pasado por la estación de ordeño, se les permitió el acceso a una franja de pastoreo. Se debe aclarar que las zonas aledañas al VMS poseían sombra y ventilación. A los animales se les ofreció el alimento una vez por día a las 9:00 hs. La composición de la dieta se realizó de acuerdo a lo sugerido por NRC (22) (Tabla 1).

Indicadores meteorológicos

La información meteorológica se obtuvo de la Estación Agrometeorológica ubicada en el predio del EEA INTA Rafaela. Se estimó el índice de de temperatura y humedad (ITH) según la siguiente expresión (31):

$$ITH = 1,8 \text{ tm} + 32 - (0,55 - 0,55 \text{ hr}) (1,8 \text{ tm} - 26)$$

Donde: tm: temperatura media diaria (°C), hr: humedad relativa media diaria en base decimal.

Indicadores sobre el animal

Frecuencia respiratoria (FR)

Aumento del ritmo respiratorio, hasta llegar al jadeo. Con este mecanismo se incrementa el dióxido de carbono (CO₂) exhalado, disminuye el ácido carbónico y aumenta el pH sanguíneo. Durante eventos de estrés térmico, el riñón incrementa la absorción de hidrógeno y aumenta la excreción de cationes, principalmente sodio, a través de orina.

Se realizó por conteo del movimiento de los flancos por un minuto (rpm) a 10 animales dos veces por semana y en seis momentos del día: 08:00, 12:00, 15:00, 18:00 y 21:00 hs.

Peso

El peso corporal de las vacas es el indicador principal de su estado fisiológico. En este estudio los animales consumieron forraje y alimentos concentrados. Como indicador de que se suministro una dieta ade-

Tabla 1. Composición física de la dieta ofrecida a los animales durante el período de ensayo.

Alimento	kg MS vaca ⁻¹ día ⁻¹
Silo de maíz	7
Balanceado	5,6
Heno de alfalfa	1,8
Grano de maíz molido	1,8
Expeller de soja	0,9
Semilla de algodón	0,9
Soja	2,5
Alfalfa	2,5
Total	23

cuada se registró dos veces el peso de los animales al comienzo y a final del ensayo.

Cortisol (Cs)

Se realizaron dos muestreos de sangre para determinar Cortisol como indicador de estrés en los animales. La medición se realizó mediante la técnica de Electroquimioluminiscencia (ECLIA) (18).

Producción leche(PL)

La producción de leche individual se registró diariamente mediante el sistema DelproDeLaval®. La composición se analizó todas las semanas con un muestreo compuesto de los 4 cuartos de cada vaca del ensayo. Las mismas se enviaron al Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria del INTA EEA Rafaela, donde se analizaron los siguientes parámetros, grasa butirométrica (GB), proteína (P), ambos expresados en gramos cada 100 mililitros y recuento de células somáticas (RCS), expresada en células por mililitro. Todos los valores se obtuvieron mediante MilkoscanminorFoss Electric®.

Además se contabilizó la frecuencia de asistencia de los animales a la unidad de ordeño (NOD).

Comportamiento

Para las observaciones del comportamiento se utilizó un muestreo por barrido con registro temporal a intervalo de 15 minutos, sugerido por Martín y Batenson (20). Los registros se efectuaron semanalmente desde las 08:00 hs de un día hasta las 08:00 hs del día siguiente. Las conductas a observar fueron parado (P): rumiando (R), echado (E), jadeando (J), bebiendo (B) y comiendo (C). Conjuntamente se indicando en que sector se encontraban. Los sectores que se consideraron fueron: VMS, zonas aledañas al VMS (ALD), patio de comida (PC), sombra (SB) y pastura (P).

Análisis estadístico

El análisis de los resultados, excepto para comportamiento, son presentados con su valor medio y el error estándar. Para el análisis del comportamiento se confeccionaron tablas de contingencia y se realizó un χ^2 (19).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Indicadores meteorológicos

En la Tabla 2 se presenta la información meteorológica promedio de los meses de enero y febrero de 2016. El ITH medio de los meses en estudio fue superior en un 7% a la serie histórica (1970-2010). Los dos meses presentaron ITH medios diarios ≥ 72 .

La mayoría de estudios sobre el estrés calórico en vacas lecheras se basan en la temperatura y la humedad relativa del aire (7, 14, 23). Armstrong (4) encontró que la homeotermia en el ganado lechero empieza a estar en peligro cuando el ITH es > 72 . Sobre la base de los valores de ITH en este estudio las vacas fueron sometidas a condiciones estresante (75-78) y a condiciones de estrés extremo (ITH > 78).

Indicadores sobre el animal

Peso corporal

Para que los animales conserven su peso adecuado se debe cubrir sus necesidades nutricionales de acuerdo a su producción. En este ensayo no se observó variaciones en los pesos. Los pesos iniciales de los animales fueron en promedio de $556 \text{ kg} \pm 51,8$ y los pesos finales $560 \text{ kg} \pm 47,4$. Se puede inferir que la dieta fue adecuada y la instalación de sombra en los comederos permitió un mayor consumo.

Frecuencia respiratoria

La frecuencia respiratoria elevada no indica que los animales mantengan con éxito su equilibrio térmico, más bien señala que poseen una carga excesiva de calor y que tratan de restablecer su equilibrio normal. Los jadeos respiratorios cortos y rápidos pueden ser útiles hasta que la vaca ponga en funcionamiento otros mecanismos de pérdidas de calor.

En este estudio la FR en promedio se mantuvo en 70 rpm \pm 12 rpm. Según la escala propuesta por Silanikove (28) el estrés fue medio alto. En la Figura 1 se muestra la marcha de la FR y del ITH a lo largo del día. Se puede apreciar que entre las 15:00 hs y las 18:00 donde se observan valores de ITH > a 80 la FR alcanzó los máximos valores observados (76 rpm y 79 rpm).

Producción lechera

La producción de leche fue de 28,6 L/d/v \pm 1,6. En la Figura 2 se muestra la producción en relación al ITH diario. Bouraoui *et al.* (5) informan que por cada incremento de un punto del valor de ITH por encima de 69 se observa una disminución en el rendi-

miento de la leche de 0,41 kg/v/ d. Durante la realización de este ensayo el ITH se mantuvo en la mayoría de los días encima de 69. Se registro el número de ordeño por día (NOD) promedio de todo el periodo experimental fue de de 2,5 \pm 0,2. Esto coincide con lo informado por Jacobs *et al.* (15).

Las vacas lecheras al comienzo de la lactancia tienen menos posibilidades de ajustarse al estrés térmico, y por lo tanto la incidencia de las condiciones ambientales desfavorables es más fuerte sobre la producción de leche. Un balance negativo de la energía en las vacas al comienzo de la lactancia se incrementa aún más debido a la producción y emisión de grandes cantidades de energía térmica, en el período en que los animales consumen menos alimentos. Por esta razón las vacas de alto rendimiento diario son más sensibles al estrés por calor que las vacas con un menor potencial genético para la producción de leche (6). Los animales en este estudio transitaban el primer tercio de su primera lactancia. Se implementaron estrategias para mitigar el efecto ambiental como la colocación de sombras en el patio de comida, en el lugar de descanso

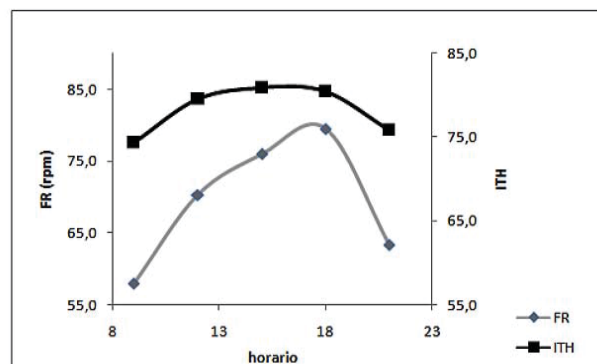


Figura 1. Marcha horaria de la Frecuencia respiratoria (rpm) y del índice de temperatura y Humedad (ITH)

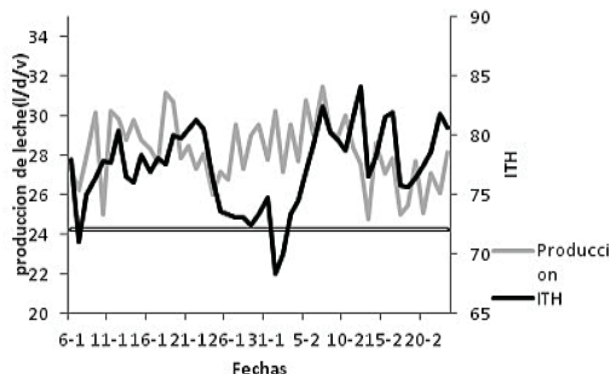


Figura 2. Marcha diaria de producción de leche (l/d/v) en relación al índice de temperatura y humedad (ITH).

Tabla 2. Calidad composicional de la leche expresada como grasa (g .100 ml⁻¹); proteína (g .100 ml⁻¹) y recuento de células somáticas (RCS; cel ml⁻¹), valores promedios (\pm DE), máximos y mínimos de todo el período experimental.

Parámetros	Grasa (g100 ml ⁻¹)	Proteína (g 100 ml ⁻¹)	RCS (cel ml ⁻¹)
Promedio \pm desvío estándar	2,93 \pm 0,25	3,28 \pm 0,09	390154 \pm 282608
Máximo	3,41	3,46	1008790
Mínimo	2,61	3,2	189970

y en el corral de espera. En este último lugar también se instalaron ventiladores.

En la Tabla 2 se presenta la composición de la leche. Según lo informado por Abeni *et al.* (1, 2) la composición de la leche en términos de contenido de proteínas y grasas parece no estar influido por el tipo de sistema de ordeño per se (1, 2). Por lo tanto la relación inversa de grasa: proteína se puede explicar por la dieta de estos animales. Según informa Gallardo, esta relación se puede presentar (9), cuando la dieta genera una excesiva movilización de reservas corporales en el animal. Pero también en sistemas de alimentación donde las vacas de alta producción (>30L/v/d) reciben una dieta con una relación forraje: concentrado muy baja. En este estudio los animales se

les suministraron una dieta PMR (ración parcialmente mezclada) con poca oferta de forraje. No sólo la dieta determina la composición de la leche, sino también las condiciones meteorológicas. Se ha encontrado (34), que el contenido de proteína se ve afectado por la temperatura mínima.

En nuestro estudio de caso, el RCS fue ligeramente superior al RCS observado en sala de ordeño convencional (303.040 cel ml⁻¹), que funciona en el mismo establecimiento. El recuento de células somáticas es uno de los indicadores de mastitis subclínica (11). Varios estudios basados en encuestas examinaron los cambios en la calidad de la leche en las explotaciones que pasaron de las salas de ordeño convencionales a la VMS y los resultados obtenidos

fueron diversos desde no observar cambios a observar disminución en RCS (12, 16) o aumentos en RCS (13, 17, 37). Helgren y Reinemann (12) informaron de una disminución en el RCS en 12 tambos después de tres años de la implementación VMS. Se debe recordar el VMS es el primer año de implementación del sistema robotizado.

Cortisol

En las vacas bajo estudio se midieron valores medios de cortisol desde $14,3 \pm 0,99$ ng ml⁻¹ en enero y a $13,1 \pm 0,92$ ng ml⁻¹ en febrero. Las condiciones de temperatura media y humedad relativa media para las fechas en que se realizaron las extracciones de sangre fueron a de 28°C y 67% (enero) y 26°C y 94% (febrero). Algunos autores demostraron que, a altas temperaturas y alta humedad relativa se midieron altas concentraciones sanguíneas de cortisol en vaquillonas Holstein (66,78 ng/ml) (8) y en vacas lecheras 13 ng/ml (24). Valores similares a lo informado por Roma- Ponce, lo encontraron, otros autores (25, 38) también en condiciones de alta temperatura y humedad. Estos valores son coincidentes a lo registrado en este estudio.

Cabe aclarar que los niveles de cortisol altos también se pueden relacionar con algunos estímulos positivos como el ordeño aunque las vacas no estén en condiciones ambientales estresantes (21, 29).

Comportamiento

Las conductas de los animales presentaron alta asociación al día ($p < 0,0001$). En la Tabla 3 se presentan las distintas conductas observadas discriminadas por ITH medio diario y Horas al día con ITH > 72.

Cabe aclarar que después de las 18 hs no se les permitió el acceso a las sombras ni al comedero. Los dos días con mayor ITH se observó un mayor % de animales en las zonas aledañas al VMS, dado que en las mismas se ubicaron los ventiladores. El tiempo que los animales destinaron a ordeñarse se mantuvo constante en todos los días de observación (0,91%).

Tabla 3. Tiempo destinado (en porcentaje) a las distintas conductas registradas en vacas discriminadas por números de horas al día con ITH>72 e ITH medio diario: comiendo (C), parado rumiando (PR) y descansando (PD) echado rumiando (ER) echado descansando (ED).

Horas al día con ITH> 72	ITH Medio diario	C	PR	PD	ER	ED
17	78	23,0	15,0	24,0	19,5	16,6
16	77,6	30,9	13,5	24,3	14,5	14,9
21	80,6	22,6	8,5	19,8	15,3	17,5
15	73,1	25,7	11,6	15,4	19,0	23,6
20	78,1	26,6	11,3	28,4	10,0	20,6
20	80,4	22,4	8,1	34,3	12,5	20,4

Tabla 4. Porcentaje de tiempo en que los animales permanecieron en los distintos sectores: ale-
dañas al VMS (AD,) comedero (CD) y sombra (SB) o pradera (P) discriminadas por números de
horas al día con ITH > 72 e ITH medio diario.

Horas al día con ITH> 72	ITH Medio diario	AD	CD	SB	P
17	78	6,5	13,1	25,5	53,2
16	77,6	7,4	15,2	27,8	47,9
21	80,6	8,8	7,2	33,5	49
15	73,1	7,3	11,2	28,5	52
20	78,1	8,18	14,9	33,0	42,7
20	80,4	10,5	13,5	31,9	42

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ABENI, F.; DEGANO, L.; CALZA, F.; GIANGIACOMO, R. AND PIRLO, G.** 2005b. Milk quality and automatic milking: Fat globule size, natural creaming, and lipolysis. *J. Dairy Sci.* 88:3519–3529. [http:// dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73037-X](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73037-X).
- 2.- ABENI, F.; TERZANO, M. G.; SPERONI, M.; MIGLIORATI, L.; CAPELLETTI, M.; CALZA, F.; BIANCHI, L. AND PIRLO, G.** 2008. Evaluation of milk enzymes and electrolytes, plasma metabolites, and oxidative status in twin cows milked in an automatic milking system or twice daily in a conventional milking parlor. *J. Dairy Sci.* 91:3372–3384. <http:// dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1039>.
- 3.- ALLEN, J.D., HALL, L.W., COLLIER, R. J. Y 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. *J. Dairy Sci.* 98:118–127.
- 4.- ARMSTRONG, D. V.** 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044.
- 5.- BOURAOUI, R.; LAHMAR, M.; MAJDOUB, A.; DJEMALI, M. AND BELYEA, R.** 2002. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate *Anim. Res.* 51 (2002) 479–491.
- 6.- COLLIER, R. J.; BAUMGARD, L. H.; LOCK, A. L.; BAUMAN, D.E.** 2005. Physiological Limitations: nutrient partitioning. Chapter 16, In: *Yields of farmed Species: constraints and opportunities in the 21st Century*. Proceedings 61st Easter School, Nottingham, England. Wiseman J. and Bradley R., eds, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 351-377.
- 7.- CORREA-CALDERONA.; ARMSTRONG, D.; RAY, D.; DENISE, S.; ENNS, M. Y.; HOWISON, C.** 2004. Thermoregulatory responses of Holstein and Brown Swiss heat-stressed dairy cows to two different cooling systems. *Int. J. Biometeorol.*, 48,142-148.
- 8.- FAURE, R.; FERNÁNDEZ-LIMIA, O.; MORALES-DENIS, C.** Concentraciones de Cortisol sérico en novillas Holstein durante las dos épocas del año en Cuba. *RED-VET* 2004; 12:12.
- 9.- GALLARDO, M.R.** 2006. Alimentación y composición química de la leche www.produccion-animal.com.ar. Visitado 12/02/2017.

- 10.- HAHN, G.L.** 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *J. Dairy Sci.* 77(suppl 2):10-20.
- 11.- HAMANN, J.** 2002. Relationship between somatic cell count and milk composition. *Bull. Int. Dairy Fed.* 372:56–59.
- 12.- HELGREN, J. M. AND REINEMANN, D. J.** 2006. Survey of milk quality on U.S. dairy farms utilizing automatic milking systems. *Trans. ASABE* 49:551–556.
- 13.- HOVINEN, M.; RASMUSSEN, M. D. AND PYORALA, S.** 2009. Udder health of cows changing from tie stalls or free stalls with conventional milking to free stalls with either conventional or automatic milking. *J. Dairy Sci.* 92:3696–3703. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2008-1962>.
- 14.- IGONO, M.O.; STEEVENS, B.J.; SHANKLIN, M.D. AND JOHNSON, H.D.** 1985. Spray cooling effects on milk production, milk, and rectal temperatures of cows during a moderate temperature summer season. *J. Dairy Sci.*, 68, 979-985.
- 15.- JACOBS, J. A. AND SIEGFORD, J. M.** Invited review: The impact of automatic milking system on dairy cow management, behavior, health, and welfare
- 16.- KLUNGEL, G. H., SLAGHUIS, B. A. AND HOGEVEEN, H.** 2000. The effect of the introduction of automatic milking systems on milk quality. *J. Dairy Sci.* 83:1998–2003. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75077-6](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75077-6).
- 17.- KRUIP, T. A. M.; MORICE, H.; ROBERT, M. AND OUWELTJES, W.** 2002. Robotic milking and its effect on fertility and cell counts. *J. Dairy Sci.* 85:2576–2581. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74341-5](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74341-5).
- 18.- LAGGER, J. R.; SCHMIDT, E.; WARAN, N. Y OTROSKY, R.** 2004. Medición de cortisol en leche como indicador de bienestar animal. Resultados preliminares. *Revista Veterinaria Argentina*, XXI (2)208:577- 586.
- 19.- MADER, T.L.; HUNGERFORD, L.L.; IENABER, J.A.; BUHMAN, M.J.; DAVIS, M.S.; HAHN, G.L.; CERKONEY, W.M. Y HOLT, S.M.** 2001. Heat stress mortality in Midwest feedlots. *J AnimSci*79 (Suppl. 2), 33.
- 20.- MARTIN, P. Y BATESON, P.** 1991. La medición del comportamiento. Alianza Universidad. Versión española de Fernando Colmenares, 1º edición. Ed. Alianza. Madrid – España :215p.
- 21.- NEGRÃO, J.A. Y MARNE, P.G.** 2006. Milk yield, residual milk, oxytocin and cortisol release during machine milking in Gir, Gir x Holstein and Holstein cows. *Reprod-NutrDev* 46:77–85.
- 22.- NRC (National Research Council).** 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy of Science Press, Washington, DC.
- 23.- RAVANGOLO, O. Y MISZTAL, I.** 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. *J. Dairy Sci.*, 83, 2126-2130.
- 24.- ROMAN-PONCE, H.; THATCHER, W. W.; CANTON, D.; BARRON, D.H. AND WILCOX, C.J.** Thermal stress effects on uterine blood flow in dairy cows. *J AnimSci* 1978;46:175-80.
- 25.- RONCHI, B.; STRADAIOLI, G.; VERINISUPPLIZI, A.; BERNABUCCI, G.; LACETERA, N.; ACCORSI, P.A.; NARDONE, A. Y SEREN, E.** 2001. Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17, LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livest Pro Sci.* 68:231–241.

- 26.- RUSHEN, J.; DE PASSILÈ, A.M. Y MUNSGAARD, L. 1999. Fear of people by cows and effects on milk yield, behavior and heart rate at milking. *J. Dairy Sci.* 82:720–727.
- 27.- RUSHEN, J.; MUNKSGAARD, L.; MARNET, P.G. Y DE PASSILÉ, A. M. 2001. Human contact and the effects of acute stress on cows at milking. *ApplAnimBehav Sci.* 73:1–14.
- 28.- SILANIKOVE, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest Pro Sci.* 67:1–18.
- 29.- TANCIN, V.; HARCEK, L.; BROUCEK, J.; UHRINCAT, M. Y MIHINA, S. 1995. Effect of suckling during early lactation and changeover to machine milking on plasma oxytocin and cortisol levels and milking characteristics in Holstein cows. *J Dairy Res* 62:249–256.
- 30.- TAPKI, I. Y SAHIN, A. 2006. Comparison of the thermoregulatory behaviours of low and high producing dairy cows in a hot environment. *ApplAnimBehav Sci.* 99:1–11.
- 31.- THOM, E.C. 1959. The Discomfort Index. *Weatherwise* 12: 57-60.
- 32.- TUCKER, C.B.; ROGERS, A.R. Y SCHUTZ, 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* 109-141-154.
- 33.- UZAL, S. Y UGURLU, N. 2010. The effects of season on the time budget and area usage of animals in an open loose dairy cattle housing. *J. Anim. Vet. Advances* 9: 88-95
- 34.- VALTORTA, S. E.; LEVA, P. E.; GALLARDO, M. R.; FORNASERO, L. V.; VELES, M. A. Y GARCIA, M. S. Producción de leche: respuestas a la alta temperatura. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal.* Vol. 5. Suplemento 1. Noviembre 1997. Publicada por Asociación Latinoamericana de Producción Animal. ISSN 1022-1301. Página 399-401.
- 35.- VALTORTA, S. E.; LEVA, P. E. Y GALLARDO, M. R. 1997. Evaluation of different shades to improve dairy cattle well-being in Argentina. *Int. J. Biometeor.* 41:6567.
- 36.- VALTORTA, S.E. Y LEVA, P.E. 1998. Características del ambiente físico. En: Producción de leche en verano. Ediciones UNL, Santa Fe. p 9-20.
- 37.- VAN DER VORST, Y. AND HOGEVEEN, H. 2000. Automatic milking systems and milk quality in the Netherlands. Pages 73–82 in *Robotic Milking*. H. Hogeveen and A. Meijering, ed. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
- 38.- WISE, M.E., ARMSTRONG, D.V., HUBER, J.T., HUNTER, R. Y WIERSMA, F. 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress. *J DairySci.* 71:2480–2485.