



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN
Y SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DE UN SUPLEMENTO A BASE DE ELECTROLITOS Y ACEITES
ESENCIALES VEGETALES EN LA TEMPERATURA Y VARIABLES
PRODUCTIVAS DE VACAS LECHERAS EN EL ALTIPLANO MEXICANO
DURANTE ESTRÉS CALÓRICO.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

Maestra en Ciencias de la Producción y Salud Animal

PRESENTA:

MELISSA ARANDA ESTRADA

TUTOR:

HÉCTOR SALVADOR SUMANO LÓPEZ

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMITÉ TUTOR

ALEJANDRO BAILÓN BLANCO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ISMAEL MARTÍNEZ CORTÉS

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

CD MX

DICIEMBRE 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mis dos madres Xóchitl y Carmen, mi abuelita Carmen, ya que por ellas soy la mujer de ahora. A mi papá Ricardo, abuelo Pepe, Ixchel, Citlali y demás familia. A mis pequeños, Iktan, Fátima y Damián quienes son parte de mi motivación, espero que el ejemplo que les doy los haga aspirar a lo grande. A Javi, quien, con su amor me animó y apoyó en todo momento.

Siempre les agradeceré por estar acompañando y alegrando mi vida. A todos los amo y los tengo presentes en lo más profundo de mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, a los doctores Héctor Sumano y Lilia Gutiérrez, quienes confiaron en mí, me apoyaron y brindaron el material necesario para realizar mi tesis. A mi Comité tutor por sus enseñanzas. Al maestro Reyes López Ordaz quien me apoyo en el análisis estadístico. Al doctor Héctor Basurto que me abrió las puertas en el CEIEPAA y colaboró con el doctor Miguel Ángel Ortega en el desarrollo de mi experimento. También al personal del CEIEPAA quienes me ayudaron al manejo de los animales. Al proyecto PAPIIT IT200322, que apoyo la investigación.

INDICE

Introducción.....	1
Importancia de la producción de leche ante el cambio climático en el mundo y México.....	1
Zona termoneutra.....	4
Producción de calor y mecanismos de disipación	5
Impacto negativo del estrés calórico en el rendimiento productivo de las vacas	7
Indicadores utilizados para detectar EC	13
Sistemas y estrategias de mitigación de calor.....	14
Aceites esenciales vegetales más electrolitos, nuevo tratamiento	16
Hipótesis.	18
Objetivo.	18
Material y métodos	19
Localización del área de estudio.....	19
Animales.....	21
Recopilación de datos	23
Análisis estadístico	24
Análisis de cosinor.....	24
Resultados.....	25
Condiciones ambientales	25
Volumen de leche y variables fisiológicas	25
Discusión	42
Conclusión	45
Abreviaturas.....	46
Referencias	47

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Zona termoneutra en el ganado lechero

Cuadro 2. Resumen de los principales cambios fisiológicos en bovinos productores de leche bajo estrés calórico (EC)

Cuadro 3. Fórmula y dosis de ingredientes activos para el suplemento* de AE+E en bovinos de leche

Cuadro 4. Promedio de parámetros ambientales durante el experimento

Cuadro 5. Promedio de variables fisiológicas y volumen de leche durante el experimento

Cuadro 6. Promedio de 3 zonas de temperatura superficial mediante termografía infrarroja durante el experimento en vacas lecheras del altiplano mexicano.

Cuadro 7. Ritmometría cosinor de la temperatura superficial en 3 zonas de vacas lecheras del altiplano mexicano durante el experimento

Lista de Figuras

Figura 1. Escala de ITH sobre el impacto de estrés calórico (Burgos Zimbelman & Collier, 2011).

Figura 2. Mapa del módulo de bovinos productores de leche por área.

Figura 3. Diseño de bolos de AE+E realizado en el Laboratorio de Farmacología Veterinaria en la Facultad de Medicina Veterinaria, UNAM.

Figura 4. Diferencias entre los grupos de tratamiento con respecto al volumen de leche en vacas por parto en fase 1.

Figura 5. Diferencias entre los grupos de tratamiento con respecto al volumen de leche en vacas Jersey en la fase 1.

Figura 6. Volumen de leche por edad en vacas en los grupos de tratamiento en la fase 1.

Figura 7. Volumen de leche obtenido en los grupos de tratamiento en la fase 2.

Figura 8. Frecuencias respiratorias obtenidas en los grupos de tratamiento durante la fase 1 y 2.

Figura 9. Frecuencias respiratorias obtenidas en los grupos de tratamiento durante la mañana y tarde de la fase 1.

Figura 10. Frecuencias respiratorias obtenidas en los grupos de tratamiento durante la tarde en la fase 2 en vacas de 4° parto

Figura 11. Temperaturas superficiales promedio de las 3 zonas medidas durante el experimento.

Figura 12. Temperaturas superficiales promedio por bloques en las 3 zonas medidas durante la fase 1.

Figura 13. Temperaturas superficiales promedio por diferentes bloques en las 3 zonas medidas durante la fase 2

Figura 14. Temperaturas superficiales promedio por etapa de lactancia de las 3 zonas medidas durante la fase 2.

Figura 15. Media de medias (\pm 1DE en sombra) y regresiones polinomiales de las temperaturas superficiales en ubre y ojo de bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) a lo largo del día de la fase 1.

Figura 16. Media de medias (\pm 1DE en sombra) y regresiones polinomiales de las temperaturas registradas en ubre y ojo a distancia de bovinos Holstein, Jersey y cruza de éstas, en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) a lo largo del día durante la fase 2

INTRODUCCIÓN

Importancia de la producción de leche ante el cambio climático en el mundo y México.

El cambio climático que está experimentando nuestro planeta es probablemente uno de los principales desafíos que enfrenta la humanidad durante el presente siglo (Nardone *et al.*, 2010; Rashamol *et al.*, 2019) y nos obliga a pensar en estrategias para mitigar sus efectos en los animales domésticos. El incremento de la temperatura en la biosfera debido a la acumulación de gases de efecto invernadero en la atmósfera se denomina calentamiento global (IPCC, 2021). Este fenómeno va en aumento a medida que aumente la población humana a nivel mundial y es considerado ya una emergencia global a pesar de que se le minimiza en importancia (Boni, 2019). La FAO (2013) informó que la producción ganadera global representa el 14.5% de las emisiones de gases y, se espera que esta cifra vaya al alza debido a que el sector ganadero continúa creciendo (Herrero *et al.*, 2015; Flamenbaum, 2021).

En las últimas décadas la temperatura media mundial fue de 1.09°C más alta en comparación a los 80 y 90's y es tendencia que incremente 1.5°C entre 2030 y 2052 de acuerdo con el último informe del Panel Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC, 2021). Así, se ha considerado que los escenarios de calentamiento global generan múltiples presiones sobre los animales y sus capacidades de producción, ya que su bienestar se verá afectado tanto indirectamente por la escasez de alimento o agua y/o distribución de enfermedades transmitidas por vectores; así como directamente por la condición llamada estrés calórico (EC) (Nardone *et al.*, 2010; Herrero *et al.*, 2015). Varios factores ambientales, como la temperatura, la humedad relativa, la velocidad del viento, la radiación solar y la precipitación contribuyen con el EC (Bohmanova *et al.*, 2007; Bernabucci *et al.*, 2010; Ferraza *et al.*, 2017). Por ello, se creó el denominado índice de temperatura y humedad (ITH), que es una medida bioclimática que combina el efecto simultáneo de la temperatura y la humedad, los factores más importantes determinantes del EC, debido a su influencia en los mecanismos de intercambio térmico (Kadzere *et al.*, 2002; Rashamol *et al.*, 2019). Zimbelman y Collier (2011) propusieron una escala de ITH para evaluar el impacto

del EC en el ganado lechero en el que, un ITH de 68 se considera como el límite menor para generar un efecto negativo en la producción y un límite mayor de 98 para provocar el choque y la muerte (Zimbelman & Collier, 2011; Bhojani *et al.*, 2015; Figura 1). En particular, el ganado vacuno es la especie más expuesta al estrés calórico, actualmente, el 7% de la población mundial bovina está expuesta a un ITH superior a 83 y para el año 2100 se proyecta que aumente a más del 48% (Carvajal *et al.*, 2021). Es factible percibir que el EC será más marcado en el ganado lechero de alto rendimiento debido a la selección genética intensiva para fijar rasgos de producción de leche, lo que ha provocado una mayor sensibilidad a altas temperaturas debido a la estrecha relación entre la generación de calor metabólico y el nivel de producción (Bernabucci *et al.*, 2010; Gauly *et al.*, 2013). Está bien documentado que la hipertermia y el EC son factores importantes que pueden afectar negativamente la producción y el bienestar del ganado bovino (Kadzere *et al.*, 2002; Polsky y von Keyserlingk, 2017; Becker *et al.*, 2020; Lambertz *et al.*, 2014) e incluso se ha demostrado un patrón estacional de mayor mortalidad asociado al EC (Vitali *et al.*, 2009). Por ejemplo, durante el 2006 en California, Estados Unidos, una gran ola de calor se asoció con una muerte atípica de 25,000 bovinos (Nienaber y Hahn, 2007).

Temp (°C)	% Humedad Relativa																				
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
22	64	64	65	65	66	66	66	67	67	67	68	68	69	69	69	70	70	70	71	71	72
23	65	65	66	66	67	67	67	68	68	69	69	70	70	70	71	71	72	72	73	73	73
24	66	66	67	67	68	68	69	69	70	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75
25	67	67	68	68	69	69	70	70	71	71	72	72	73	73	74	74	75	75	76	76	77
26	67	68	69	69	70	70	71	71	72	73	73	74	74	75	75	76	77	77	78	78	79
27	68	69	69	70	71	71	72	73	73	74	74	75	76	76	77	77	78	79	80	80	81
28	69	70	70	71	72	72	73	74	74	75	76	76	77	78	78	79	80	80	81	82	82
29	70	71	71	72	73	73	74	75	76	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	83	84
30	71	71	72	73	74	74	75	76	77	78	78	79	80	81	81	82	83	84	84	85	86
31	71	72	73	74	75	76	76	77	78	79	80	80	81	82	83	84	85	85	86	87	88
32	72	73	74	75	76	77	77	78	79	80	81	82	83	84	84	85	86	87	88	89	90
33	73	74	75	76	77	78	79	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	91
34	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93
35	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95
36	75	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	93	94	95	96	97
37	76	77	79	80	81	82	83	84	85	86	87	89	90	91	92	93	94	95	96	97	99
38	77	78	79	81	82	83	84	85	86	88	89	90	91	92	93	95	96	97	98	99	100
39	77	78	79	81	82	83	84	85	86	88	89	90	91	92	93	95	96	97	98	99	100
40	79	80	81	82	84	85	86	88	89	90	91	93	94	95	96	98	99	100	101	103	104
41	80	81	82	83	85	86	87	89	90	91	93	94	95	97	98	99	101	102	103	104	106
42	80	82	83	84	86	87	89	90	91	93	94	95	97	98	99	101	102	104	105	106	108
43	81	83	84	85	87	88	90	91	92	94	95	97	98	100	101	102	104	105	107	108	109
44	82	83	85	86	88	89	91	92	94	95	97	98	99	101	102	104	105	107	108	110	111
45	83	84	86	87	89	90	92	93	95	96	98	99	101	102	104	105	107	108	110	111	113

Figura 1. Escala de ITH sobre el impacto de estrés calórico. La combinación de cierta temperatura y humedad calculado con base a la fórmula del NRC (1971, Ver en material y métodos) resulta en un grado de estrés calórico en vacas lecheras, mismo que se ha clasificado como: amarillo = Estrés leve; naranja = Estrés leve-moderado; rojo = Moderado - Estrés severo; Púrpura = estrés severo (Adaptado de Burgos Zimbelman & Collier, 2011).

El cambio climático ya afecta a múltiples regiones en la Tierra, incluso para zonas climáticas moderadas, existe una alta incidencia de periodos de calor y sequías durante los meses de verano (Renaudeau *et al.*, 2012; Gauly y Ammer, 2020). Se informa en Estados Unidos y Canadá que, a pesar de contar con un clima templado con veranos cortos, hay pérdidas de rendimiento lácteo de -0.164 a -0.955 kg/animal debido tanto a EC leve, moderado como severo, y ya que los bovinos no están acostumbrados a este desafío, los rendimientos son comparables a los de animales ubicados en zonas cálidas, áridas, tropicales y subtropicales en los cuales se reportan pérdidas entre el 10-35% (West, 2003; Hammami *et al.*, 2013; Becker *et al.*, 2020). Las áreas más afectadas son en latitudes bajas como la cuenca del Mediterráneo y Asia Central Occidental y, en el hemisferio Norte, Asia, Europa y América del Norte (Nardone *et al.*, 2010). Obviamente México no está exento a esta problemática. La mayor parte del territorio nacional dedicado a la ganadería productora de leche se encuentra en zonas áridas-semiárida, seguida de la zona tropical cálido-subhúmeda,

templada subhúmeda, tropical cálido-húmeda y finalmente templada húmeda (SEMARNAT, 2008). Por lo tanto, los sistemas de producción en México son vulnerables. Por ejemplo, Flamenbaum (2018) registró en el norte de México valores del ITH por encima del nivel crítico (>68) durante 24 horas al día en los cuatro meses de verano del 2014 y, Carvajal *et al.* (2021) describen en la parte litoral mexicana del Golfo de México de 5 a 8 días consecutivos por año que se excede un ITH >87 . De tal suerte que se espera un aumento importante de vacas que estarán sujetas a EC y por ello es fundamental establecer y adoptar estrategias de mitigación para hacer frente a las adversidades futuras del cambio climático en la producción lechera. Las pérdidas económicas y de bienestar que se predicen en el sector lácteo son graves. Para el año 2000, tan solo se estima que la disminución en las producciones lácteas generó una pérdida anual promedio de \$897 a \$1500 millones de dólares en Estados Unidos considerando disminución del rendimiento (ingesta de alimento, crecimiento y leche), aumento de la mortalidad y disminución de la reproducción (St. Pierre *et al.*, 2003) aunque esta cifra no contabilizó las pérdidas en establos sin sistemas de enfriamiento (Ferreira *et al.*, 2016), los gastos en hormonas y semen durante la inseminación artificial o bien, el mayor uso de medicamentos para contrarrestar la incidencia de enfermedades relacionadas al EC.

Zona termoneutra

En el ganado lechero se ha hecho un esfuerzo considerable en lograr mejoras genéticas para aumentar la producción de leche, pero se ha prestado poca atención a la capacidad termorreguladora de la vaca moderna (Bernabucci *et al.*, 2014). La capacidad de termorregular es una adaptación evolutiva que permite a los homeotermos mantener el funcionamiento biológico a pesar de las fluctuaciones de la temperatura ambiental (Silanikove, 2000). Para lograr costos fisiológicos mínimos con una productividad máxima, se ha descrito una zona termoneutra, misma que no es exactamente igual para cada autor (Cuadro 1). Dentro de la zona termoneutra los animales mantienen una temperatura corporal fisiológica constante entre $38.4-39.1^{\circ}\text{C}$ (Das *et al.*, 2016). Se ha comentado también que la zona termoneutra depende en parte de la edad del animal, raza, nivel de producción, pelaje, entre otros factores (Kadzere *et al.*, 2002; Aggarwal y Upadhyay, 2013; Collier *et al.*, 2019). Las variaciones son tan grandes que Renaudeau *et al.* (2012) consideran casi imposible

determinar la zona termoneutra en animales domésticos como consecuencia de su destacada capacidad productiva, lo que dificulta mantener una temperatura estable.

Cuadro 1. Zona termoneutra en el ganado lechero

Zona termoneutra	Referencia
5 a 25°C	Kadzere <i>et al.</i> (2002)
-25 a 25°C	Bernabucci <i>et al.</i> (2010), Collier <i>et al.</i> (2019)
-0.5 a 20°C	West (2003)

Por eso, el EC supera la capacidad general de la mayoría de los organismos para adaptarse (Madhusoodan *et al.*, 2019). Un desafío de ITH superior a 68, que resulta de las combinaciones de 25.5°C y 20%, 22.5°C y 50% y 20°C y 80% de temperatura y humedad relativa respectivamente, altera drásticamente el comportamiento, la salud y el rendimiento de los bovinos (West, 2003; Tao *et al.*, 2018, Flammenbaum, 2021).

Producción de calor y mecanismos de disipación

La producción de calor se define como “una medida de la suma total de las transformaciones de energía que ocurren en el animal por unidad de tiempo” (Kadzere *et al.*, 2002). Dentro de la vaca lechera lactante, los procesos metabólicos producen energía para mantener la vida y para procesos fisiológicos como son la síntesis de tejidos corporales y la lactogénesis. Gruber *et al.* (2021) encontraron que los requisitos de mantenimiento de energía son mucho más altos que los indicados en los sistemas de energía neta para la lactancia actualmente en uso, como el de Alemania (GfE, 2001) y Estados Unidos, (NRC, 2001). Esto se explica porque las vacas lecheras han aumentado su actividad metabólica para la digestión y la circulación sanguínea necesaria para aumentar la producción de leche y por el mayor peso de los órganos internos que a su vez requieren más energía que el tejido muscular; lo que conlleva a la generación de una gran cantidad de calor metabólico. De acuerdo con Flammenbaum (2021), la energía producida es proporcional al nivel de producción láctea. Se estima que por cada 4.5 kg de leche producidos, la vaca generará calor equivalente a un foco de 100 *Watts* (W), por lo que una vaca que produce 45 kg al día de leche generará el calor equivalente a 10 focos. Si a esto le sumamos la radiación solar directa que agrega el

equivalente a 16 focos similares, entonces la vaca lechera tendrá que disipar el calor equivalente a 26 focos de 100 W. A este cálculo hay que agregar lo referente a otros factores como el tamaño corporal y las razas, la disponibilidad de alimento adecuado y la calidad del agua (Kadzere *et al.*, 2002).

Para mantener el equilibrio entre la producción de calor y los mecanismos de pérdida, el organismo intenta termorregularse (Renaudeau *et al.*, 2012). Los mamíferos tienen dos tipos de mecanismos de termorregulación: conductuales y fisiológicos. La termorregulación conductual depende de decisiones voluntarias orientadas a objetivos aprendidos a través del refuerzo de sus congéneres. Una vez que el estímulo térmico es detectado por la vía aferente a través del sistema nervioso central se presentan decisiones del individuo para intentar perder calor (Mota-Rojas *et al.*, 2021). Algunos de los comportamientos termorreguladores consisten en buscar sitios fríos, hacer nidos o madrigueras en lugares fríos y disminuir la ingesta de energía y la actividad locomotora (Terrien *et al.*, 2011). En los sistemas modernos de producción, los bovinos con EC no tienen muchas alternativas y el veterinario debe estar alerta para tratar de facilitar formas de enfriamiento (Nagashima, 2006). Cuando no son suficientes las opciones de termorregulación conductual, resultan críticos los mecanismos fisiológicos para intentar mantener la normotemia. Los mecanismos son autónomos e incluyen la activación de vías termorreguladoras iniciadas en el hipotálamo anterior (Mota-Rojas *et al.*, 2021).

La piel detecta cambios de calor mediante termorreceptores que son activados con potencial de receptor transitorio (TRP, por sus siglas en inglés) y que funcionan como canales catiónicos, específicamente TRP tipo 2. Todas las aferencias que recibe la piel llevan información a un centro integrador en el sistema nervioso central (SNC) en el que el núcleo preóptico mediano, estructura clave para la termorregulación en los mamíferos, genera una respuesta nerviosa eferente diseñada para activar los diversos sistemas enzimáticos, metabólicos y reproductivos involucrados en la regulación de la temperatura (Nagashima, 2006; Mota Rojas *et al.*, 2021). El cambio inicial es a través del tono de los vasos sanguíneos cutáneos que se consideran el principal tejido termoelector ya que muchas fuentes metabólicas de calor (hígado, corazón, músculo esquelético) están distantes de la piel y no

pueden disipar calor eficientemente (Terrien *et al.*, 2011; Mota Rojas *et al.*, 2021). Hay un aumento del flujo sanguíneo con ayuda de dos ramas del sistema nervioso simpático: el sistema colinérgico que provoca la vasodilatación cutánea y, el sistema noradrenérgico que induce una vasoconstricción visceral. Con esta dualidad se facilita la pérdida de calor utilizando la sangre como vehículo (Morrison y Nakamura 2018; Mota Rojas *et al.*, 2021). La vasodilatación cutánea permite la pérdida de calor por conducción, convección y radiación. Estos son los mecanismos no evaporativos por los cuales puede ocurrir la transferencia de calor del individuo al entorno y siempre y cuando la temperatura ambiente sea más baja que la del cuerpo (Kuth y Farmery, 2021).

Se reporta que cuando la temperatura ambiente se eleva por encima de 16.6 y 18.3°C (Kadzere *et al.*, 2002), las vacas dependen del enfriamiento por evaporación principalmente a través de la sudoración, que nuevamente está bajo el control del hipotálamo mediante el SNC (Kuth y Farmery, 2021; Mota Rojas *et al.*, 2021). Para favorecer la evaporación y con ello la termorregulación, el animal puede aumentar el jadeo y la liberación de saliva. Sin embargo, las vías por las cuales se estimulan estos mecanismos siguen sin estar claras (Mota Rojas *et al.*, 2021). Aunque el sudor es cuantitativamente superior al jadeo y la salivación, el ganado bovino expuesto a condiciones de calor elevadas pierde solo el 15% del calor endógeno a través del árbol respiratorio. El resto se disipa con los mecanismos no evaporativos (Kadzere *et al.*, 2002). Además, el bovino tiene una menor tasa de sudoración en comparación con otras especies y esto lo hace más susceptible al EC (Flamenbaum, 2021). El enfriamiento por evaporación demanda un alto gasto calórico para el animal y conlleva importantes alteraciones fisiológicas, lo que resulta en una gran desventaja para el animal (Mota Rojas *et al.*, 2021).

Impacto negativo del estrés calórico en el rendimiento productivo de las vacas

El EC también recibe el término “carga de calor”, sin embargo, el EC hace referencia a la forma en la que responde el animal y, la carga de calor es indicativa del nivel que está proporcionando el ambiente (Idris *et al.*, 2021). Se ha adaptado la definición clásica de “estrés” a la condición de EC como *la suma de fuerzas internas y externas al cuerpo*, que en este caso es el calor del ambiente y la carga metabólica del animal, *que tiende a desplazar*

sus sistemas de su estado de reposo (West, 2003; Collier *et al.*, 2019), es decir, provocar un aumento de la temperatura corporal (Tc) y evocar una respuesta fisiológica que, no siempre es eficaz cuando el nivel de humedad ambiental es alto (Bernabucci *et al.*, 2010).

La vulnerabilidad del ganado al EC varía según la etapa de vida, el sistema de manejo o producción, el estado nutricional, la especie, raza y el potencial genético, (Das *et al.*, 2016). Estos últimos 3 factores son determinantes para la adaptación de los animales ya que implica cambios genéticos a medida que los entornos adversos persisten durante varias generaciones (Sejián *et al.*, 2018; Collier *et al.*, 2019). Para afrontar el EC se cuenta con la aclimatación, la cual ocurre en dos etapas: aguda o de corto plazo y crónica o de largo plazo (Bernabucci *et al.*, 2010; Collier *et al.*, 2019). En la primera etapa, la duración es de unos pocos minutos hasta unos pocos días (Horowitz, 2002), la activación del área preóptica del hipotálamo y el sistema nervioso autónomo promueve la liberación de catecolaminas y glucocorticoides (Horowitz, 2002; Collier *et al.*, 2019). Las principales respuestas de la aclimatación aguda al EC son:

- Aumento de la sudoración y jadeo
- Aumento de la frecuencia cardíaca
- Reducción de la ingesta de alimento
- Reducción en la producción de leche
- Aumento en el consumo de agua.

La respuesta al EC se ve aumentada por otros factores como el nivel de producción, la presencia de enfermedad, la edad, la condición corporal y las características del pelaje (Collier *et al.*, 2019). Los cambios adaptativos al EC no son tan eficientes como para generar un bovino con una salud completa y a esto se le denomina homeorresis. Esto es, el metabolismo se coordina de manera dinámica y continua para apoyar un nuevo estado fisiológico específico, es decir el “animal aclimatado” (Bernabucci *et al.*, 2010; Collier *et al.*, 2019). La aclimatación crónica se refiere a varios días o semanas y se acompaña obviamente de los cambios ya referidos en un intento de disminuir la producción de calor metabólico (Rhoads *et al.*, 2009; Bernabucci *et al.*, 2010) y, a menudo se asocian con un efecto negativo en varias funciones fisiológicas, incluida la producción y calidad de la leche (Collier *et al.*,

2006; Burgos Zimbelman y Collier, 2011), el desempeño reproductivo (Jordan, 2003; Boni, 2019), el estado metabólico (Kadzere *et al.*, 2002; Bernabucci *et al.*, 2010) y, la función inmunológica (do Amaral *et al.*, 2011; Bagath *et al.*, 2019), el control descrito se detalla en el Cuadro 2 que sintetiza la información más relevante presente en la literatura.

Cuadro 2.
Resumen de los principales cambios fisiológicos en bovinos productores de leche bajo estrés calórico*

Órgano blanco	Respuesta fisiológica	Características	Indicadores	Referencias	
SNC Hipotálamo	Cambios en el comportamiento	Búsqueda de sombra		Sejian <i>et al.</i> , 2017	
		↓ Consumo de alimento	↑ leptina e insulina	Kadere <i>et al.</i> , 2002; Min <i>et al.</i> , 2015	
		↑ Consumo de agua		West (2003)	
		Agresión	↑ cortisol y catecolaminas	Vizzoto <i>et al.</i> , 2015	
		> tiempo de bipedestación	Problemas podales	Cook <i>et al.</i> , 2007; Polsky y von Keyserlingk, 2018	
Hipófisis	↓ Hormona del crecimiento	No se lleva a cabo gluconeogénesis, glucogenólisis, lipólisis y anabolismo proteico	↓ volumen lácteo	Rhoads <i>et al.</i> , 2010; Aggarwal y Upadhyay, 2013; Binsiya <i>et al.</i> , 2017	
		↓ IGF-1 en hígado			
		↑ Prolactina	Hemodinámica renal y equilibrio de electrolitos	↑ Consumo de agua	Sammad <i>et al.</i> , 2020
			Apoptosis en células mamarias bovinas	Atenuación de la involución mamaria	Accorsi <i>et al.</i> , 2002; Tao <i>et al.</i> , 2018
		Inhibe GnRH	Infertilidad	Al-Chalabi <i>et al.</i> , 2021	
		Supresión inmune	Incidencia de enfermedades	do Amara <i>et al.</i> , 2010, 2011	
		Inhibe lipólisis y remodelación hepática a través de SOCS	↓ volumen lácteo	do Amaral <i>et al.</i> , 2009	
Glándula adrenal	↑ Cortisol	Inhibe lipólisis por ↑ de insulina	↓ volumen lácteo	Ronchi <i>et al.</i> , 2001; Megahead <i>et al.</i> , 2008; Chen <i>et al.</i> , 2018; Li <i>et al.</i> , 2021	

		Supresión inmune	Incidencia de enfermedades	Bagath. <i>et al.</i> , 2019
Tiroides	↓ T4 y T3	↓ Tasa metabólica	↓ calor	Kadzere <i>et al.</i> , 2002; Aggarwal y Upadhyay, 2013; Binsiya. <i>et al.</i> , 2017
	Cambios histopatológicos	Atrofia folicular, quiste parenquimatoso, fibrosis, hiperplasia	↓ volumen lácteo	Saber <i>et al.</i> , 2009
Hígado	↓ Receptor hepático de GH y el ARNm de IGF-I	Reduce utilización de nutrientes mamarios	Mecanismo de acción desconocido	Rhoads. <i>et al.</i> , 2010
	Estrés oxidativo	Lipoperoxidación		do Amaral <i>et al.</i> , 2011
Páncreas	↑ Insulina	Alteración de rutas de captación de glucosa	↓ volumen lácteo	Rhoads <i>et al.</i> , 2009; Bernabucci <i>et al.</i> , 2010
Rumen	Hipertermia Acidosis ruminal	Afecta microflora ruminal ↓ de bicarbonato de sodio Alcalosis respiratoria < absorción de AGV	Jadeo --	Kadzere. <i>et al.</i> , 2002; Bernabucci <i>et al.</i> , 2010
Eje gonadotrópico	↓ expresión de kisspeptina	Por efecto de ↑ PRL	Mayor número de días abiertos, < duración del	Wolfenson <i>et al.</i> , 2000; Jordan, 2003; García-Ispierto <i>et al.</i> , 2007; Kaiser, 2012; Schüller <i>et al.</i> , 2014; De Rensiset <i>et al.</i> , 2015
	Inhibe GnRH por medio de neuronas KNDy	Por efecto de ↑ Cortisol	estrogeno, alteración folicular, desarrollo embrionario y crecimiento fetal,	Ralph <i>et al.</i> , 2016; Boni, 2019; Liu. <i>et al.</i> , 2019; Lucy, 2019; Samad <i>et al.</i> , 2019; Fernandez-Novo. <i>et al.</i> , 2020
	↓ LH	Apoptosis	↓ tasas de concepción	Ouellet <i>et al.</i> , 2021
	Estrés oxidativo en ovocito			
Glándula mamaria	↓ proliferación de células epiteliales mamarias	Específicamente durante el periodo seco. Por efecto de PRL e INS	↓ volumen lácteo	Rhoads. <i>et al.</i> , 2009; Shwartz <i>et al.</i> , 2009; Bernabucci. <i>et al.</i> , 2010, 2015; Chaiyabutr, 2012; Baumgard y Rhoads, 2013;
	↓ porcentajes de grasa y proteína en leche	Bloqueo de movilización de grasas por acción de INS ↑ del consumo de aminoácidos extramamarios		

	↑ conteo de células somáticas	Debido a estrés, sin embargo, no son necesariamente problemas de mastitis		Bernabucci <i>et al.</i> , 2015; Tao <i>et al.</i> , 2018; Bagath <i>et al.</i> , 2019
Sistema inmune	Cambio preferencial hacia la inmunidad humoral (Th2) ↓ proliferación de células linfocitos y monocitos Macrófagos: ↓ ERO y fagocitosis Calostro: ↓ número de inmunoglobulinas	Por efecto de catecolaminas y cortisol Por efecto de cortisol y PRL Mecanismo de acción desconocido Por efecto de PRL	> incidencia de mastitis y neumonías ↓ respuesta vacunal	Lacetera <i>et al.</i> , 2006; do Amaral <i>et al.</i> , 2010, 2011; Tao <i>et al.</i> , 2012; Bagath <i>et al.</i> , 2019; Dahl <i>et al.</i> , 2020; Cartwright <i>et al.</i> , 2021
Riñón	↓ aldosterona ↑ hormona antidiurética	Evita pérdida de potasio ↓ orina y ↑ sed	--	Sejian <i>et al.</i> , 2018; Sammad <i>et al.</i> , 2020
Equilibrio ácido-base	Alcalosis respiratoria	Debido a un déficit de ácido carbónico por la espiración del CO ₂	Jadeo	West, 2003

* Una vez que el índice de temperatura y humedad (ITH) está por encima del nivel crítico (ITH>68). CO₂: dióxido de carbono; ERO: Especies reactivas de oxígeno; GH: Hormona del crecimiento; GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas; IGF-1: Factor de crecimiento parecido a la insulina; KNDy: kisspeptina (KISS), neuroquinina B (NKB) y dinorfina (DYN); LH: Hormona luteinizante; PRL: prolactina; T4: Tiroxina; T3: triyodotironina; Th2: linfocitos T helper 2 o CD4⁺. Adaptado de Bernabucci *et al.*, 2010.

Ritmo circadiano

La oscilación de alguna actividad fisiológica generada endógenamente con un periodo de aproximadamente 24 horas se denomina ritmo circadiano y, ayuda a la mayoría de los organismos anticipar los cambios diarios en su entorno como la luz, la temperatura y la disponibilidad de alimentos, para ampliar la aptitud de los organismos al optimizar su fisiología y comportamiento con respecto a factores externos (Pakte *et al.*, 2020; Refinetti, 2020). En los mamíferos, la ritmicidad circadiana es creada por una red jerárquica de relojes moleculares centrales, ubicados en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo ventral y, relojes periféricos (Pakte *et al.*, 2020). En los mamíferos, son responsables de controlar la

actividad y función de diferentes células y órganos (Refinetti, 2004). Sin embargo, ahora se sabe que una red compleja de señales humorales, neuronales y de los ritmos de la temperatura corporal intervienen en el control circadiano corriente abajo del sistema nervioso central (Schibler *et al.*, 2015). De esta manera, la información de la hora del día se transmite a todo el cuerpo para afectar los ciclos diarios de fisiología y comportamiento (Pakte *et al.*, 2020).

La temperatura corporal ha sido ampliamente estudiada en una variedad de especies mamíferos (Refinetti, 1992; Refinetti, 2020) aunque se ha prestado poca atención a los animales de granja (Piccione y Refinetti, 2003). Estudiar la ritmicidad de la temperatura corporal es importante porque es un marcador conveniente del reloj biológico además de interactuar con el ritmo del metabolismo y reflejar un conflicto constante entre la homeostasis y el ritmo circadiano en el control de la temperatura central en mamíferos (Schibler *et al.*, 2015; Refinetti, 2020). Hace tiempo se sabe que el “arrastre”¹ de los ritmos circadianos puede ser producido por ciclos de temperatura ambiente (Refinetti, 2020) y, se ha informado este patrón en la exposición prolongada de EC (Brown-Brandl *et al. et al.* 2005; Kendall *et al. et al.* 2006). En consecuencia, hay alteración del aprovechamiento de nutrientes, modificaciones de los ciclos de sueño/vigilia, modificaciones en la reproducción y comportamiento (Güldür y Otlu, 2017). Sobre el particular hay pocos estudios en el ganado lechero (Rensing *et al.*, 2001; Kendall *et al.*, 2006) y ninguno en el ganado del altiplano mexicano. Shehab-El Deen *et al.* (2010) demostraron que las vacas lecheras en condiciones de EC pueden sufrir estrés metabólico expresado por la fluctuación diurna de niveles bajos de glucosa, niveles altos de ácidos grasos no esterificados, urea y colesterol total durante aproximadamente 12 horas por día y que las vacas pueden adaptarse durante la noche, aunque el índice de temperatura/humedad (ITH) se mantuvo por encima de 68 durante todo el día, sin embargo, otros estudios no coinciden con esta cita (Kendal y Webster, 2009; Rhoads *et al.*, 2009; Wheelock *et al.*, 2010). Dada la irrefutable relación entre la elevación de la temperatura corporal en animales con EC y el ITH, resulta claro que es necesario establecer para el altiplano mexicano si existe o no un ritmo circadiano manifestado por ajustes de la temperatura corporal de la vaca productora de leche (Kendal *et al.*, 2009) ya que las

¹ Sinónimo de sincronización, para más información consultar: Diccionario de fisiología circadiana <http://www.circadian.org/dictionary.html> (2016).

consecuencias en la salud general de un animal y su metabolismo pueden dictar acciones de manejo para evitar o mitigar el EC (Piccione *et al.*, 2003).

Indicadores utilizados para detectar EC

El aumento del ITH va acompañado de un aumento de la temperatura corporal y frecuencia respiratoria por encima de los límites de referencia (Zimbelman y Collier, 2011). También conforme aumenta el ITH a partir de 68, disminuye la ingesta de materia seca y la reducción de la eficiencia del rendimiento de la leche en las vacas lecheras (Bernabucci *et al.*, 2014; Collier *et al.*, 2019). Sin embargo, el consumo de alimento y los parámetros de comportamiento no son buenas opciones como indicadores para evaluar el EC, ya que son intermitentes, además la ingesta de alimento a pesar de tener una tendencia a la baja se ha demostrado que sólo representa un efecto indirecto del 36% en la disminución de la producción láctea y tiene como desventaja una respuesta tardía a la temperatura ambiental (Brown-Brandl *et al.*, 2005; Rhoads *et al.*, 2009).

Los indicadores más frecuentes para evaluar el EC en vacas lecheras es la frecuencia respiratoria (FR) y la temperatura corporal (Tc) (Hoffman *et al.*, 2019). La FR tiene aproximadamente 1 hora de desfase con respecto al inicio del EC, tanto en el agudo como en el crónico (Silanikove, 2000; Kadzere *et al.*, 2002; Brown-Brandl *et al.*, 2005). La temperatura corporal medida por telemetría tiene algunas limitaciones, como desfasarse hasta 5 horas (Brown-Brandl *et al.*, 2005) y no se recomiendan la telemetría en vagina (Schütz *et al.*, 2010) y rumen (Ammer *et al.*, 2016) pues a menudo hay interferencia en la transmisión de datos debido a la distancia, vientos, lluvias e incluso por la posición en la que se encuentre el animal (de pie o en decúbito; Idris *et al.*, 2021). Si bien la temperatura rectal es una medida convencional ampliamente utilizada, se requiere el desplazamiento del ganado de su grupo social y la sujeción en un hacinamiento, por lo que puede existir variaciones que deriven del miedo, dolor y estrés. Por lo tanto, es posible que la temperatura de la superficie de la piel por medio de cámaras de termografía infrarroja sea una opción viable por no ser invasiva, también ha brindado datos confiables y tiene buena correlación con la FR (Collier *et al.*, 2006).

Se han determinado el cortisol (Ronchi, 2001) y los niveles de estrés oxidativo (Bernabucci *et al.*, 2002). Estas variables indican cambios sustanciales en el metabolismo de vacas lecheras sometidas a EC, pero requieren manipulación y con ello causan estrés adicional o las muestras (saliva, heces, pelo) son de difícil recolección (Hellhammer *et al.*, 2009; Ress *et al.*, 2016; Ghassemi Nejad *et al.*, 2017) y, no se les determina en laboratorios de manera rutinaria (Idris *et al.*, 2021).

Sistemas y estrategias de mitigación de calor

La mejora de la productividad en los animales lecheros expuestos a condiciones ambientales adversas actualmente se ha centrado en proveer al bovino con líquidos de calidad (agua fría-no helada) (Bhojani *et al.*, 2015), mejorar la nutrición (Collier *et al.*, 2006) y el medio ambiente con instalaciones bien diseñadas que proporcionen sombra de manera adecuada y sistemas de enfriamiento como ventiladores y aspersores (Kendall *et al.*, 2006) y, considerar tanto el mejoramiento como la selección genética y fenotípica para termotolerancia en el establecimiento de granjas productoras (Bagath *et al.*, 2019; Carvajal *et al.*, 2021).

Las medidas a considerar en la prevención de la radiación solar directa, es aplicar una buena orientación de corrales con respecto a la posición del sol y colocar sombras tanto en los corrales como en los bebederos, comederos y pasillos (Flamenbaum, 2021). La sombra más efectiva es un material sólido a diferencia de uno poroso como la tela, pero, estas medidas no tienen efecto sobre la temperatura del aire o la humedad relativa por tanto se requiere un sistema de enfriamiento (Polsky y von Keyserlingk, 2017). No obstante, los rociadores y ventiladores son interdependientes, es decir, no es efectivo si uno se usa sin el otro (Henry *et al.*, 2012) además, tienen como desventaja que estas instalaciones solo disminuyen la carga de calor en un 30-50% (Collier *et al.*, 2006) y no mejoran la tasa de concepción (Roth, 2008). También existe el enfriamiento indirecto como túneles, neblinas o establos con ventilación cruzada de perfil bajo, sin embargo, los costos relacionados con la construcción o adaptación de instalaciones hacen difícil aplicar estas medidas, incluso en los países desarrollados (Zimbelman y Collier, 2011; Carvajal *et al.*, 2021) en adición, hay que

considerar que el empleo de estas técnicas puede provocar un mayor consumo de energía y, por lo tanto, empeora el calentamiento global (Nardone *et al.*, 2010).

La selección genética implica el uso de “ganado tropical” (*Bos indicus*), son razas que han desarrollado mecanismos evolutivos de afrontamiento como mayor proporción de la superficie de la piel, pelajes más cortos y claros, glándulas sudoríparas más grandes y mayor vascularización de la piel (Berman, 2011), aunque no están exentos de los efectos negativos del EC (Polsky y von Keyserlingk, 2017). Otra forma es cruzar animales de diferentes razas para aprovechar la heterosis pero es necesario mantener una proporción correcta de animales de raza pura y mestiza, evitando el riesgo de destruir las razas puras y poner en peligro la biodiversidad (Nardone *et al.*, 2010). El mejoramiento genético es un factor clave contra el EC, en el ganado Holstein, Olson y col. (2003) han introducido el gen del pelo liso (*SLICK*) caracterizado por el desarrollo de un pelaje muy corto y liso que se hereda y es capaz de regular la temperatura corporal. Aunque la investigación actual ha demostrado ser prometedora para este gen, es poco probable que la rápida introducción de un solo gen en el genoma de Holstein pueda combatir el estrés por calor y confiera las adaptaciones que *B. indicus* tiene después de varios cientos de años de evolución (Hansen, 2007).

Por otro lado, las estrategias nutricionales para mitigar el calor no existen, ya que se orientan a compensar las disminuciones en la ingesta de alimentos mientras se mantiene la producción de leche, por lo que aumentan la densidad energética de la dieta al incrementar la grasa o el concentrado y reducir la concentración de forraje, sin embargo, esta práctica se asocia con la elevación de la temperatura interna (Polsky y von Keyserlingk, 2017; Collier *et al.*, 2006).

Claramente, las estrategias utilizadas para mitigar el EC pueden tener consecuencias posteriores que agravan aún más los efectos del EC. Por eso la investigación futura debe tener como objetivo refinar las estrategias para el EC que satisfagan los requisitos de producción del animal, al mismo tiempo que priorizan el funcionamiento biológico óptimo del animal y tienen en cuenta los otros conceptos de bienestar (Polsky y von Keyserlingk, 2017). Se considera que la incorporación de minerales, vitaminas y antioxidantes con una nutrición equilibrada son muy esenciales para mejorar el EC en vacas lecheras con EC con el objetivo

de reducir el impacto del estrés oxidativo y mejorar la función inmune (Min *et al.*, 2016, Soltan, 2009, Sordillo y Aikten, 2009, Zimbelman.*et al.*, 2010; Sheikh *et al.*, 2017, Bagath *et al.*, 2019). Por otra parte, se ha intentado un enfoque nutricional para reducir el EC en el ganado bovino productor de leche, principalmente, utilizando oralmente aceites esenciales vegetales (Mulhomall, 2017). Para bovinos se han ponderado como útiles la *oleorresina de Capsicum*, el árbol del clavo (*Syzygium aromaticum*) y el aceite de canela (*Cinnamomum verum*) administrados oralmente (Cardozo *et al.*, 2005; Cobellis *et al.*, 2016). Sin embargo, un nuevo tratamiento se postula en este estudio, aceites esenciales vegetales más electrolitos.

Aceites esenciales vegetales más electrolitos, nuevo tratamiento

Los aceites esenciales (AE) son metabolitos secundarios de plantas (Cobellis *et al.*, 2016) y de acuerdo con Oh *et al.* (2017), los AE pueden ser considerados fitonutrientes ya que son componentes bioactivos derivados del reino vegetal. Químicamente, los AE pueden ser mezclas complejas de terpenoides (mono- y sesquiterpenos) y fenoles o monofenoles (Benchaar *et al.*, 2006). La capsaicina se encuentra dentro del grupo terpenoide mientras que, la canela y el clavo son clasificados como compuestos fenólicos, ya que ambos tienen en común el eugenol como componente bioactivo; mientras que la canela incluye también al cinamaldehído (Calsamiglia *et al.*, 2007; Cobellis *et al.*, 2016). En un principio, investigadores consideraron los AE como una forma de mejorar o alterar la fermentación ruminal debido a sus propiedades antimicrobianas contra una amplia variedad de microorganismos *in vitro* (Cardozo *et al.*, 2005; Cobellis *et al.*, 2016), este atributo es conferido debido a la hidrofobicidad de sus compuestos activos al provocar la inestabilidad de la membrana celular en caso de algunas bacterias, sin embargo, este no es el único mecanismo de acción (Calsamiglia *et al.*, 2007). El objetivo de alterar la fermentación ruminal tanto *in vitro* como *in vivo*, es reducir la producción de gas metano, aumentar o disminuir la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y, mejorar la utilización de energía al tener efecto sobre el metabolismo de proteínas (Cardozo *et al.*, 2005; Busquet *et al.*, 2006; Cobellis *et al.*, 2016), pero a menudo tienen poco efecto excepto a dosis muy altas (Tager y Krause, 2011). A diferencia con los experimentos *in vivo*, la adición de AE a dosis bajas proporcionan algunos efectos positivos sobre la fermentación ruminal (Cardozo *et al.*, 2006; Elcoso.*et al.*, 2019) aunque no todos los estudios han tenido efectos positivos en sus

resultados (Tassoul y Shaver, 2009, Tager y Krause, 2011, Drong *et al.*, 2015). Las diferencias en la respuesta de los animales a los AE se pueden atribuir a varios factores, incluido el tipo y la dosis utilizada, la proporción de cada AE dentro de la mezcla, la etapa de lactancia y el tipo de ración que se alimentan, por lo tanto, es difícil sacar conclusiones sobre las concentraciones de AGV en el rumen de los estudios *in vivo* (Elcoso *et al.*, 2019).

Sin embargo, se han demostrado otros mecanismos que pueden ser muy benéficos para contrarrestar la homeorresis que conlleva el EC, se informa que los AE pueden evitar la degradación microbiana en el rumen (Oh *et al.*, 2017a). Por lo tanto, pueden ser absorbidos a través de receptores específicos llamados canales de potencial de receptor transitorio (TRPV, por sus siglas en inglés) (Szolcsányi, 2015; Oh *et al.*, 2017a) expresados en las neuronas, intestinos, páncreas, las células inmunitarias y otros tejidos (Vriens *et al.*, 2008). En el páncreas, por ejemplo, el cinamaldehído disminuyó el desarrollo de resistencia a la insulina (Sheng *et al.*, 2008) mientras que la capsaicina induce una respuesta compleja en la pérdida de calor (Szolcsányi, 2004; Romanovsky *et al.*, 2009) y, disminuyó los niveles de insulina (Tanaka *et al.*, 2013) pero sin afectar la concentración de glucosa durante una prueba de tolerancia a la glucosa, por lo que puede permitir redirigir la glucosa para la síntesis de lactosa y la producción de leche en las vacas lecheras (Oh *et al.*, 2017b).

También se informó, que los AE tienen efecto sobre las células inmunitarias relacionadas con la inmunidad innata y adaptativa en vacas lecheras (Takano *et al.* 2007; Oh *et al.*, 2013, 2015, 2017c; Zeng *et al.*, 2015) y el modo de acción sobre el sistema inmunitario varía en función de sus propiedades químicas (Oh *et al.*, 2017a, Holzer, 2011). Por último, pero no menos importante, es la actividad de los AE mencionados sobre el estrés oxidativo y es que, los fenoles tienen propiedades antioxidantes al eliminar los radicales peroxilo e inhibir eficazmente la peroxidación de lípidos; pueden quelar metales con actividad redox y, por lo tanto, prevenir la descomposición catalítica del peróxido de hidrógeno (química de Fenton) (García-Rodríguez *et al.*, 2018). Además, se ha informado que mejora los niveles de antioxidantes endógenos, incluidos la superóxido dismutasa, la catalasa y el glutatión (Masella *et al.*, 2005).

Aunque los aceites esenciales son una alternativa prometedora para contrarrestar los efectos adversos del EC, no se encontraron ensayos que conjuntamente busquen la adición de electrolitos y, además, en México no existen preparados que contengan esta combinación². Esto, por razones obvias, tiene un papel importante en el comportamiento productivo en vacas expuestas a EC, ya que se sabe que las altas tasas de evaporación durante el EC aumentan considerablemente y por ende se elevan los requerimientos de potasio y sodio (NRC, 2001). De tal suerte que resulta congruente llevar a cabo una caracterización del impacto del EC en las variables más universalmente aceptadas como indicativas de EC, la frecuencia respiratoria, la temperatura corporal (Hoffman *et al.*, 2020) y sus consecuencias en la producción de leche para evaluar su posible mitigación con la fórmula de electrolitos con aceites esenciales (AE+E). Además, es importante definir si el EC del ganado lechero en el altiplano sigue un patrón en la ritmicidad de la temperatura corporal ya que las consecuencias en la salud general de un animal y su metabolismo pueden dictar acciones de manejo para evitar o mitigar el EC (Collier *et al.*, 2006).

Hipótesis.

La suplementación con AE+E mantendrá las variables fisiológicas dentro de rangos de termo neutralidad, así como el volumen de producción de leche y la ritmicidad de la temperatura superficial en bovinos productores de leche.

Objetivo.

Evaluar el efecto de la suplementación AE+E sobre el estrés calórico en bovinos productores de leche.

Objetos específicos:

- Diseñar la fórmula del suplemento de AE+E en forma de bolos para bovinos productores de leche.
- Diseño del grupo experimental (AE+E y Control) y administración del suplemento conforme al estudio cruzado.
- Medición de variables fisiológicas: frecuencia respiratoria, temperatura superficial y volumen de leche.

² Según una revisión en bases de datos como Agris, Vet-CD, Biological Abstracts, MedLine, Elsevier, entre otras (<https://dgb.unam.mx/>), última consulta en febrero, 2020.

- Análisis e interpretación de resultados.

Material y métodos

Localización del área de estudio

El experimento se realizó en el Módulo de bovinos productores de leche del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal en Altiplano CEIEPAA (Tequisquiapan, Querétaro) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM (Figura 2). Los procedimientos utilizados para el manejo y cuidado de los animales fueron aprobados por el Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales Experimentales de la UNAM bajo el protocolo SICUAE.MC-2021/1-1 y se llevaron a cabo de acuerdo con el Reglamento Oficial Mexicano NOM-062-ZOO-1999 (SADER, 1999). Las coordenadas del municipio son 20°31'14" al norte y 99°53'45" al oeste, con una altitud media de 1870 msnm. El clima que predomina es estepa local. Se presenta una temperatura media anual de 17.2°C con precipitación total anual promedio de 754 mm (SEMARNAT, 2019). En Tequisquiapan, los veranos son cortos y las temperaturas más altas se encuentran entre los meses de abril y mayo (Climate-Data.org, 2021).

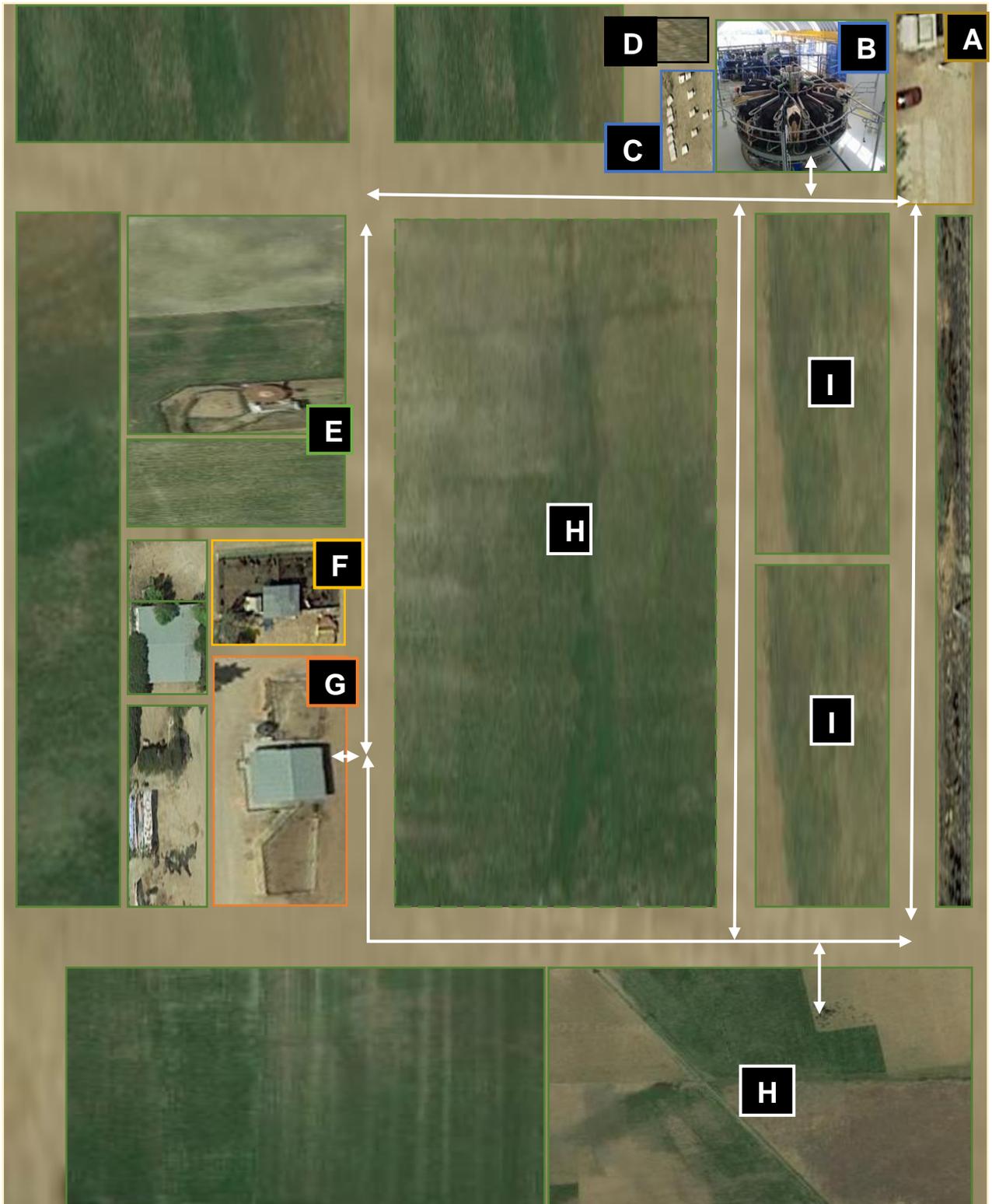


Figura 2. Mapa del módulo de bovinos productores de leche por área. En la siguiente figura se muestran las áreas de manejo (G y B) y donde se alojaban los animales (H) y las rutas (flechas blancas) que tomaban a la sala de ordeño dependiendo de la zona del potrero.

A: Entrada y salida del CEIEPAA; B: Sala de ordeño; C: Crianza; D: Desarrollo 1; E: Módulo de ciervos; F: Desarrollo 2; G: Corrales y manga de manejo; H: Potreros; I: Zonas de Cultivo.

Animales

Se utilizaron un total de 40 vacas lecheras de las que 23 vacas lactantes Holstein (H), 8 vacas Jersey (J) y 9 cruza de éstas (HJ) con un peso promedio de 500 kg que fueron distribuidas aleatoriamente en dos grupos, suplementadas con la fórmula de aceites esenciales vegetales en forma de bolos (AE+E, Ver cuadro 3 y figura 3), con el fin de disminuir la variabilidad en la dosis. Y el otro grupo no suplementadas que serán el grupo control (C). Se estableció un diseño por bloques completos y aleatorizados que incluyó la edad, número de parto y días en lactancia de: H=3.5±1.5; 1.8±1.1, 173.2±86.8; J= 6.5±3.6; 4±2.8; 239.6±0.7 y HJ= 4.1±1.1; 2.3±0.9; 114.1±0.5, respectivamente. Las vacas fueron alojadas en potreros rotacionales sin sombra durante un periodo experimental en la cual, la primera fase se llevó a cabo del 2 al 17 de mayo del 2021 y la segunda fase del 28 de mayo al 16 de junio del mismo año, con un periodo de descanso entre fases de 11 días de acuerdo con un diseño de estudio cruzado (Suchmacher y Geller, 2012; Dinu *et al.*, 2019). No fue necesario un periodo de adaptación durante los tratamientos debido a que los animales tenían más de dos semanas de exposición al calor de acuerdo con las medidas meteorológicas (Climate-Data.org, 2021). Durante el estudio, las vacas en producción fueron alimentadas considerando el requerimiento estimado en consumo de materia seca (MS)/día, con base en mediciones de MS en pradera. Estas asignaciones pueden variar de praderas mixtas y alfalfares ofrecidas de una a cinco veces al día, considerando la época del año, la calidad y cantidad del forraje ofrecido. Además, se complementa con pacas de alfalfa henificada y 1.5 Kg/día de concentrado comercial. Los requerimientos de agua fueron proporcionados a libre acceso, durante todo el día.

Cuadro 3.
Fórmula y dosis de ingredientes activos para el suplemento* de AE+E en bovinos de leche

Ingrediente o PA	mg/kg	Cada bolo contiene (mg/vaca de 600 kg) ®
Cloruro de sodio†	10	6,000
Cloruro de potasio†	20	12,000
Oleoresina de Capsicum‡	0.42	252
Cinnamomum zeylanicum (Canela en aceite) ‡	0.11	66
Syzygium aromaticum (L.) (Clavo en aceite) ‡	0.19	114
Cloruro de Calcio	2	1, 200
Vehículo		Cascarilla de arroz
Total		18,432

* El suplemento se administrará individualmente en forma de bolos

† De acuerdo con West, 1987; Alliance Consulting, 2001

‡ De acuerdo con Boyd *et al.*, 2012; Hagg, 2012; Benchaar *et al.*, 2015

® Se administrará un bolo por vaca al día



Figura 3. Diseño de bolos de AE+E realizado en el Laboratorio de Farmacología Veterinaria en la Facultad de Medicina Veterinaria, UNAM. Una vez diseñada la fórmula con base a la literatura (Cuadro 3), la manufactura de los bolos se realizó por personal capacitado en el laboratorio de la facultad.

Recopilación de datos

La determinación del índice de temperatura-humedad ambiental (ITH) se realizó tomando cada 4 horas diariamente durante todo el experimento con base a los parámetros ambientales que registra la Estación Meteorológica ubicada en el CEIEPAA con ayuda de una aplicación móvil (Weather Link®). El ITH se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{ITH} = (1.8 \times \text{TA} + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times \text{HR}) \times (1.8 \times \text{TA} - 26)],$$

en la que: TA es la temperatura ambiente expresada en grados, y HR es la humedad relativa (NRC, 1971; Bohmanova *et al.*, 2007).

Para cada día, se generaron los ITH mínimos, promedio y máximos. Sin embargo, se utilizó el ITH diario máximo en este estudio (Idris *et al.*, 2021) porque la producción de leche es más sensible a los valores extremos del ITH máximo en relación con el ITH promedio diario (Bernabucci *et al.*, 2014). Luego se clasificaron los ITH diarios para evaluar el grado de EC en el ganado de la siguiente manera: sin estrés calórico (<68), leve (68 a ≤71), moderado (72 a ≤79), severo (80 a ≤89) y probable choque calórico y muerte (>90) (Zimelman y Collier (2011).

Una vez alcanzados valores del ITH por encima del nivel crítico (>68) (Zimelman y Collier, 2011), se recolectaron diariamente los datos de producción de leche obtenidos de la unidad de producción y, se midieron variables fisiológicas como la frecuencia respiratoria (FR) y la temperatura superficial (Ts). La FR se midió a distancia de 2 a 3 metros, contando los movimientos del flanco durante 60 segundos dos veces al día (8:00 y 14:00 hrs.) y se calculó como tasa de respiración por minuto. La Ts de las vacas se determinó de forma no invasiva utilizando una cámara térmica infrarroja (Flir Systems®) en la cual se seleccionó un coeficiente de emisividad igual a 0.98 con un ángulo aproximado entre 30 y 45°. Las vacas se fotografiaron durante 6 veces al día: 00:00, 4:00, 8:00, 12:00, 16:00 y 20:00 hrs. La distancia entre el fotógrafo y las vacas se mantuvo no mayor a 2 metros, para obtener la Ts de 3 regiones corporales: la carúncula lagrimal del ojo izquierdo, el área torácica izquierda y el borde posterior de la ubre. Los sitios se eligieron en virtud de informes previos (Gloster *et al.*, 2011; Metzner, 2014; Daltro *et al.*, 2017; Idris *et al.*, 2021). Antes de la recolección de imágenes, los animales se llevaron a un área sombreada para evitar la interferencia de la

radiación solar y se tomaron las fotos después de un periodo mínimo de 10 minutos de aclimatación también, no se realizó la captura después de 1 a 2 horas de haber sido alimentadas para evitar factores de confusión debidos al incremento de calor.

Análisis estadístico

Los datos de volumen de producción de leche (Vle), frecuencia respiratoria (FR) y temperatura superficial (Ts) de cada zona se analizaron como un diseño completamente al azar usando análisis de mediciones repetidas mediante el procedimiento MANOVA de JMP® (JMP, 2013). El modelo incluyó los efectos del tratamiento, tiempo y sus interacciones como efectos fijos mientras que raza, número de parto y lactancia como bloques. Los datos de TS de vacas de la fase 1 y fase 2 se omitieron de todos los análisis cuando no se alcanzaba el ITH ajustado crítico de EC (≥ 74) (Herbut *et al.*, 2018), también se eliminaron los datos cuando las vacas presentaban actividad estral o fueron confirmadas enfermas. La significación estadística y las tendencias se consideraron en $P \leq 0.05$ y $P \geq 0.06$ a $P < 0.10$, respectivamente.

Análisis de cosinor³

Los datos del transcurso del tiempo en las dos fases se ajustaron a la forma lineal de una función coseno que mejor se ajusta utilizando “mínimos cuadrados” según (Bourdon *et al.*, 1995) con un periodo de 24 horas. Los parámetros circadianos resultantes por dicho análisis son: el mesor o valor medio de 24 h, la amplitud o la diferencia entre el pico y el mesor a ambos lados de la curva del coseno y, la acrofase, que es el momento en el que se produce el valor más alto encontrado en el ciclo. También se determinaron los límites de confianza del 95% para los parámetros circadianos antes mencionados (Bourdon *et al.*, 1995) y las diferencias de tratamiento se definieron como una diferencia de mesor, amplitud o acrofase superior a 1.96 veces la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de los errores estándar ($P < 0.05$; Knezevic 2008).

³ Analisis cosinor = Desarrollado originalmente para el análisis de series de datos cortos y dispersos, el análisis cosinor extendido ha evolucionado para el análisis de series temporales largas, centrándose tanto en la detección del ritmo como en la estimación de parámetros, sobre todo del tipo circadiano.

Resultados

Condiciones ambientales

Durante el periodo de estudio, las condiciones climáticas registradas variaron de templadas a cálidas. Las tendencias promedio de las condiciones climáticas se muestran en el Cuadro 4. La temperatura del aire diaria promedio durante la mañana fue aproximadamente 0.77°C más alta en la fase 2 que en la fase 1, mientras que por la tarde fue alrededor de 0.33°C más alto en la fase 1 a diferencia de la fase 2. Mientras que el promedio de la humedad relativa diaria de la mañana y la tarde registrada fue 4.8% y 4.5% más alta en la fase 2 que en la fase 1, respectivamente. Así, el ITH calculado registrado por la mañana osciló en la fase 1 y 2 entre 54 y 69 y, 56 y 65 respectivamente. Por la tarde el ITH osciló en la fase 1 y 2 entre 59 y 75 y, 61 y 76 respectivamente. Considerando los ITH máximos, el grado de EC durante la fase 1 fue leve y, en la fase 2 moderado solo en la tarde y en la mañana sin estrés calórico en ambas fases.

Cuadro 4.
Promedio de parámetros ambientales durante el experimento

		Mañana			Tarde		
		TA	HR	ITH	TA	HR	ITH
Fase 1	Min	12	34	54	15	13	54
	Max	22	97	69	30	89	69
	Promedio ± DE	15.9 ± 2.02	76.28 ± 18.08	60 ± 3	24.15 ± 3.59	44.54 ± 19.71	60 ± 3
Fase 2	Min	13	50	56	16	22	61
	Max	20	96	65	30	89	76
	Promedio ± DE	16.67 ± 1.79	81.1 ± 11.8	61 ± 3	23.82 ± 3.57	49.09 ± 18.4	69 ± 3

DE – Desviación estándar; HR – Humedad relativa (%); ITH – Índice de temperatura-humedad; TA – Temperatura ambiental (°C).

Volumen de leche y variables fisiológicas

Los resultados obtenidos con base a las mediciones del volumen de leche, frecuencias respiratorias y temperaturas superficiales en general, que incluyen las tres regiones medidas (carúncula lagrimal del ojo izquierdo, área torácica izquierda y el borde posterior de la ubre)

se muestran en el cuadro 5, en la que se muestran los promedios y desviación estándar de cada uno de éstos.

Usando el análisis de varianza de medidas repetidas, no encontramos una diferencia general entre los grupos de tratamiento con respecto al volumen de leche en las dos fases (Cuadro 5). Sin embargo, al aplicar un diseño por bloques, en la fase 1 se encontró una diferencia en vacas de 1^{er} parto ($P = 0.0305$) y en vacas de 3^{er} parto una tendencia a ser mayor para el grupo de AE+E ($P = 0.0640$, Figura 4). Además, se observó en el mismo grupo una tendencia a ser mayor la producción de leche en la raza Jersey ($P = 0.0929$, Figura 5) y en vacas que tenían edades de 2 y 5 años ($P = 0.0534$ y $P = 0.0516$, Figura 6). En la fase 2, se encontraron diferencias en que fueron tratadas, en lo que respecta al volumen de leche de vacas de 3^{er} parto ($P = 0.0069$) y en vacas con una edad de 5 años ($P = 0.0123$) (Figura 7).

Cuadro 5.
Promedio de variables fisiológicas y volumen de leche durante el experimento

Variables	Fase 1				Fase 2			
	Control		AE+E		Control		AE+E	
	Media \pm DE	Rango	Media \pm DE	Rango	Media \pm DE	Rango	Media \pm DE	Rango
Leche ¹	14.27 \pm 4.96 ^a	4.9-28.28	14.33 \pm 3.78 ^a	4.95-29	13.26 \pm 3.65 ^a	4.26-21.16	13.32 \pm 4.53 ^a	4.8-24.7
FR ²								
Mañana	23.03 \pm 5.3 ^a	12-36	23.64 \pm 4.87 ^a	12-36	23.60 \pm 6.85 ^a	12-42	23.33 \pm 6.32 ^a	12-48
Tarde	28.19 \pm 9.97 ^a	12-72	23.64 \pm 10.20 ^b	12-66	47.57 \pm 12.42 ^a	18-90	46.52 \pm 11.93 ^a	18-84
Ts ³	34.90 \pm 1.89 ^a	26.7-39.6	34.62 \pm 1.85 ^a	26.6-38.7	36.36 \pm 1.70 ^a	28.7-40.1	35.77 \pm 1.70 ^b	27.9-39.8

^{ab} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos

¹ Volumen de leche (Litros)

² FR= Frecuencia Respiratoria (respiraciones por minuto)

³Ts = Temperaturas superficiales en promedio de las 3 zonas medidas ($^{\circ}$ C)

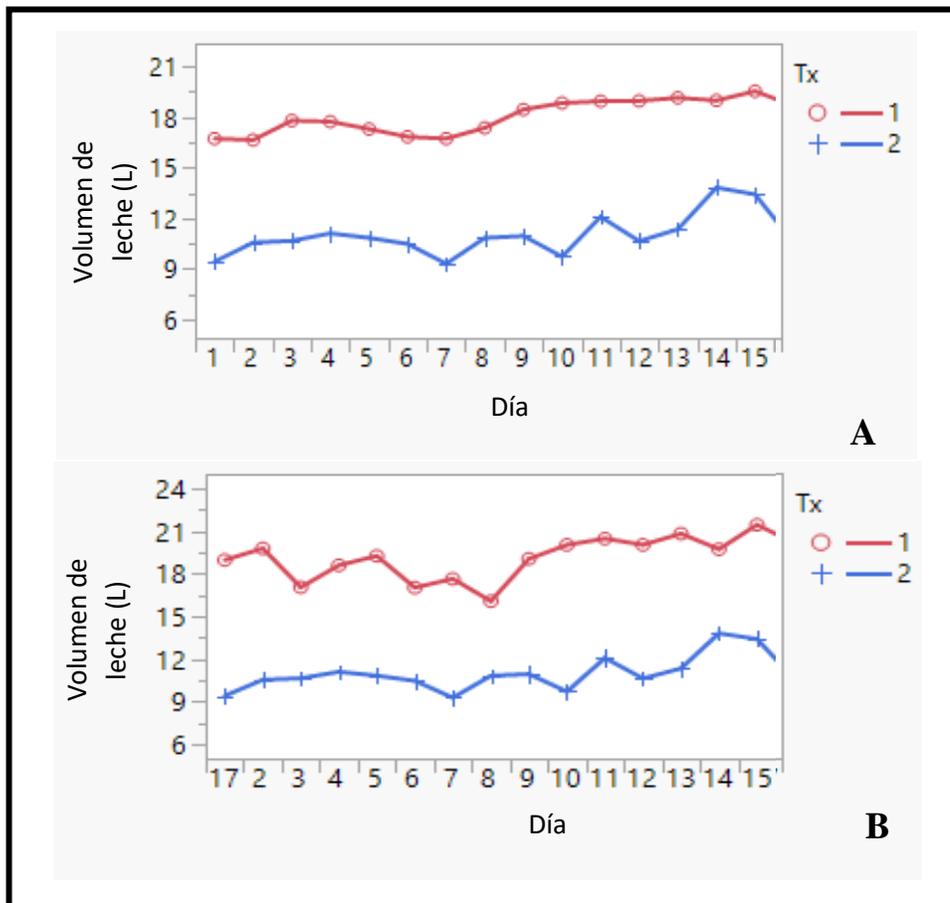


Figura 4. Diferencias entre los grupos de tratamiento con respecto al volumen de leche en vacas por parto en fase 1. Se observa una diferencia en vacas de 1^{er} parto ($P = 0.0305$, A) y una tendencia en vacas de 3^{er} parto ($P=0.0640$, B) entre los grupos tratados con un preparado de electrolitos y aceites esenciales (1) y los bovinos testigo no-tratados (2), en bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la fase 1.

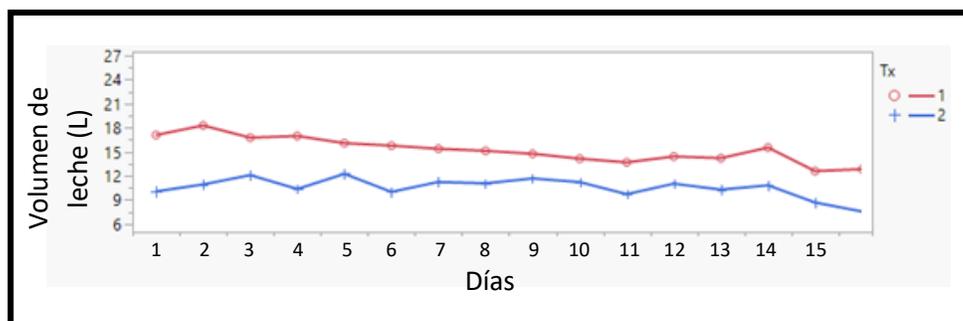


Figura 5. Diferencias entre los grupos de tratamiento con respecto al volumen de leche en vacas Jersey en la fase 1. Se observa una tendencia a ser mayor la producción de leche en las vacas suplementadas con AE+E:1, a diferencia del grupo control: 2 ($P = 0.0929$) de bovinos Jersey en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la fase 1.

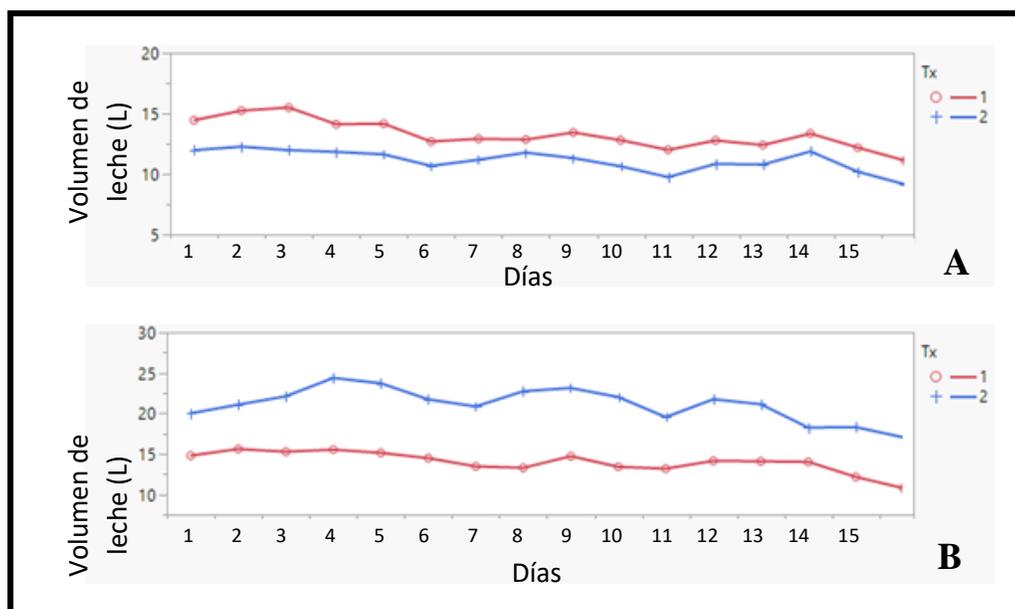


Figura 6. Volumen de leche por edad en vacas en los grupos de tratamiento en la fase 1. Se observa una tendencia a ser diferente el volumen de leche en vacas de 2 años ($P = 0.0534$, A) y en vacas de 5 años ($P=0.0516$, B), entre los grupos tratados con un preparado de electrolitos y aceites esenciales (1) y los bovinos testigo no-tratados (2), en bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la fase 1.

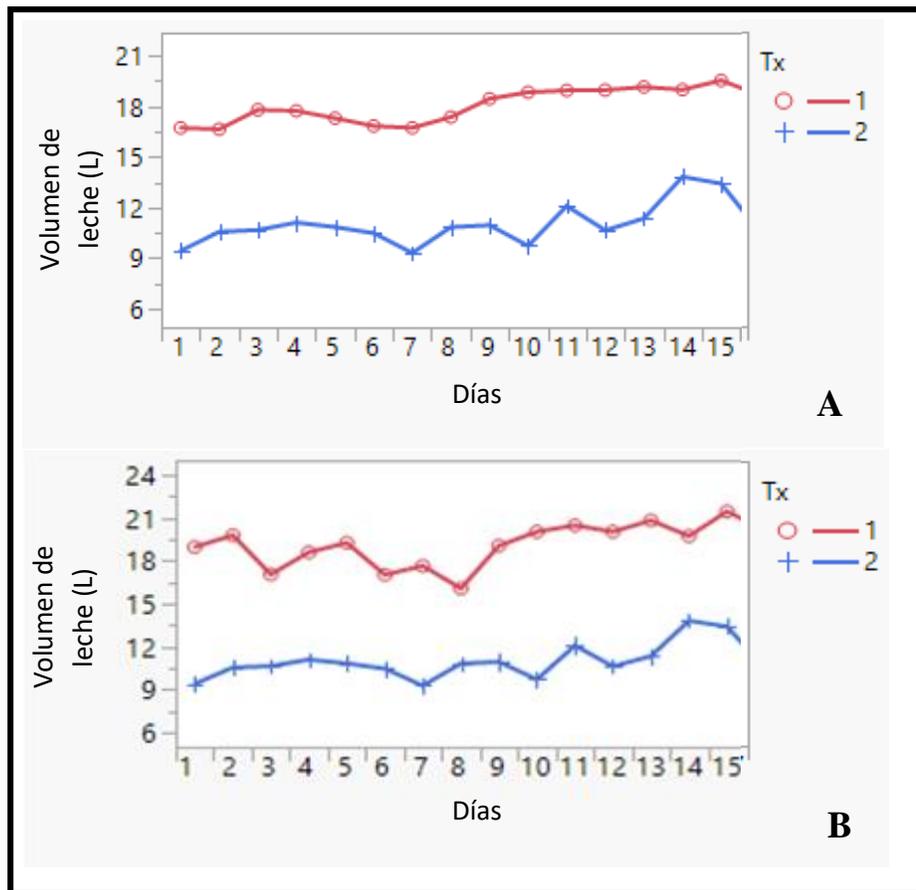


Figura 7. Volumen de leche obtenido en los grupos de tratamiento en la fase 2. Se observan tendencia a ser diferente el volumen de producción de leche entre el grupo suplementado con AE+E (1) y el control (2) en vacas de 3^{er} parto ($P = 0.0069$, A) y en vacas con una edad de 5 años (0.0516) en bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la fase 2.

En el caso de las FR en general, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento y testigos en ninguna de las dos fases (Cuadro 5 y Figura 8). Sin embargo, al analizarse las mediciones tomadas por la mañana y por la tarde en la fase 1, se observaron tendencias a ser mayores para el AE+E ($P = 0.0809$ y 0.0664 , respectivamente Figura 9). Esto es especialmente notable por la mañana en vacas de 4 años ($P = 0.0969$), y en lactación tardía ($P = 0.0696$) y, en el caso de la tarde, hubo tendencia en vacas de 1^{er} parto ($P = 0.0930$).

A diferencia de la fase 2, que solo se encontró una tendencia en vacas de 4° parto a ser mayor en el grupo suplementado con AE+E ($P = 0.0843$, Figura 10).

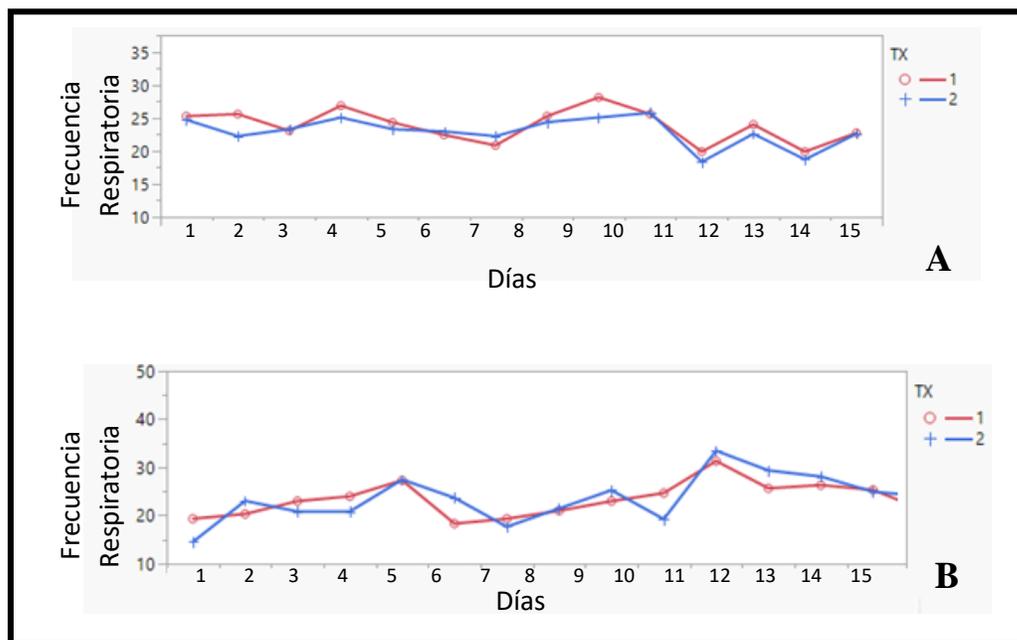


Figura 8. Frecuencias respiratorias obtenidas en los grupos de tratamiento durante la fase 1 y 2. No se observan diferencias en las frecuencias respiratorias (resp/min) registradas entre los grupos tratados con un preparado de electrolitos y aceites esenciales (1) y los bovinos testigo no-tratados (2), en bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la fase 1 (A) y la fase 2 (B).

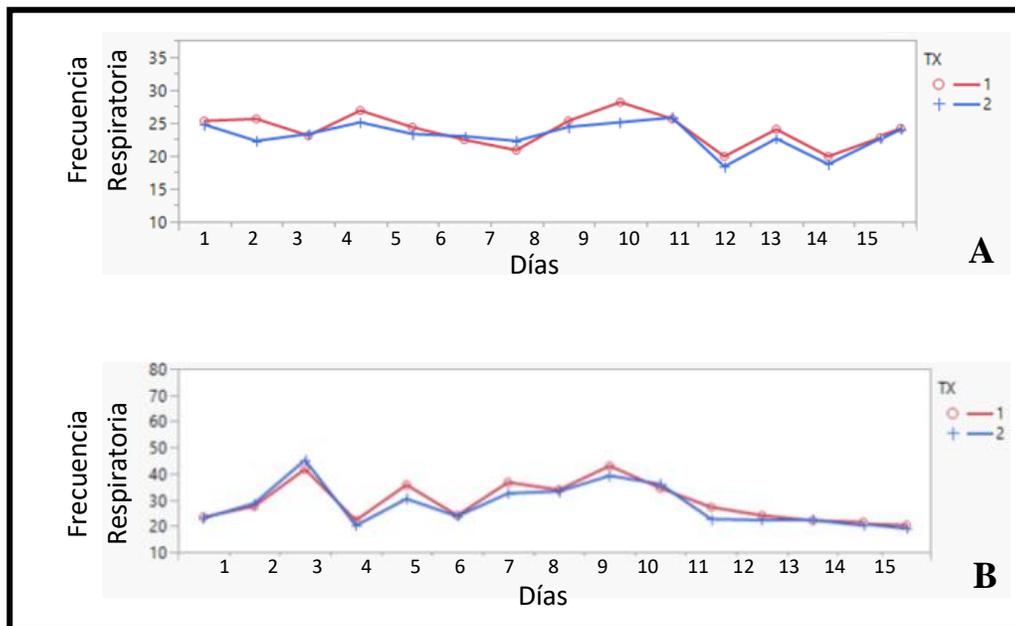


Figura 9. Frecuencias respiratorias obtenidas en los grupos de tratamiento durante la mañana y tarde de la fase 1. Se observan tendencias a ser mayores las frecuencias respiratorias (resp/min) registradas entre los grupos tratados con un preparado de electrolitos y aceites esenciales (1) a diferencia de los bovinos testigo no-tratados (2), en bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la mañana (A) y la tarde (B) de la fase 1.

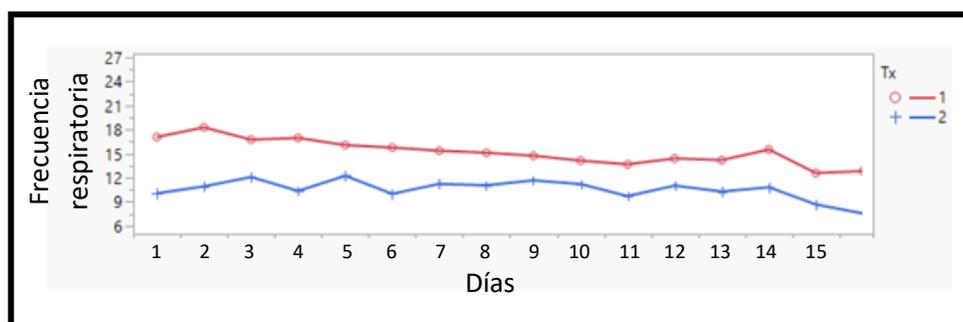


Figura 10. Frecuencias respiratorias obtenidas en los grupos de tratamiento durante la tarde en la fase 2 en vacas de 4º parto. Se observan tendencias a ser mayores las frecuencias respiratorias (resp/min) registradas entre los grupos tratados con un preparado de electrolitos y aceites esenciales (1) a diferencia de los bovinos testigo no-tratados (2), en bovinos

Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) de 4º parto en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la tarde de la fase 2.

Respecto a las temperaturas superficiales medidas en los grupos control y tratamiento medidas en las regiones de la carúncula lagrimal del ojo izquierdo (OI), el área torácica izquierda (TI) y el borde posterior de la ubre (PU) durante la fase 1 y 2, se engloban en el cuadro 6 junto con sus medidas de tendencia central y de dispersión para estas variables, con sus respectivas diferencias. Así mismo, específicamente en el cuadro 7 se presentan los resultados encontrados por zona de medición (OI, TI y PU). En general, durante la fase 1 no se encontraron diferencias en la temperatura superficial de las 3 zonas medidas, mientras que para la fase 2 si se encontraron diferencias en la que las Ts fueron menores para el grupo AE+E (P = 0.0014, Figura 9).

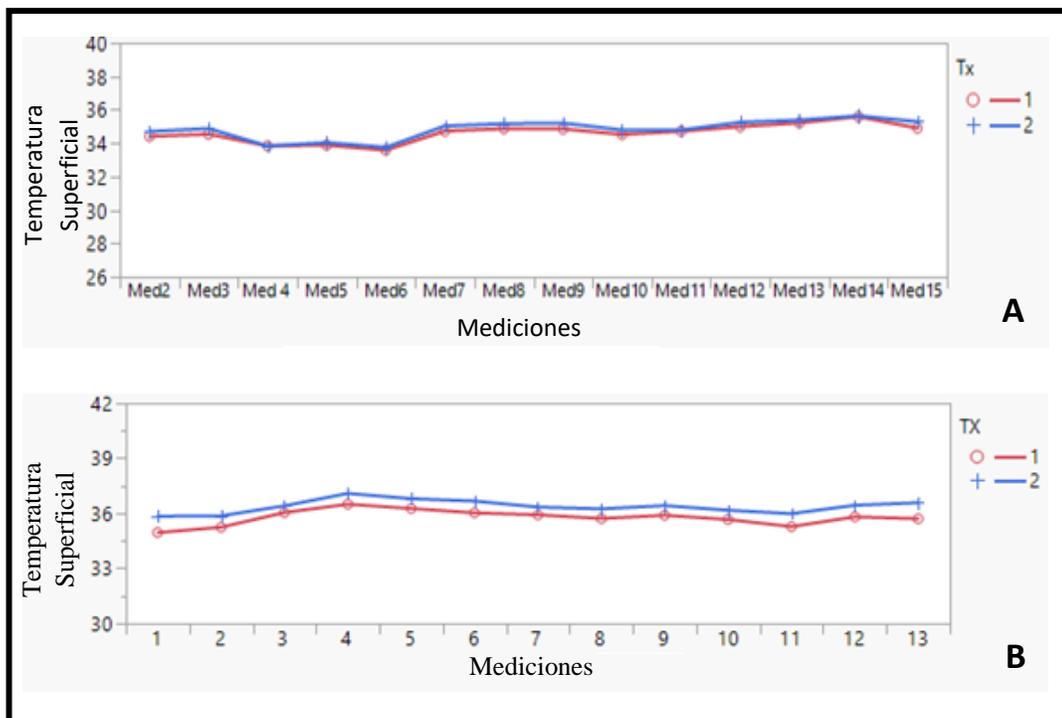


Figura 11. Temperaturas superficiales promedio de las 3 zonas medidas durante el experimento. No se observan diferencias en el promedio de la temperatura superficial (°C) en 3 zonas medidas (carúncula lagrimal del ojo izquierdo, área torácica izquierda y el borde

posterior de la ubre) entre los grupos suplementados con AE+E (1) y los no tratados (2) en bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) durante la fase 1 ($p=0.3718$, A), mientras que en la fase 2 si hubo diferencias incluyendo las 3 zonas medidas, siendo menor la temperatura superficial en el grupo suplementado con AE+E ($p=0.0014$).

Al no haber diferencias en general en las Ts por tanto no hubo diferencias en ninguna de las 3 zonas: carúncula lagrimal del ojo izquierdo, área torácica izquierda y el borde posterior de la ubre ($P=0.2748$, 0.9442 , 0.2523 , respectivamente), sin embargo, al aplicarse otros bloques al diseño experimental que incluyen las 3 zonas de temperatura medidas, encontramos que en la fase 1 observamos diferencias en vacas de 2 años, de 1^{er} parto y en la raza Holstein ($P = 0.0193$, 0.0384 y 0.0106 , respectivamente), las cuales estaban relacionadas entre sí ya que la mayoría de las vacas Holstein tenían 2 años y eran de 1^{er} parto. Por otro lado, se observó una tendencia en vacas de lactancia tardía ($P = 0.0606$), de las cuales la mitad de éstas eran vacas Holstein y las otras Jersey (Figura 13).

Para la fase 2 también existen diferencias en vacas Holstein, de 2 años, de 1^{er} parto ($P = 4.203 \times 10^{-6}$; 4.792×10^{-5} ; 3.542×10^{-6} , respectivamente, Figura 14) con la divergencia de ser diferente en todas las etapas de lactancia: temprana, media y tardía ($P = 0.0404$, 0.0017 y 1.055×10^{-4} , respectivamente, Figura 15). Asimismo, se identificó una tendencia en vacas de 2^o parto ($P = 0.0680$). Algunas medidas de tendencia central y de dispersión para estas variables durante la fase 1 y 2, junto con sus respectivas diferencias, se presentan en el cuadro 6.

Cuadro 6.
Promedio de 3 zonas de temperatura superficial mediante termografía infrarroja
durante el experimento en vacas lecheras del altiplano mexicano

Variables	Hora	Fase 1				Fase 2			
		Control		AE+E		Control		AE+E	
		Media ± DE	Rango	Media ± DE	Rango	Media ± DE	Rango	Media ± DE	Rango
Ts Z1 ¹	Mañana	34.62 ± 1.2 ^a	31.5-37.3	34.13 ± 1.25 ^a	29.3-36.9	36.96 ± 0.92 ^a	33.7-39	36.26 ± 1.04 ^b	32.3-38.8
	Tarde	37.03 ± 0.81 ^a	35-39.2	36.75 ± 0.73 ^a	34.5-38.4	37.78 ± 0.6 ^a	36.2-40.1	37.42 ± 0.63 ^b	35.1-39.5
	Noche	33.65 ± 1.62 ^a	28.2-37.5	33.65 ± 1.49 ^a	29-36.6	36.59 ± 0.97 ^a	33.3-38.4	35.7 ± 0.86 ^b	33.1-37.8
Ts Z2 ²	Mañana	32.98 ± 1.16 ^a	29.8-35.6	32.69 ± 1.36 ^a	28.5-35.8	34.05 ± 1.38 ^a	30.3-37.5	33.6 ± 1.33 ^a	29-36.7
	Tarde	36.21 ± 1.03 ^a	34-39.1	36.03 ± 1.10 ^a	32.1-38.3	36.86 ± 1.06 ^a	33.8-39.7	36.42 ± 1.08 ^a	33.2-39
	Noche	31.76 ± 1.98 ^a	26.7-36	31.63 ± 1.92 ^a	26.6-35.8	33.05 ± 1.58 ^a	28.7-36.3	32.49 ± 1.55 ^a	27.9-36.7
Ts Z3 ³	Mañana	35.58 ± 1.02 ^a	32.9-38	35.29 ± 0.95 ^a	32.6-37.8	37.17 ± 0.84 ^a	35-39.7	36.51 ± 0.91 ^b	32.4-38.5
	Tarde	37.47 ± 0.79 ^a	35-39.6	37.18 ± 0.72 ^a	35.2-38.7	38.17 ± 0.66 ^a	36-39.6	37.66 ± 0.70 ^b	35.7+39.8
	Noche	34.85 ± 1.58 ^a	30-38.4	34.26 ± 1.43 ^a	29.5 - 36.9	36.62 ± 0.88 ^a	33.1-38.6	35.88 ± .84 ^b	32.5-37.7

^{ab} Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (p<0.05) entre los tratamientos

¹ Ts Z1 = Temperaturas superficiales en carúncula lagrimal del ojo izquierdo (°C)

² Ts Z2 = Temperaturas superficiales en área torácica izquierda (°C)

³ Ts Z3 = Temperaturas superficiales en borde posterior de la ubre (°C)

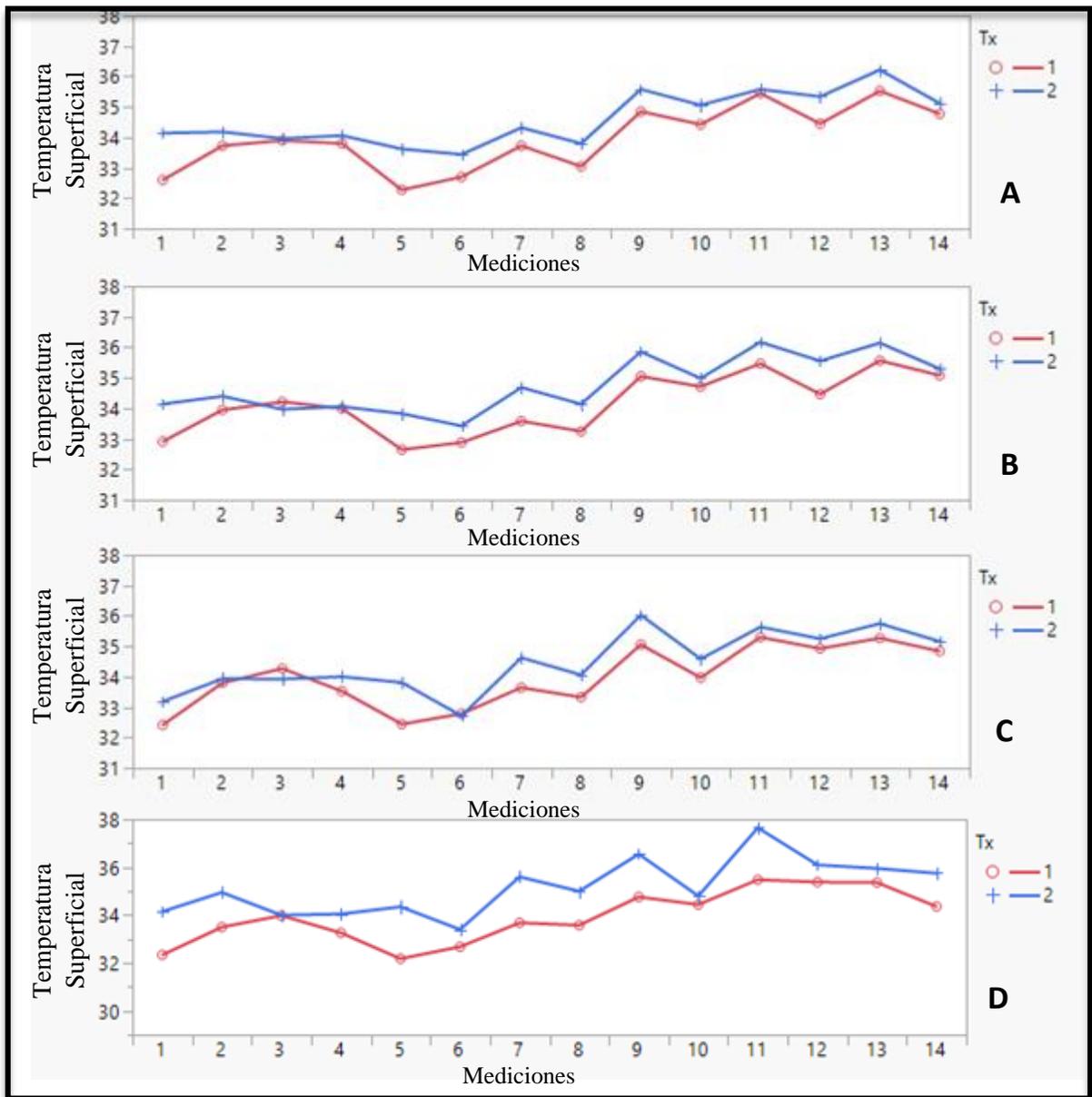


Figura 12. Temperaturas superficiales promedio por bloques en las 3 zonas medidas durante la fase 1. Se observan disminuciones en el promedio de la temperatura superficial (°C) en 3 zonas medidas (carúncula lagrimal del ojo izquierdo, área torácica izquierda y el borde posterior de la ubre) en los grupos suplementados con AE+E (1) en comparación con los no tratados (2) en vacas de 2 años (A), de 1^{er} parto (B) y en la raza Holstein (C) (P=0.0193,

0.0384 y 0.0106, respectivamente), mientras que hubo una tendencia a ser diferente en las vacas de lactancia tardía (D, $P=0.0606$) durante la fase 1 del experimento llevado a cabo en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.).

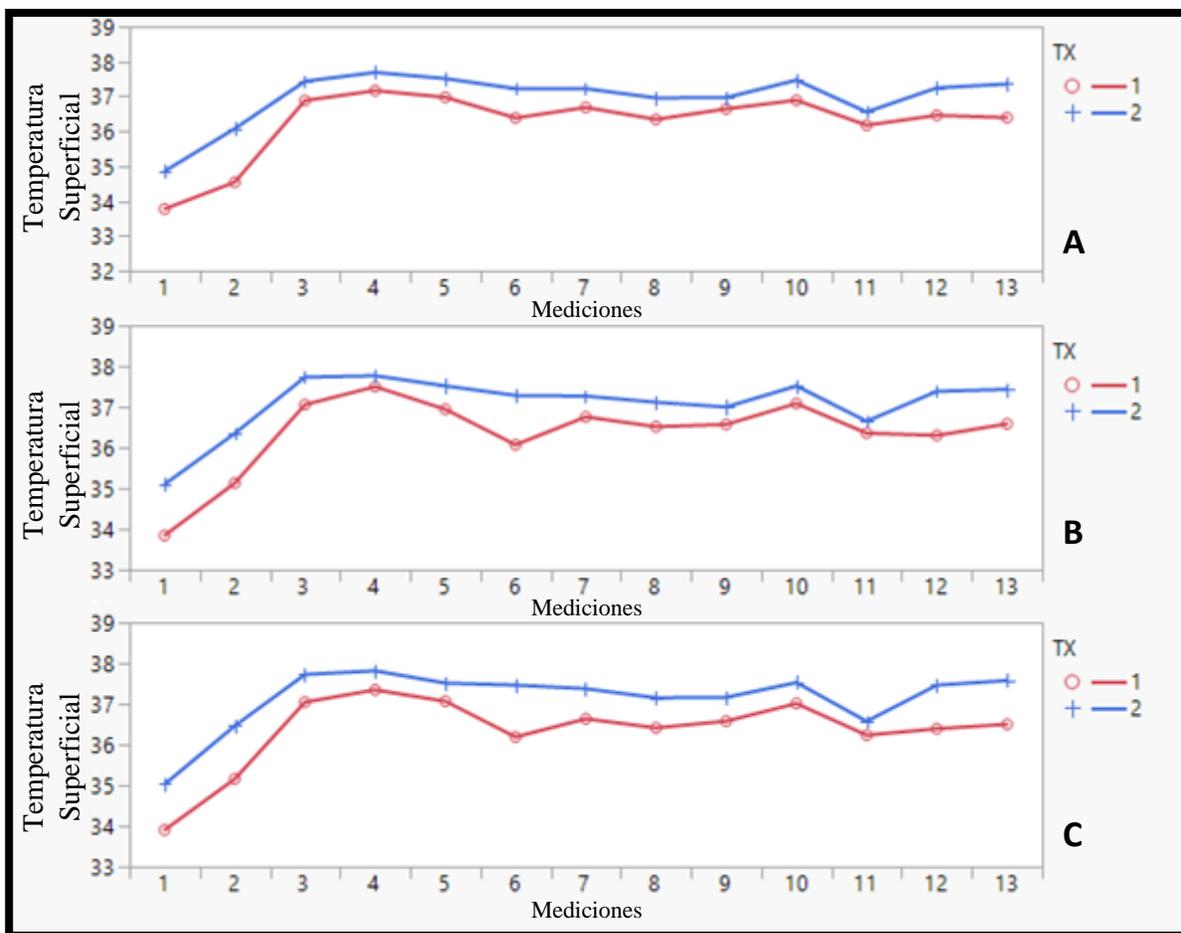


Figura 13. Temperaturas superficiales promedio por diferentes bloques en las 3 zonas medidas durante la fase 2. Se observan disminuciones en el promedio de la temperatura superficial ($^{\circ}\text{C}$), englobando las 3 zonas medidas (carúncula lagrimal del ojo izquierdo, área torácica izquierda y el borde posterior de la ubre), en los grupos suplementados con AE+E (1) en comparación con los no tratados (2) en vacas de 2 años (A), de 1^{er} parto (B) y en la raza Holstein (C) ($P = 4.203 \times 10^{-6}$; 4.792×10^{-5} ; 3.542×10^{-6} , respectivamente) durante la fase 2 del experimento llevado a cabo en bovinos lecheros del altiplano (Tequisquiapan, Qro.).

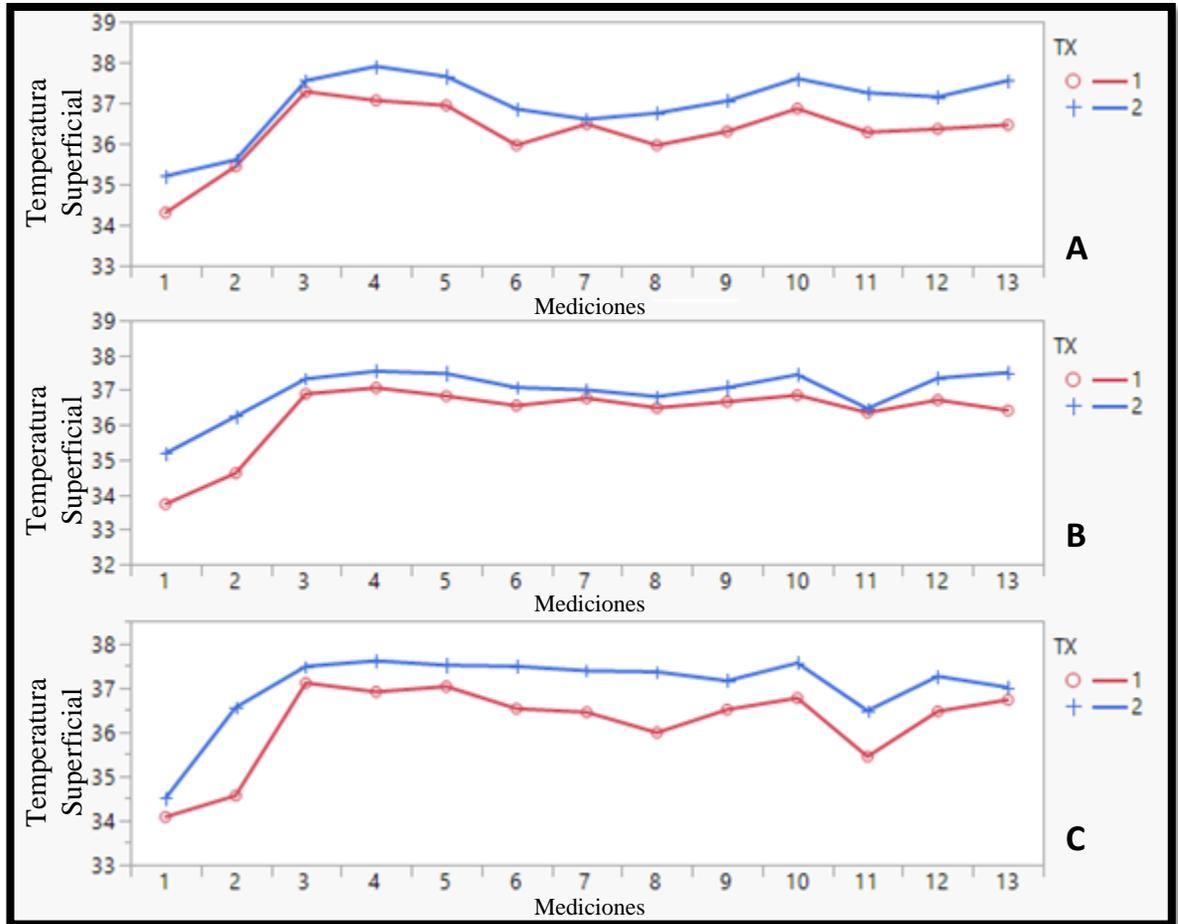


Figura 14. Temperaturas superficiales promedio por etapa de lactancia de las 3 zonas medidas durante la fase 2. Se observan disminuciones en el promedio de la temperatura superficial ($^{\circ}\text{C}$), englobando las 3 zonas medidas (carúncula lagrimal del ojo izquierdo, área torácica izquierda y el borde posterior de la ubre), en los grupos suplementados con AE+E (1) en comparación con los no tratados (2) en vacas de lactancia temprana, media y tardía ($P = 0.0404, 0.0017$ y 1.055×10^{-4} , respectivamente) en la fase 2 del experimento llevado a cabo en bovinos lecheros del altiplano (Tequisquiapan, Qro.).

Se calcularon las variables de ritmo circadiano sobre la temperatura superficial, medida en la región de la carúncula lagrimal del ojo izquierdo, el área torácica izquierda y el borde posterior de la ubre, durante un periodo de 24 horas (Cuadro 7) y fueron separados por fase y grupo de tratamiento. Dado que el trabajo se realizó en época de Pandemia (COVID-19) del 28 de mayo al 16 de junio de 2021, no se contó con ninguna ayuda para tomar las

temperaturas de los animales. De tal suerte que fue materialmente imposible tomar cada hora la temperatura en tres sitios de todos los animales. Por esta razón se eligió el análisis de Cosinor descrito por Bourdon *et al.* (1995) el cual, incluso con valores faltantes, puede revelar si hay una tendencia circadiana con ayuda de una función de resolución. Por lo que los valores del mesor en las dos fases, tuvieron un promedio menor, aun siendo significativos. Así, las Ts de las 3 zonas, tanto en el grupo de tratamiento como en el control, exhibieron un ritmo circadiano significativo ($P < 0.05$). Pero al realizar el método de Knezevic (2008), no hubo diferencias entre el grupo suplementado y el control en ninguna de las fases y para cada zona medida ($P > 0.05$).

Dado que se presentó un resultado significativo sobre la Ts solo en el grupo del tratamiento de la fase 2, se realizó un análisis similar que, mostró valores estadísticamente significativos ($P < 0.05$) en ambas fases, cuando se incorporó una relación precisa de los datos reales y los datos de predicción tomados como el punto de intersección de una línea entre temperaturas reales y la hora del día. En las figuras 5 y 6 se muestran las tendencias promedio de las Ts de la fase 1 y fase 2 tanto para ojo como ubre, al igual que los datos de su regresión polinomial obtenida mediante el programa Origin Pro^{®4}, en las que se observan tendencias positivas entre la temperatura superficial del ojo y ubre con respecto al ITH y un efecto debido al suplemento de AE+E en experimentación.

⁴ Origin Lab Corporation, Northampton, MA, USA

Cuadro 7.

Ritmometría Cosinor de la temperatura superficial en 3 zonas de vacas lecheras del altiplano mexicano durante el experimento

Zona de temperatura	Parámetros circadianos	Fase 1				Fase 2							
		Control		Tratamiento		Control		Tratamiento					
		Calc	±	lím conf	Sig.	Calc	±	lím conf	Sig.	Calc	±	lím conf	Sig.
Ojo izquierdo	M [†]	25.4	±	2.139		24.87	±	2.12		26.5	±	2.19	
	A	18.9	±	7.628	1.0276X10 ⁻⁵	18.52	±	7.45	8.38079X10 ⁻⁶	19.4	±	8.22	1.7229X10 ⁻⁵
	AØ	13.9	±	1.588		14.04	±	1.58		14	±	1.67	
Flanco izquierdo	M [†]	24.71	±	2.11		24.15	±	2.09		25.12	±	2.13	
	A	18.69	±	7.19	4.4767X10 ⁻⁶	18.18	±	7.09	5.4835X10 ⁻⁶	18.89	±	7.39	5.6428X10 ⁻⁶
	AØ	14.04	±	1.51		14.02	±	1.53		14	±	1.53	
Ubre posterior	M [†]	25.90	±	2.16		25.5	±	2.14		26.7	±	2.20	
	A	19.19	±	7.83	1.0276X10 ⁻⁵	18.93	±	7.65	8.97625X10 ⁻⁶	19.5	±	8.29	1.7923X10 ⁻⁵
	AØ	13.98	±	1.61		13.96	±	1.59		14	±	1.68	

Se utilizó el programa de hoja de cálculo Excel® para el análisis del cosinor descrito por Bourdon *et al.* (1995). Las abreviaturas son: A= Amplitud; AØ= Acrofase expresada en horas; calc= son las variables calculadas; lím conf.= límites de confianza; M= Mesor o valor medio de la temperatura superficial en °C; Sig.= significancia estadística. † Dicho análisis de cosinor se permite usar en el caso de datos faltantes, por eso todos los mesor tuvieron un promedio menor.

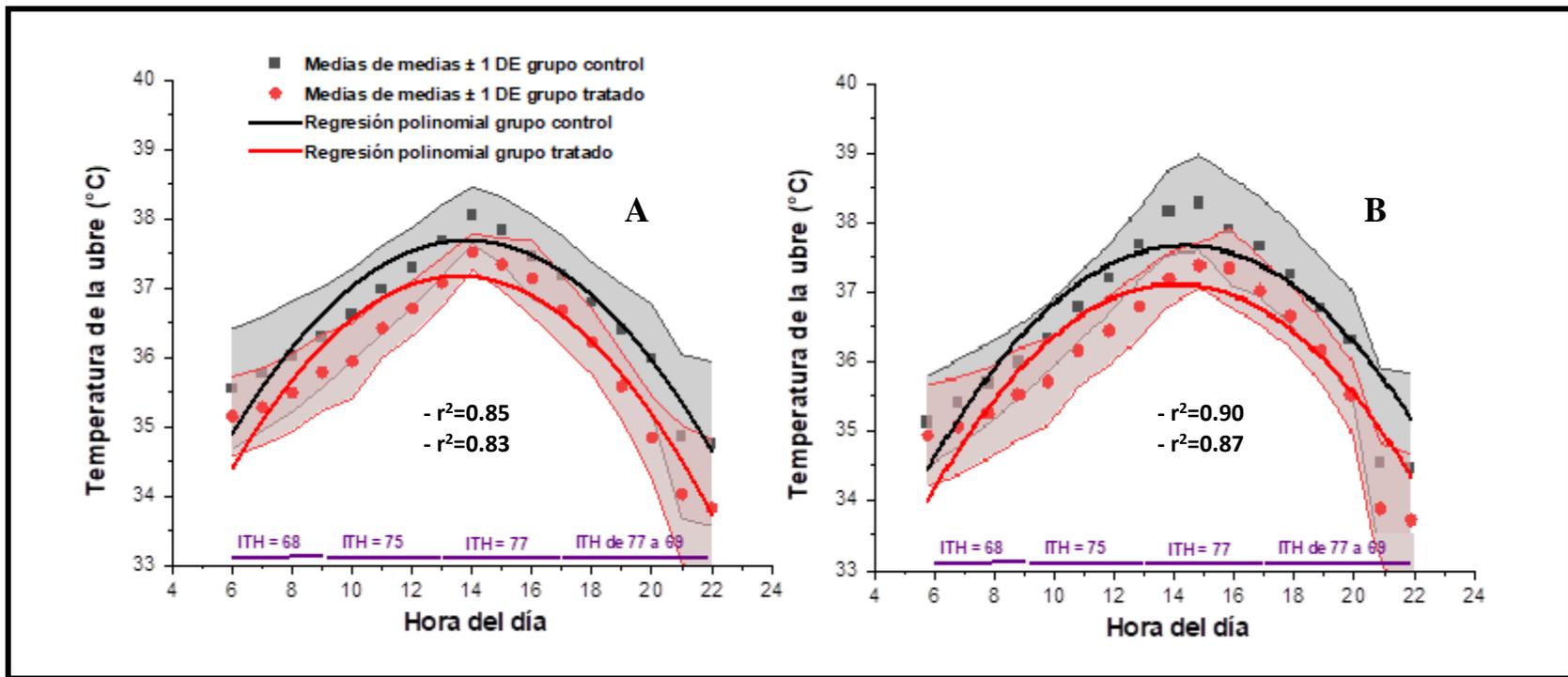


Figura 15. Media de medias (\pm 1DE en sombra) y regresiones polinomiales de las temperaturas superficiales en ubre y ojo de bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) a lo largo del día de la fase 1. Se observan aparentemente tendencias positivas entre las temperaturas superficiales ($^{\circ}$ C) registradas en ubre (A) y en ojo (B) a distancia mediante Cámara termográfica FLIR® de bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) a lo largo del día. Se señalan los bovinos testigo no-tratados y los bovinos suplementados con AE+E (Fase 1). En el eje de las “X” se presentan los índices de temperatura/humedad (ITH) registrados en 4 horarios y sus respectivas correlaciones con respecto a las temperaturas superficiales.

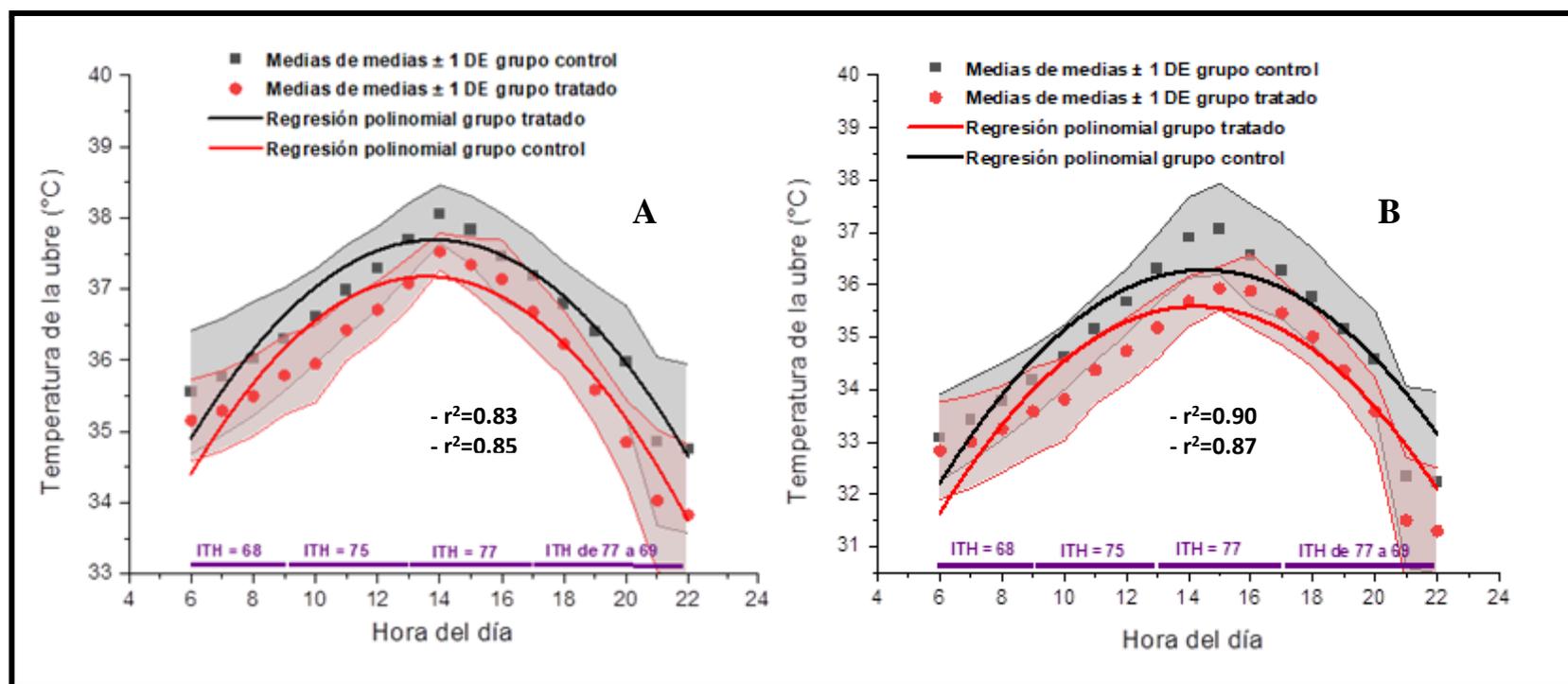


Figura 16. Media de medias (± 1 DE en sombra) y regresiones polinomiales de las temperaturas registradas en ubre y ojo a distancia de bovinos Holstein, Jersey y cruzas de éstas, en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) a lo largo del día durante la fase 2. Se observan aparentemente tendencias positivas entre las temperaturas superficiales ($^{\circ}$ C) registradas en ubre (A) y en ojo (B) a distancia mediante Cámara termográfica FLIR® de bovinos Holstein, Jersey y F1 (Holstein/Jersey) en el altiplano (Tequisquiapan, Qro.) a lo largo del día. Se señalan los bovinos testigo no-tratados y los bovinos suplementados con AE+E en la fase 1. En el eje de las “X” se presentan los índices de temperatura/humedad (ITH) registrados en 4 horarios y sus respectivas correlaciones con respecto a las temperaturas superficiales.

Discusión

Se reconoce mundialmente que el EC es responsable de una disminución en el rendimiento productivo y reproductivo, y por las condiciones del cambio climático su importancia en la industria animal está siendo más evidente. Además de las estrategias de agregar sombras y sistemas de enfriamiento del ganado, se necesita el desarrollo de nuevas estrategias farmacológicas a fin de mitigar en lo posible el impacto comentado. Este estudio evaluó el efecto de un suplemento a base de aceites esenciales vegetales y electrolitos en vacas lecheras del altiplano mexicano con el objetivo de contrarrestar o mitigar los efectos negativos del EC sobre algunas variables fisiológicas; esto es: la frecuencia respiratoria, la temperatura corporal, el volumen lácteo y el ritmo de los cambios en la temperatura corporal.

En ambas fases de este estudio (inicial y en el cruce de grupos), el ITH nunca fue superior a 76 y por las mañanas estuvo por debajo del umbral crítico. Las diferencias en el ITH entre la mañana y la tarde, con valores más altos de temperatura y humedad relativa en la tarde, indican que los animales fueron desafiados a estrés calórico de leve a moderado durante la tarde (Burgos Zimbelman y Collier, 2011). Durante las dos fases, las vacas tanto del grupo testigo como del tratamiento, aumentaron su FR hasta 90 y 84 respiraciones por minuto (resp/min), respectivamente. Liu *et al.* (2019) encontraron que el ITH afecta significativamente la FR e incluso se informa un aumento de 3 a 4 veces por encima del valor de referencia (60 resp/min) con cada °C que se eleva por encima de 21.3°C, alcanzando hasta 200 resp/min (Mader *et al.*, 2006; Musadiq *et al.*, 2021). Es claro que para regular la temperatura corporal se aumenta la respiración (Kuth y Farmery, 2021; Mota Rojas *et al.*, 2021). No obstante, no se había investigado el efecto de tres aceites esenciales más electrolitos en esta respuesta. Un único dato al respecto fue descrito con la combinación de una mezcla de levaduras y los 3 aceites esenciales utilizados en este estudio (Boyd *et al.*, 2012). En ese estudio la tasa de respiración durante las condiciones de EC moderado se incrementó en vacas lecheras y no fue diferente entre el grupo control y el grupo tratado. Entonces, en primera instancia podría pensarse que la elevación de las FR es independiente de si los animales están o no suplementados con una mezcla de aceites esenciales.

Aún los mecanismos por los cuales se activa el enfriamiento evaporativo aún no están claros (Mota Rojas *et al.*, 2021). Dados estos datos, quizá sea más congruente pensar en el efecto farmacológico de la capsaicina, ya que pudiera favorecer el jadeo, propio de la termorregulación y, por ende, aumentar el porcentaje de pérdida de calor a través del tracto respiratorio, sin embargo, aún es necesario realizar nuevos estudios. Se sabe que buena parte de los efectos de la capsaicina, los logra a través de su interacción con los denominados receptores transitorios vainilloide-1 transitorios (TRPV-1 por sus siglas en inglés) lo que provoca un efecto de moderada disminución de la temperatura corporal (Szolcsányi, 2004). Lo que concuerda con los resultados de control de la temperatura corporal que se obtuvo en este ensayo, en el que se observó temperaturas menores para el grupo de tratamiento durante la fase 2 y de acuerdo con Rhoads *et al.* (2010) quienes, usaron una mezcla de aceites similar a la descrita en este ensayo y, se encontró una tendencia a disminuir la temperatura corporal en vacas suplementadas con una temperatura rectal reducida a la 13:00 h. Sin embargo, y en contraste con este estudio, Boyd *et al.* (2012) no encontraron diferencias en la temperatura corporal entre los tratamientos.

Con respecto a los resultados en las diferencias entre razas en el presente estudio, existió una tendencia a ser mayor la producción de leche en vacas Jersey y a disminuir la temperatura corporal en vacas Holstein que consumían el suplemento de AE+E. Se informa que, en términos de producción de leche, las vacas Jersey producen 68% más que las vacas Holstein (63%) cuando se expusieron a 34°C, por lo que se considera que las vacas Jersey son más resistentes al calor y más termo-tolerantes debido a las diferencias en la capacidad de la frecuencia respiratoria y la relación entre el área de superficie corporal/masa (Bernabucci *et al.*, 2014). Por lo que nuevamente, al tener más desventajas las vacas Holstein, se atribuye el efecto de la capsaicina sobre su termorregulación.

Es importante puntualizar que una recopilación de las investigaciones disponibles, obtenida a partir de las bases de datos de la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM⁵, reveló que se han publicado unos cuantos estudios que han evaluado los efectos potenciales de los aceites esenciales *in vivo* y como se detalló las respuestas han sido variables. La mayor

⁵ Bases de datos como Agris, Vet-CD, Biological Abstracts, MedLine, Elsevier, entre otras (<https://dgb.unam.mx/>), última consulta en abril, 2022.

proporción de estos estudios se enfoca a evaluar los efectos de la suplementación de diversas sustancias, incluyendo aceites esenciales, en la producción y composición de la leche, la ingesta diaria de alimento y la fermentación ruminal. Este estudio es pionero en evaluar los efectos de AE sobre la temperatura superficial mediante termografía infrarroja y por ello no es factible hacer comparaciones directas y específicas con otros que tomaron temperaturas de manera más invasiva. La naturaleza no invasiva de la termografía infrarroja permite recopilar información sobre la adaptabilidad al EC sin añadir factores de estrés y considerando las múltiples variaciones de la temperatura ambiental dadas por una ráfaga de viento, la presencia de una sombra, el estado de reposo o actividad del animal, etc. (McCafferty *et al.*, 2015; Macmillan *et al.*, 2019; Hoffman *et al.*, 2020).

También, en la evaluación del volumen de leche producido, se detectó una interacción de paridad por tratamiento. De tal suerte que la producción de leche aumentó tanto en vacas primíparas como multíparas. El impacto negativo del EC sobre el volumen de leche indica que las vacas de 1er. parto son menos sensibles al EC que las vacas multíparas (Bernabucci *et al. et al.*, 2014). A pesar de esto, varios estudios sugieren que los efectos que tienen en la producción los fitonutrientes pueden depender de la paridad de las vacas lecheras (Tekippe *et al. et al.*, 2013; Wall *et al. et al.*, 2014; Elcoso *et al. et al.*, 2019). Aún no es claro porque las respuestas de la producción de leche al tratamiento difieren según la paridad del animal, pero al igual que el aumento en la susceptibilidad a otras enfermedades (mastitis), la pérdida gradual de capacidades vitales puede explicar este fenómeno, sin embargo, se requieren más estudios para definir los mecanismos que dan lugar a esto (Tassoul y Shaver, 2009).

Es aceptado universalmente que la temperatura corporal se eleva cuando los animales son expuestos a climas cálidos (Kendall *et al.*, 2007). Sin embargo y a pesar de las tendencias, los resultados obtenidos en este estudio muestran que no hubo cambios significativos entre los grupos de tratamiento sobre la temperatura corporal/superficial, considerando un ritmo circadiano de cambio en vacas lecheras. El patrón circadiano fue caracterizado por un nadir (el valor más bajo) en la noche y la acrofase en la tarde, similar a lo que reportan Kendall *et al.* (2008) y Shehab-El-Deen *et al.* (2010), midiendo las temperaturas vaginal y rectal y cuando el ITH sobrepasa el umbral crítico de 68. A pesar de que el mesor en este ensayo fue

mucho menor en comparación a otros estudios en el que se reporta un mesor de $38.3 \pm 1.4^{\circ}\text{C}$ (Piccione *et al.*, 2003) y 38.5°C (Kendall *et al.*, 2008), los resultados obtenidos en el altiplano mexicano en este estudio coinciden con Shehab-El-Deen *et al.* (2010). En ambas instancias, los valores más altos de la temperatura (rectal u ocular) determinaron una acrofase a las 15:00 hrs., en lugar de las 14:00 hrs. Las diferencias en la hora pueden deberse a las localizaciones geográficas y a que en este estudio se emplea por primera vez la termografía infrarroja como herramienta de medición de la temperatura superficial. Con respecto a las variables ambientales medidas, el altiplano mexicano tiene la ventaja durante temporadas de calor que, las vacas pueden tolerar temperaturas de aire diurnas relativamente altas, ya que se enfría lo suficiente durante la noche y no se alcanzan valores severos o de emergencia (West, 2003). Además, la temperatura ambiental es un sincronizador no fótico con un efecto de sincronización más débil que el de la luz y el arrastre estable requiere más tiempo en respuesta a los ciclos de temperatura que los ciclos de luz-oscuridad (Xie *et al.*, 2019). Por lo tanto, la duración del período se mantiene aproximadamente 24 horas a pesar de los cambios de temperatura. A pesar de esto, las consecuencias que se vaticinan como graves por el cambio climático invitan a la reflexión de si la compensación de la temperatura ambiental en las noches y con ello la intensidad que posee el ritmo circadiano en el EC, la producción y el bienestar animal, se verán afectados en un futuro. También el hecho de que las diferencias en las temperaturas superficiales no hayan alcanzado el nivel de significancia estadística necesaria y solo sea una tendencia entre los grupos en el presente estudio, puede indicar que el suplemento de AE+E no altera dicha variable, pero que definitivamente tiene un efecto dadas las mejoras en la producción, lo que puede reflejar la necesidad de aumentar la η y reevaluar si se pueden inducir modificaciones en el aprovechamiento de nutrientes, modificaciones en la reproducción y producción de las vacas lecheras y que esto sea el reflejo de mejoras en el bienestar animal (Güldür y Otlu, 2017).

Conclusión

A pesar de que en el altiplano mexicano no hay una condición de EC severo, los resultados de este estudio indican que la inclusión de aceites esenciales más electrolitos en dietas para vacas lecheras que experimentaron EC de nivel leve a moderado ayudó a aumentar la

producción de leche en vacas de 1^{er} y 3^{er} parto y también, ayudan a disminuir la temperatura superficial. Estos datos pueden resultar beneficiosos para afrontar los escenarios a los que la producción de leche se enfrenta, ante el calentamiento global. Este estudio también contribuye a definir el momento óptimo del día en el que se puedan optar medidas de enfriamiento de la vaca durante la acrofase del ritmo circadiano a fin de mitigar los efectos negativos del EC.

Abreviaturas

AE+E, suplemento de aceites esenciales más electrolitos; EC, estrés calórico; FR, frecuencia respiratoria; ITH, Índice de temperatura-humedad; Ts, Temperatura superficial

Referencias

Accorsi PA. Pacioni B. Pezzi C. Forni M. Flint DJ. Seren E. Role of prolactin, growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mammary gland involution in the dairy cow. *J Dairy Sci.* 2002; 85: 507-513.

Aggarwal A, Upadhyay R. Heat Stress and Animal Productivity. *Heat Stress and Hormones. India: Springer, 2013.*

Al-Chalabi M. Bass AN. Als Salman I. Physiology, Prolactin. [Serial on line] 2022 Jun [cited 2022 Ene 7]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507829/>

Aleena J. Pragna P. Archana PR. Sejian V. Bagath M. Krishnan G. Manimaran A. Beena V. Kurien EK. Varma G. Bhatta R. Review Article Significance of Metabolic Response in Livestock for Adapting to Heat Stress Challenges. *Asian J Anim Sci.* 2016.; 10 (4-5): 224-234.

Alemu TW. Pandey HO. Wondim DS. Gebremedhm S. Neuhof C. Tholen E. Holker M. Schellander K. Tesfaye D. Oxidative and endoplasmic reticulum stress defense mechanisms of bovine granulosa cells exposed to heat stress. *Theriogenology.* 2018; 110: 130-141. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.042>

Alves JC. Santos A. Jorge P. Lavrador C. Miguel Carreira L. Evaluation of digital thermography imaging to assess and monitor treatment of police working dogs with naturally occurring hip osteoarthritis. *BMC Vet. Res.* 2021; 17: 180. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02876-z>

Ammer, S. Lambertz C. Gauly M. Is reticular temperature a useful indicator of heat stress in dairy cattle? *J. Dairy Sci.* 2016. 99; 12: 10067-10076. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11282>.

Bagath M. Krishnan G. Devaraj C. Rashamol VP. Pragna P. Lees AM. Sejian V. The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review. *J Dairy Sci.* 2019; 126: 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.011>

Baumgard LH. Rhoads RP. Effects of Heat Stress on Postabsorptive Metabolism and Energetics. *Annu Rev Anim Biosci.* 2013; 1: 311–337. <https://doi:10.1146/annurev-animal-031412-103644> .

Berman A. Invited review: Are adaptations present to support dairy cattle productivity in warm climates? *J Dairy Sci.* 2011; 94: 2147-2158. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3962>

Becker CA. Collier RJ. Stone AE. Invited review: Physiological and behavioral effects of heat stress in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2020; 103 (8): 6751-6770.

- Belhadj Slimen I. Najar T. Ghram A. Abdrrabba M. Heat stress effects on livestock: molecular, cellular and metabolic aspects, a review. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2015; 10 (3): 401-412.
- Benchaar C. Petit HV. Berthiaume R. Whyte TD. Chouinard PY. Effects of Addition of Essential Oils and Monensin Premix on Digestion, Ruminant Fermentation, Milk Production, and Milk Composition in Dairy Cows. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 4352-4364. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72482-1
- Bernabucci U, Biffani S, Buggiotti L, Vitali A, Lacetera N, Nardone A. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2014, 97: 471-486.
- Bernabucci U, Lacetera N, Baumgard LH, Rhoads RP, Ronchi B, Nardone A. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *J Anim.* 2010,4:1167-1183.
- Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J Dairy Sci.* 2002; 85: 2173-2179.
- Bernabucci U. Basirico L. Morera P. Dipasquale D. Vitali A. Cappelli FP. Calamari L. Effect of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2015; 98 (3): 1815-1827. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8788>
- Bhanuprakash V. Singh U. Sengar G. Sajjanar B. Bhusan B. Raja TV. Alex R. Kumar S. Singh R. Kumar A. Alyethodi RR. Kumar S. Deb R. Differential effect of thermal stress on HSP70 expression, nitric oxide production and cell proliferation among native and crossbred dairy cattle. *J Therm Biol.* 2016; 59: 18-25.
- Bhojani RJ, Chahar A, Dewal VS, Parmar KP, Limba AK, Meena SK, Menna MK. Therapeutic management of heat stroke in HF cross bred cows. *IJAVMS* 2015; 9: 304-307.
- Binsiya TK. Sejian V. Bagath M. Krishnan G. Hyder I. Manimaran A. Lees AM. Gaughan JB. Bhatta R. Review Significance of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis to adapt to Climate Change in Livestock. *Int Res J Agric Food Sci.* 2016; 2: 1-20.
- Bohmanova J. Misztal I. Cole JB. Temperature-Humidity Indices as Indicators of Milk Production Losses due to Heat Stress. *J. Dairy Sci.* 2007; 90 (4): 1947-1956.
- Boni R. Review article: Heat stress, a serious threat to reproductive function in animals and humans. *Mol Reprod Dev.* 2019; 86 (10): 1307-1323. <https://doi.org/10.1002/mrd.23123>
- Boudjellaba S. Ainouz L. Tennah S. Temim S. Iguer-Ouada M. Reproduction performance and blood biochemical parameters in dairy cows: Relationship with oxidative stress status. *Vet World.* 2018; 11 (6): 883-888. doi: 10.14202/vetworld.2018.883-888
- Brown-Brandl TM. Eigenberg RA, Nienaber JA, Hahn GL. Dynamic response indicators of heat stress in shaded and non-shaded feedlot cattle, part 1: Analyses of indicators. *Biosyst. Eng.* 2005, 90: 451-462.

Busquet M. Calsamiglia S. Ferret A. Kamel C. Plant Extracts Affect In Vitro Rumen Microbial Fermentation. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 761-771. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72137-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72137-3)

Calamari, L., M. G. Maianti, F. Amendola, and G. Lombardi. 1999. On some aspects of the oxidative status and on antioxidants in blood of dairy cows during summer. Pages 449–451 in Proc. 13th Associazione Scientifica Produzioni Animali Congress, Piacenza, Italy. (Abstr.)

Calsamiglia S. Busquet M. Cardozo PW. Castillejos L. Ferret A. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci.* 2007; 90 (6): 2580-2595. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-644>

Cardozo P, Calsamiglia A, Ferret A, Kamel C. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J Anim Sci.* 2005, 83: 2572-2579.

Cardozo PW. Calsamiglia S. Ferret A. Kamel C. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. *J Anim Sci.* 2006; 84 (10): 2801-2808. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-593>

Cobellis G, Trabalza-Marinucci M, Marcotullio MC, Yu Z. Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria in vitro. *Anim Feed Sci Tech.* 2016, 215: 25-36.

Cartwright S.L. McKechnie M. Schmied J. Livernois AM. Mallard BA. Effect of in-vitro heat stress challenge on the function of blood mononuclear cells from dairy cattle ranked as high, average and low immune responders. *BMC Vet Res.* 2021; 17: 233. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02940-8>

Carvajal MA. Alaniz AJ. Gutiérrez-Gómez C. Vergara PM. Sejian V. Bozinovic F. Increasing importance of heat stress for cattle farming under future global climate scenarios. *Sci Total Environ.* 2021; 801: 149661. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149661>

Celi P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2011, 33: 233-240.

Chaiyabutr N, Chanpongsang S, Suadsong S. Effects of evaporative cooling on the regulation of body water and milk production in crossbred Holstein cattle in a tropical environment. *Int J Biometeorol.* 2008; 52: 575–585.

Chen S. Wang J. Peng D. Li G. Chen J. Gu X. Exposure to heat-stress environment affects the physiology, circulation levels of cytokines, and microbiome in dairy cows. *Sci Rep.* 2018; 8: 14606. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32886-1>

Climate-Data.org. Tequisquiapan clima (mexico) [serial on line] [cited 2021 Mar 16]. Available from: URL: <https://es.climate-data.org/america-del-norte/mexico/queretaro/tequisquiapan-28386/>

Collier RJ, Dahl GE, VanBaale MJ. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 2006; 89: 1244–1253.

Collier RJ, Baumgard LH, Zimbelman RB, Xiao Y. Heat stress: physiology of acclimation and adaptation. *Anim Front*. 2019; 9: 12-19.

Cook NB, Mentink RL, Bennet TB, Burgi K. The Effect of Heat Stress and Lameness on Time Budgets of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 2007; 90 (4): 1674-1682.

Cowley FC, Barber DG, Houlihan AV, Poppi DP. Immediate and residual effects of heat stress and restricted intake on milk protein and casein composition and energy metabolism. *J Dairy Sci.* 2015; 98: 2356-2368. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8442>

Curtis AK, Scharf B, Eiche PA, Spiers DE. Relationships between ambient conditions, thermal status, and feed intake of cattle during summer heat stress with access to shade. *J. Therm. Biol.* 2017; 63; 104-111.

Dahl GE, Tao S, Laporta J. Heat Stress Impacts Immune Status in Cows Across the Life Cycle. *Front Vet Sci.* 2020; 7: 116. doi: 10.3389/fvets.2020.00116

Daltro DdS, Fischer V, Alfonzo EPM, Dalcin VC, Stumpf MT, Kolling G, da Silva MV GB, McManus C. Infrared thermography as a method for evaluating the heat tolerance in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2017; 46(5): 374-383.

Das R, Sailo L, Verma N, Bharti P, Saikia J, Imtiwati, Kumar R. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. *Vet World.* 2016; 9 (3): 260-268.

Das R, Sailo L, Verma N, Bharti P, Saikia J, Imtiwati, Kumar R. Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. *Vet World.* 2016; 9 (3): 260-268. doi:10.14202/vetworld.2016.260-268.

Dinu M, Pounis G, Sofi F. Chapter 2 - Study Design in Experimental Settings. *Analysis Nutr Research.* 2019; 243-41. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814556-2.00002-6>

De Rensis F, García-Ispierto I, López-Gatius F. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. *Theriogenology.* 2015; 84 (5): 659-666. doi: 10.1016/j.theriogenologia.2015.04.021.

Do Amaral BC, Connor EE, Tao S, Hayen J, Buboiz J, Dahl GE. Heat-stress abatement during the dry period: Does cooling improve transition into lactacion? *J. Dairy Sci.* 2009, 92: 5988-5999.

Do Amaral BC, Connor EE, Tao S, Hayen J, Buboiz J, Dahl GE. Heat stress abatement during the dry period influences prolactin signaling in lymphocytes. *Domest Anim Endocrinol.* 2010; 38: 38-45.

Do Amaral BC, Connor EE, Tao S, Hayen J, Buboiz J, Dahl GE. Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the

transition period of dairy cows. *J Dairy Sci.* 2011; 94: 86-96. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2009-3004>

Dobolyi A. Oláh S. Keller D. Kumari R. Fazekas EA. Csikós V. Renner E. Cservenák M. Secretion and Function of Pituitary Prolactin in Evolutionary Perspective. *Front Neurosci.* 2020; 14: 621. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00621>

Dobson H. Ribadu AY. Noble KM. Tebble JE. Ward WR. Ultrasonography and hormone profiles of adrenocorticotrophic hormone (ACTH)-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle. *J Reprod Fertl.* 2000; 120 (2): 405-410. PMID: 11058457

Drong C. Meyer U. Von Soosten D. Frahm J. Rehage J. Breves G. Dänicke S. Effect of monensin and essential oils on performance and energy metabolism of transition dairy cows. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2015; 100 (3): 537-551. <https://doi-org.2443/10.1111/jpn.12401>

Elcoso G. Zweifel B. Bach A. Effects of a blend of essential oils on milk yield and feed efficiency of lactating dairy cows. *Applied Anim Sci.* 2019; 35 (3): 304-311. <https://doi.org/10.15232/aas.2018-01825>

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Greenhouse gas emissions from ruminant supply chains – A global life cycle assessment. Opio C. Gerber P. Mottet A. Falcucci A. Tempio G. MacLeod M. Vellinga T. Henderson B. Steinfeld H. FAO, Roma. [serial on line] 2013 [cited 2021 Dic 12]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: <https://www.fao.org/3/i3461e/i3461e.pdf>

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Dairy and dairy products. In OECD-FAO agricultural outlook 2021-2030 [serial on line] 2021 [cited 2021 Dic 12]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: <https://www.fao.org/3/CB5332EN/Dairy.pdf>

Fernandez-Novo A. Pérez-Garnelo SS. Villagrà A. Pérez-Villalobos N. Astiz S. The Effect of Stress on Reproduction and Reproductive Technologies in Beef Cattle—A Review. *Animals.* 2020; 10 (11): 2096. doi: 10.3390/ani10112096

Ferrazza RA. Mogollón Garcia HD. Vallejo Aristizábal VH. Nogueira CS. Veríssimo CJ. Sartori JR. Sartori S. Pinheiro Ferreira C, Thermoregulatory responses of Holstein cows exposed to experimentally induced heat stress. *J. Therm. Biol.* 2017; 66: 68-80.

Flamenbaum I. "Salas especiales de enfriamiento" para mejorar la eficiencia productiva y reproductiva de las vacas y la rentabilidad de establos lecheros en el norte de Mexico [serial on line] 2018 [cited 2021 Dic 12]; 1 (1): [24 screens]. Available from: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/salas-especiales-enfriamiento-mejorar-t42350.htm>

Flamenbaum I. Estrés por Calor y Enfriamiento de vacas. Curso On Line: Ganadería Lechera Intensiva y Estrés de Calor; 2021 agosto 04- septiembre 03; Escuela Virtual Agropecuaria (Lima) Perú. Perú (Lima): Perulactea.

Ferreira FC. Gennan RS. Dahl GE. De Vries A. Economic feasibility of cooling dry cows across the United States. *J Dairy Sci.* 2016; 99 (12): 9931-9941. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11566>

García-Ispuerto I. López-Gatius F. Bech-Sabat G. Santolaria P. Yániz J. Nogareda C. De Rensis F. López-Béjar M. Climate factors affecting conception rate of high producing dairy cows in northeastern Spain. *Theriogenology.* 2007; 67 (17412409): 1379-1385. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.02.009>

García-Rodríguez MC. Altamirano-Lozano M. Gordillo-García. The Role of Green Tea Polyphenols in the Protection from Hexavalent Chromium-Induced Genotoxic Damage. 2018. doi: 10.5772/intechopen.76651

Gauly M. Ammer S. Review: Challenges for dairy cow production systems arising from climate changes. *Animal.* 2020; 14: s196-s203.

Gauly M. Bollwein H. Breves G. Brugemann K. Danicke S. Das G. Demeler J. Hansen H. Isselstein J. König S. Loholter M. Martinsohn M. Meyer U. Potthoff M. Sanker C. Schroder B. Wrage N. Meibaum B, von Samson-Himmelstjerna G. Stinshoff H. Wrenzycki C. Future consequences and challenges for dairy cow production systems arising from climate change in Central Europe – a review. *Animal.* 2013; 7 (5): 843-859.

Georges M. Charlier C. Hayes B. Harnessing genomic information for livestock improvement. *Nat Rev Genet.* 2019; 20: 135-156. doi/10.1038/s41576-018-0082-2

Ghassemi Neja J, Kim BW, Lee BH, Sung K. Coat and hair color: hair cortisol and serotonin levels in lactating Holstein cows under heat stress conditions. *J Anim Sci.* 2017, 88: 190-194.

Gloster J. Ebert K. Gubbins S. Bashiruddin J. Paton DJ. Normal variation in thermal radiated temperature in cattle: implications for foot-and-mouth disease detection. *BMC Vet Res.* 2011; 7: 73. doi: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/7/73>

Gruber L. Knaus W. Susenbeth A. Schwarz FJ. Guggenberger T. Fischer B. Spiekers H. Steingäß H. Meyer U. Münger A. Jilg T. Obermaier A. Evaluation of the net energy for lactation system and estimation of the energy requirements of dairy cows based on a comprehensive analysis of feeding trials. *Arch Anim Nutr.* 2021; 75: 1-17.

Güldür T, Otlı HG. Circadian rhythm in mammals: time to eat & time to sleep, *Biological Rhythm Research.* 2017; 48 (2): 243-261.

Hady M, Melegy TM, Anwar SR. Impact of the Egyptian summer season on oxidative stress biomarkers and some physiological parameters in crossbred cows and Egyptian buffaloes. *Veterinary World.* 2018; 11: 771-777.

Hagg F. Xtract® and the effect on heat stress in dairy cows. *Allied Nutrition* 2012: 1-12.

Holzer P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacol Ther.* 2011; 131: 142-170. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.03.006

- Hammami H, Bormann J, M'hamdi N, Montaldo HH, Gengler N. Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *J. Dairy Sci.* 2013; 96 (3): 1844-1855. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5947>
- Hammami H, Vandenplas J, Vanrobays ML, Rekik B, Bastin C, Gengler N. Genetic analysis of heat stress effects on yield traits, udder health, and fatty acids of Walloon Holstein cows. 2015; *J Dairy Sci.* 2015; 98 (7): 4956-4968. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9148>
- Hansen PJ. Exploitation of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevated temperature to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology.* 2007; 68: S242-S249. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.008>
- Hellhammer DH, Wust S, Kudielka BM. Salivary cortisol as a biomarker in stress research. *Psychoneuroendocrinology.* 2009, 34: 163-171.
- Herbut P, Angrecka S, Walczak J. Environmental parameters to assessing of heat stress in dairy cattle—a review. *Int J Biometeorol.* 2018; 62: 2089-2097. <https://doi.org/10.1007/s00484-018-1629-9>
- Herrero M, Wirsenius S, Henderson B, Rigolot C, Thornton P, Havlík P, de Boer I, Gerber PJ. Livestock and the Environment: What Have We Learned in the Past Decade? *Annu Rev Environ Resour.* 2015; 40: 177-202.
- Hoffman G, Herbut P, Pinto S, Heinicke J, Khula B, Amon T. Animal-related, non-invasive indicators for determining heat stress in dairy cows. *Biosyst Eng.* 2020; 199: 83-96. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2019.10.017>
- Holzer P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacol Ther.* 2011; 131: 142-170. doi: 10.1016/j.pharmthera.2011.03.006
- Horowitz M. From molecular and cellular to integrative heat defense during exposure to chronic heat. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2002; 131 (3): 475-483.
- Horowitz M. Heat acclimation: phenotypic plasticity and cues to the underlying molecular mechanisms. *J Therm Biol.* 2001; 26 (4-5): 357-363. [https://doi.org/pbidi.unam.mx:2443/10.1016/S0306-4565\(01\)00044-4](https://doi.org/pbidi.unam.mx:2443/10.1016/S0306-4565(01)00044-4)
- Idris M, Uddin J, Sullivan M, McNeill DM, Phillips CJC. Non-Invasive Physiological Indicators of Heat Stress in Cattle. *Animals (Basel).* 2021;11(1):71.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Climate Change 2021. The Physical Science Basis [serial on line] 2021 [cited 2021 Dic 12]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: <https://www.ipcc.ch/report/sixth-assessment-report-working-group-i/>
- Itoh F, Obara Y, Rose MT, Fuse H, Hashimoto H. Insulin and Glucagon Secretion in Lactating Cows During Heat Exposure. *J. Anim. Sci.* 1998; 76: 2182-2189.

Lehman A. O'Rourke N. Hatcher L. Stepanski EJ. JMP® for Basic. Univariate and Multivariate Statistics. Methods for Researchers and Social Scientists. Second Edition [Serial on line] 2013 Jun [cited 2022 Feb 7]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: https://support.sas.com/content/dam/SAS/support/en/books/jmp-for-basic-univariate-and-multivariate-statistics/65761_excerpt.pdf

Jones DP. Redefining oxidative stress. Antioxidants & Redox signaling. 2006; 8: 1865-1879.

Jordan ER. Effects of heat stress on reproduction. J Dairy Sci. 2003, 86 (E. Suppl.): E104-E114. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)74043-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)74043-0)

Kadzere CT. Murphy MR. Silanikove N. Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: a review. Liv. Prod. Sci. 2002; 77: 59-91.

Kaiser UB. Hyperprolactinemia and infertility: new insights. J Clin Invest. 2012; 122 (10): 3467-3468. doi:10.1172/jci64455

Kendall PE. Nielsen PP. Webster JR. Verkerk GA. Littlejohn RP. Matthews LR. The effects of providing shade to lactating dairy cows in a temperate climate. Livest Sci. 2006; 103 (1-2): 148-157.

Kendal PE, Webster JR. Season and physiological status affects the circadian body temperature rhythm of dairy cows. Livestock Science. 2009; 125 (2-3): 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.04.004>

Knezevic A. Overlapping confidence intervals and statistical significance. [serial on line] 20120 Sep [cited 2022 Feb 12]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: https://cscu.cornell.edu/wp-content/uploads/73_ci.pdf

Kosti O. King PJ. Hinson JP. Tumour-derived human adrenocortical cells express beta-adrenergic receptors: steroidogenic effects of beta-adrenergic input. Endocr Res. 2002; 28 (4): 363-367. doi: 10.1081/erc-120016810

Kuth J. Farmery AD. Body temperature and its regulation. Intensive Care Med. 2021; 22 (10): 657-662. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2021.07.004>

Lacetera N. Bernabucci U. Scalia D. Basirico L. Morera P. Nardone N. Heat Stress Elicits Different Responses in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Brown Swiss and Holstein Cows. J Dairy Sci. 2006; 89: 4606-4612. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72510-3

Lambertz C. Sanker C. Gauly M. Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. J. Dairy Sci. 2014; 97: 319-329.

Le Roith D. Bondy C. Yakar S. Liu JL. Butler A. The somatomedin hypothesis Endocr Rev. 2001; 22: 53-74.

Lechi C. Rota N. Vitali A. Ceciliani F. Lacetera N. In vitro assessment of the effects of temperature on phagocytosis, reactive oxygen species production and apoptosis in bovine

polymorphonuclear cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 2016; 182: 89-94. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.10.007.

Li H. Zhang Y. Li R. Wu Y. Zhang D. Xu H. Zhang Y. Qi Z. Effect of seasonal thermal stress on oxidative status, immune response and stress hormones of lactating dairy cows. *Anim Nutr.* 2021; 7; 216-223. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.07.006>

Liu J. Li L. Chen X. Lu Y. Wang D. Effects of heat stress on body temperature, milk production, and reproduction in dairy cows: a novel idea for monitoring and evaluation of heat stress — A review. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2019; 32 (9): 1332-1339. doi: 10.5713/ajas.18.0743

Lucy MC. Stress, strain, and pregnancy outcome in postpartum cows. *Anim Reprod.* 2019; 16 (3): 455-464. <https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR2019-0063>

Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions.* 2014; 224: 164-175.

Mader TL. Davis MS. Brown-Brandl T. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *Anim Sci J.* 2006; 84 (3): 712-719. <https://doi.org/10.2527/2006.843712x>

Madhusoodan AP. Sejian V. Rashamol VP. Savitha ST. Bagath M. Krishnan G. Bhatta R. Resilient capacity of cattle to environmental challenges – An updated review. *J Anim Behav Biometeorol.* 2019; 7:104-11.

Maibam U. Hooda OK. Sharma PhS. Singh SV. Mohanty AK. Upadhyay RC. Seasonal variation in HSP70 expression and oxidative stress in skin of zebu (Tharparkar) and crossbred (Karan Fries) cattle under tropical climate. *Biol Rhythm Res.* 2017; 48 (4): 647-661. <https://doi.org/10.1080/09291016.2017.1307905>

Masella R. Di Benedetto R. Vari R. Filesi C, Giovannini C. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem.* 2005;16 (10): 577-86. doi: 10.1016/j.jnutbio.2005.05.013

McCafferty DJ. Gilbert C. Paterson W. Pomeroy PP. Thompson D. Currie JJ. Estimating metabolic heat loss in birds and mammals by combining infrared thermography with biophysical modelling. *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 2011; 158 (3): 337-345. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.09.012>

McCafferty, D.J.; Gallon, S.; Nord, A. Challenges of measuring body temperatures of free-ranging birds and mammals. *Anim. Biotelemetry* 2015; 3: 33.

Macmillan, K.; Colazo, M.G.; Cook, N.J. Evaluation of infrared thermography compared to rectal temperature to identify illness in early postpartum dairy cows. *Res. Vet. Sci.* 2019, 125, 315–322.

Megahead GA, Anwat MM, Wasfy SI, Hammadeh ME. Influence of Heat Stress on the Cortisol and Oxidant-Antioxidants Balance During Oestrous Phase in Buffalo-Cows

(*Bubalus bubalis*): Thermo-protective Role of Antioxidant Treatment. *Reprod. Domest. Anim.* 2008; 43 (6): 672-677.

Metzner M. Sauter-Louis C. Seemueller A. Petzl W. Klee W. Infrared thermography of the udder surface of dairy cattle: Characteristics, methods, and correlation with rectal temperatura. *Vet. J.* 2014; 199; 57-62. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.10.030>

Min L. Cheng J. Shi B. Yang H. Zheng N. Wang J. Effects of heat stress on serum insulin, adipokines, AMP-activated protein kinase, and heat shock signal molecules in dairy cows. *Biomed & Biotechnol.* 2015; 16 (6): 541-548. doi: 10.1631/jzus.B1400341

Min L. Cheng J. Zhao S. Tian H. Zhang Y. Li S. Yang H. Zheng N. Wang J. Plasma-based proteomics reveals immune response, complement and coagulation cascades pathway shifts in heat-stressed lactating dairy cows. *J Proteomics.* 2016; 146 (2): 99-108.

Mirzad AN, Takashi T, Ano H, Kobayashi I, Yamauchi T, Katamoto H. Seasonal changes in serum oxidative stress biomarkers in dairy and beef cows in a daytime grazing system. *J. Vet. Med. Sci.* 2018; 80: 20-27

Mota-Rojas D. Titto CG, Orihuela A. Martínez-Burnes J. Gómez-Prado J. Torres-Bernal F. Flores-Padilla K. Carvajal-de la Fuente V. Wang D. Physiological and Behavioral Mechanisms of Thermoregulation in Mammals. *Animals.* 2021; 11(6):1733. <https://doi.org/10.3390/ani11061733>

Mujahid, A.; Yoshiki, Y.; Akiba, Y.; Toyomizu, M., 2005: Superoxide radical production in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. *Poultry Science.* 84, 307–314.

Mulhomall. Spicing up diet of transition dairy cows may be good for their health [serial on line] 2017 Jun [cited 2021 Dic 12]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: <https://news.psu.edu/story/471341/2017/06/09/research/spicing-diet-transition-dairy-cows-may-be-good-their-health>

Nagashima K. Central Mechanisms for Thermoregulation in a Hot Environment. *Industrial Health.* 2006; 44: 359-367.

Nardone A. Ronchi B. Lacetera N. Ranieri MS. Bernabucci U. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livest Sci.* 2010; 130: 57-69.

National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. [serial on line] 1971 [cited 2019 May 29]. Available from: URL: <https://sci-hub.do/https://europepmc.org/articles/pmc1695891?pdf=render>

National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. [serial on line] 2001 [cited 2019 May 29]. Available from: URL: <https://profsite.um.ac.ir/~kalidari/software/NRC/HELP/NRC%202001.pdf>

Nienaber JA. Hahn GL. Livestock production system management responses to thermal challenges. *Int J Biometeorol.* 2007; 52:149–157.

Oh J, Hristov AN, Lee C, Cassidy T, Heyler K, Varga GA, Pate J, Walusimbi S, Brzezicka E, Toyokawa K, Werner J, Donkin SS, Elias R, Dowd S, Bravo D. Immune and production responses of dairy cows to postruminal supplementation with phytonutrients. *J. Dairy Sci.* 2013; 96 (12): 7830–7843. doi: 10.3168/jds.2013-7089

Oh J, Giallongo F, Frederick T, Pate J, Walusimbi S, Elias RJ, Wall EH, Bravo D, Hristov AN. Effects of dietary Capsicum oleoresin on productivity and immune responses in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2015, 98: 6327-6339. doi: 10.3168/jds.2014-9294.

Oh J, Wall EH, Bravo DM, Hristov AN. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: A review. *J Dairy Sci.* 2017a; 100 (7): P5974-5983. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12341>

Oh J, Harper M, Giallongo F, Wall EH, Bravo DM, Hristov AN. Effects of rumen-protected Capsicum oleoresin on productivity and responses to a glucose tolerance test in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2017b; 100: 1888–1901. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11665>

Oh J, Oh J, Harper M, Giallongo F, Wall EH, Bravo DM, Hristov AN. Effects of rumen-protected Capsicum oleoresin on immune responses in dairy cows intravenously challenged with lipopolysaccharide. *J Dairy Sci.* 2017c; 100: 1902–1913. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11666>

Olson TA, Lucena C, Chase Jr. CC, Hammond AC. Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in *Bos taurus* cattle. 2003; 81: 80-90. <https://doi.org/10.2527/2003.81180x>

Ouellet V, Negrao J, Skibieli AL, Lantigua VA, Fabris TF, Marrero MG, Dado-Senn B, Laporta J, Dahl G. Endocrine Signals Altered by Heat Stress Impact Dairy Cow Mammary Cellular Processes at Different Stages of the Dry Period. *Animals.* 2021; 11 (2): 563. doi: 10.3390/ani11020563

Patke A, Young MW, Axelrod S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21: 67-84. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0179-2>

Piccione G, Caola G, Refinetti R. Daily and estrous rhythmicity of body temperature in domestic cattle. *BMC Physiology.* 2003; 3: 7.

Piccione G, Refinetti R. Thermal chronobiology of domestic animals. *Front Biosci* 2003; 8: s258-264. doi: 10.2741/1040.

Polsky L, von Keyserlingk MAG. Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *J. Dairy Sci.* 2017; 100 (11): 8645-8657.

Powers RH, Stadnicka A, Kalbfleish JH, *et al. et al.* Involvement of xanthine oxidase in oxidative stress and iron release during hyperthermic rat liver perfusion. *Cancer Res.* 1992; 52: 1699–703.

- Ralph CR. Lehman MN. Goodman RL. Tilbrook. Impact of psychosocial stress on gonadotrophins and sexual behaviour in females: role for cortisol? *Reproduction*. 2016; 152: R1-R14. <https://doi.org/10.1530/REP-15-0604>
- Rashamol, VP. Sejian V. Pragna P. Less AM. Bagath M. Krishnan G. Gaughan JB. Prediction models, assessment methodologies and biotechnological tools to quantify heat stress response in ruminant livestock. *Int J Biometeorol*. 2019; 63, 1265–1281. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s00484-019-01735-9>.
- Rees A. Fischer-Tenhagen C. Heuwieser W. Effect of Heat Stress on Concentrations of Faecal Cortisol Metabolites in Dairy Cows. *J Reprod Domest Anim*. 2016, 51: 392-399.
- Refinetti R. Circadian rhythmicity of body temperature and metabolism. *Temperature*. 2020; 7 (4): 321-362. <https://doi.org/10.1080/23328940.2020.1743605>
- Refinetti R. Menaker M. The circadian rhythm of body temperature. *Physiol Behav*. 1992; 51:613-637.
- Refinetti R. Non-stationary time series and the robustness of circadian rhythms. *J Theor Biol*. 2004; 227 (4): 571-581. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2003.11.032>
- Renaudeau D. Collin A. Yahav S. De Basilio V. Gourdine JL. Collier RJ. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Anim*. 2012; 6 (5): 707-728.
- Rensing L. Meyer-Grahe U. Ruoff P. Biological timing and the clock metaphor: oscillatory and hourglass mechanisms. *The Journal of Biological and Medical Rhythm Research*. 2001; 18 (3): 329-369.
- Rhoades RP. Skrzypek, MV. Block SS. Baumgard LH. The effects of dietary ThermalCare-R (TCR) on body temperature indices, production and metabolism in heat-stressed lactating cows. *J Dairy Sci*. 2010; 93(E-Suppl. 1):413. (Abstr.)
- Rhoads ML, Rhoads RP, VanBaale MJ, Collier RJ, Sanders SR. Weber WJ, Crooker BA, Baumgard LH. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. Production, metabolism, and aspects of circulating somatotropin. *J Anim Sci*. 2009, 92: 1986-1997.
- Rhoads ML. Kim JW. Collier RJ. Crooker BA. Boisclair YR. Baumgard LH. Rhoads RP. Effects of heat stress and nutrition on lactating Holstein cows: II. Aspects of hepatic growth hormone responsiveness. *J. Dairy Sci*. 2010; 93: 170-179.
- Romanovsky AA. Almeida MC. Garami A. Steiner AA. Norman MH. Morrison SF. Nakamura K. Burmeister JJ. Nucci TB. The Transient Receptor Potential Vanilloid-1 Channel in Thermoregulation: A Thermosensor It Is Not. *Pharmacol Rev*. 2009; 61 (3): 228-261. doi: 10.1124/pr.109.001263
- Romero A. La producción de metano en rumiantes: Análisis del problema y posibles soluciones. Videoconferencias; 2022 febrero 21; México: FMVZ-UNAM.

Flamenbaum I. Estrés por Calor y Enfriamiento de vacas. Curso On Line: Ganadería Lechera Intensiva y Estrés de Calor; 2021 agosto 04- septiembre 03; Escuela Virtual Agropecuaria (Lima) Perú. Perú (Lima): Perulactea.

Roth Z. Heat Stress, the Follicle, and Its Enclosed Oocyte: Mechanisms and Potential Strategies to Improve Fertility in Dairy Cows. *Reprod Domest Anim.* 2008; 43 (2):238-244.

Roth Z. Mewaidan R. Shaham-Albalancy A. Braw-Tal R. Wolfenson D. Delayed effect of heat stress on steroid production in medium-size and preovulatory bovine follicles. *Reproduction.* 2001; 121: 745–51.

Saber APR. Jalali MT. Mohjeri D. Akhoole AA. Teymourluei HZN. Nouri M. Garachorlo S. The Effect of Ambient Temperature on Thyroid Hormones Concentration and Histopathological Changes of Thyroid Gland in Cattle in Tabriz, Iran. *Asian J Anim Vet Adv.* 2009; 4: 28-33.

Safa S, Kargar S, Moghaddam GA, Ciliberti MG, Caroprese M. Heat stress abatement during the postpartum period: effects on whole lactation milk yield, indicators of metabolic status, inflammatory cytokines, and biomarkers of the oxidative stress. *J Dairy Sci.* 2019; 97: 122-132.

Sammad A. Umer S. Shi R. Zhu H. Zhao X. Wang Y. Dairy cow reproduction under the influence of heat stress. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2019; 104 (4): 978-986. <https://doi.org/10.1111/jpn.13257>

Sammad A. Wang YJ. Umer S. Lirong H. Khan I. Khan A. Ahmad B. Wang Y. Nutritional Physiology and Biochemistry of Dairy Cattle under the Influence of Heat Stress: Consequences and Opportunities. *Anim.* 2020; 10(5): 793. <https://doi.org/10.3390/ani10050793>

SEMARNAT. Atmósfera. Climas [serial on line] 2019 [cited 2021 Abr 6]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL: http://gisviewer.semarnat.gob.mx/geointegrador/enlace/atlas2010/atlas_atmosfera.pdf

Sheikh AA. Aggarwal A. Aarif. Inorganic zinc supplementation modulates heat shock and immune response in heat stressed peripheral blood mononuclear cells of periparturient dairy cows. *Theriogenology.* 2017; 95: 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.02.024>

Schibler U. Gotic I. Saini C. Gos P. Curie T. Emmenegger Y. Sinturel F. Gosselin P. Gerber A. Fleury-Olela F. Rando G. Demarque F. Clock-Talk: Interactions between Central and Peripheral Circadian Oscillators in Mammals. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2015; 80: 223-232. doi: 10.1101/sqb.2015.80.027490

Schüller LK. Burfeind O. Heuwieser W. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature-humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology.* 2014; 81 (24612695): 1050-1057. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.01.029>

Schütz KE. Rogers AR. Poulouin YA. Cox NR. Tucker CB. The amount of shade influences the behavior and physiology of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2010; 93: 125-133. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2416>.

Schwartz G. Rhoads ML. VanBaale MJ. Rhoads RP. Baumgard LH. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows *J Dairy Sci.* 2009; 92; 935-942. doi:10.3168/jds.2008-1496.

Schwartz MW. Maderas SC. Porte D. Seeley RJ. Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000; 404 (6778): 661-671.

Sejian V. Bhatta R. Gaughan JB. Dunshea FR. Lacetera N. Review: Adaptation of animals to heat stress. *Anim.* 2018; 12 (2): s431-s444. <https://doi.org/10.1017/S1751731118001945>

SEMARNAT. Compendio de Estadísticas Ambientales 2008. Zonas ecológicas de México [serial on line] 2008 [cited 2021 Dic 12]; 1 (1): [24 screens]. Available from: URL:https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/cd_compendio08/compendio_2008/compendio2008/10.100.8.236_8080/ibi_apps/WFServlet68b5.html

Shehab-El-Deen MAMM. Fadel MS. Soom AV. Saleh SY. Maes D. Leroy JLMR. Circadian rhythm of metabolic changes associated with summer heat stress in high-producing dairy cattle. *Trop Anim Health Prod.* 2010; 42: 1119–1125.

Sheng X. Zhang Y. Gong Z. Huang C. Zang YQ. Improved insulin resistance and lipid metabolism by cinnamon extract through activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *Res PPAR;* 2008; 2008: 581348. doi: 10.1155/2008/581348

Silanikove N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Anim Prod Sci.* 2000, 67: 1-18.

Soltan MA. Effect of dietary chromium supplementation on productive and reproductive performance of early lactating dairy cows under heat stress. *J Anim Physiol Anim.* 2009; 94: 264-272. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00913.x>

Sordillo LM. Aikten SL. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009; 128 (1-3): 104-109. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2008.10.305>

Spagnoli A, Spadoni GL, Sesti G, Principe DD, Germani D, Boscherini B. Effect of insulin on hydrogen peroxide production by human polymorphonuclear leukocytes. *Horm. Res.* 1995; 43: 286-293.

St-Pierre NR, Cobanov B, Schnitkey G. Economic Losses from Heat Stress by US Livestock Industries. *J. Dairy Sci.* 2003, 86 (E. Suppl.): E52-E77.

Suchmacher M. Geller M. Chapter 1 - Study Type Determination. *Practical Biostatistics.* 2012; 3-15. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415794-1.00001-X>

Summer A. Lora I. Formaggioni P. Gottardo F. Impact of heat stress on milk and meat production. *Anim Front.* 2017; 9: 39-46. doi:10.1093/af/vfy02

Szolcsányi J. Effect of capsaicin on thermoregulation: an update with new aspects. *J Temperature.* 2015, 2: 277-296. doi: 10.1080/23328940.2015.1048928

Tager LR. Krause KM. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2011; 94 (5): P2455-P2464. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3505>

Takano F. Yamaguchi M. Takada S. Shoda S. Yahagi N. Tomoya T. Ohta T. Capsicum ethanol extracts and capsaicin enhance interleukin-2 and interferon-gamma production in cultured murine Peyer's patch cells ex vivo. *Life Sci.* 2007; 80 (17): 1553-1563. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.01.031>

Tanaka H. Kashiwagi R. Koizumi T. Inhibition of calcitonin gene-related peptide (CGRP) has the potential to extend first-phase insulin secretion. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2013; 121 (05): 280-285. doi :10.1055/s-0033-1341441

Tao S. Bubolz W. Amaral BC. Thompson IM. Hayen MJ. Johnson SE. Dahl. Effect of heat stress during the dry period on mammary gland developmen. *J Dairy Sci.* 2011; 94 (112); 5976-5986. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4329>

Tao S. Dahl GE. Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *J Dairy Sci.* 2013; 96 (7): 4079-4093. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6278>

Tao S. Monteiro APA. Thompson IM. Hayen MJ. Dahl GE. Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. *J Dairy Sci.* 2012; 95 (12): 7128-7136. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5697>

Tao S. Orellana RM. Weng X. Marins TN. Dahl GE. Bernard JK. Symposium review: The influences of heat stress on bovine mammary gland function. *J. Dairy Sci.* 2018; 101 (6): 5642-5654. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13727>

Terrien J. Perret M. Aujard F. Behavioral thermoregulation in mammals: a review. *Front Biosci.* 2011; 16: 1428-1444.

Thammacharoen S. Semsirboon S. Chanpongsang S. Chaiyabutr N. Panyasomboonying P. Khundamrongkul P. Puchongmart P. Wichachai W. Seasonal effect of milk yield and blood metabolites in relation to ketosis of dairy cows fed under a high ambient temperature. *Vet World.* 2021; 14(9): 2392-2396. doi: 10.14202/vetworld.2021.2392-2396

Tassoul MD. Shaver RD. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. *J Dairy Sci.* 2009; 92 (4): 1734-1740. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1760>

Van Haelst YNT. Beeckman A. Van Knegsel ATM. Fievez V. Short Communication: Elevated Concentrations of Oleic Acid and Long-Chain Fatty Acids in Milk Fat of

Multiparous Subclinical Ketotic Cows. *J Dairy Sci.* 2008; 91 (12): 4683-4686.
<https://doi.org/10.3168/jds.2008-1375>

Vitali A. Segnalini M. Bertocchi L. Bernabucci U. Nardone A. Lacetera N. Seasonal pattern of mortality and relationships between mortality and temperature-humidity index in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2009; 92: 3781-3790. doi: 10.3168/jds.2009-2127

Vizzoto EF. Fischer V. Neto AT. Abreu AS. Stumpf MT. Werncke D. Schmidt FA. McManus CM. Access to shade changes behavioral and physiological attributes of dairy cows during the hot season in the subtropics. *Anim.* 2015; 9 (9); 1559-1566.

Vriens, J. Nilius B. Vennekens R. Herbal compounds and toxins modulating TRP channels. *Curr. Neuropharmacol.* 2008; 6:79–96. doi: 10.2174/157015908783769644

Wall EH. Doane. PH. Donkin SS. Bravo D. The effects of supplementation with a blend of cinnamaldehyde and eugenol on feed intake and milk production of dairy cows. *J Dairy Sci.* 2014; 97:5709–5717.

West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2003; 86: 2131-2144.

Wheelock JB. Rhoads RP. VanBaale MJ. Sanders SR. Baumgard LH. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2010; 93: 644-655.

Wolfenson D. Roth Z. Meidan R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci.* 2000; 60-61: 535-547.

Xie Y. Tang Q. Chen G. Xie M. Yu S. Zhao J. Chen L. New Insights Into the Circadian Rhythm and Its Related Diseases. *Front Physiol.* 2019; 10: 682.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00682>

Yatoo MI, Dimri U, Sharma MC. Seasonal changes in certain blood antioxidants in cattle and buffaloes. *India J. Anim. Sci.* 2014; 8 (2): 173-176.

Zeng Z. Zhang S. Wang H. Piao X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: A review. *J Anim Sci Biotechnol.* 2015; 6: 7. doi: 10.1186/s40104-015-0004-5

Zimbleman RB. Baumgard LH. Collier RJ. Effects of encapsulated niacin on evaporative heat loss and body temperature in moderately heat-stressed lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2010; 93: 2387-2394. doi: 10.3168/jds.2009-2557

Zimbelman R, Collier RJ. Feeding Strategies for High-Producing Dairy Cows During Periods of Elevated Heat and Humidity. *Proceedings of the 20th Annual Tri-State Dairy Nutrition Conference*; 2011 abril 19-20; Indiana USA.

Zuo L, Christofi FL, Wright VP, LiuC Y, Merola AJ, Berliner LJ, Clanton TL. Intra- and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in

diaphragm muscle. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*. 2000; 279: C1058–C1066.