

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**



**EFFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y FISIOLÓGICOS EN VACAS
HOLSTEIN LACTANTES**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN ANIMAL

PRESENTA
FILIBERTO ANZURES OLVERA

DIRECTOR DE TESIS
Ph. D. LEONEL AVENDAÑO REYES

MEXICALI, B.C., MEXICO

NOVIEMBRE DE 2014

La presente tesis “**EFFECTO DE LA ÉPOCA DEL AÑO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y FISIOLÓGICOS EN VACAS HOLSTEIN LACTANTES**” fue realizada por C. Filiberto Anzures Olvera y dirigida por Ph. D. Leonel Avendaño Reyes, ha sido evaluada y aprobada por el Consejo Particular abajo indicado, como requisito parcial para obtener el título de:

Maestro en Ciencias en Sistemas de Producción Animal

Consejo particular

Ph. D. Leonel Avendaño Reyes
Director de tesis

Dr. Ulises Macías Cruz
Secretario

Ph. D. Abelardo Correa Calderón
Sinodal

M.C. Francisco Daniel Álvarez Valenzuela
Sinodal

AGRADECIMIENTOS

Gracias señor por darme la oportunidad y la dicha de salir victorioso de una más de tus encomiendas. Porque tú siempre has sido la fuente de mi inspiración, soporte y aliento para seguir adelante a pesar de todas las adversidades, por mantener siempre viva mi fe y confianza aun en aquellos momentos cuando me sentí desfallecer.

A la Universidad Autónoma de Baja California y al Instituto de Ciencias Agrícolas, por abrir sus puertas, contribuir en mi formación académica y profesional y darme la oportunidad de pertenecer a esta casa de estudios. Agradezco al ICA por haberme brindado la dicha de conocer a muchas personas que en algún momento formaron parte importante de mi vida.

Al CONACYT por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente y por el soporte económico para culminar mis estudios.

Al Dr. Leonel Avendaño Reyes quien sin conocerme me dio la oportunidad de trabajar con él al dirigir el presente trabajo de investigación, además de compartir sus conocimientos, consejos y enseñanzas.

Al Dr. Ulises Macías Cruz por compartir sus conocimientos, enseñanzas, consejos y amistad. Por sus aportes, comentarios y sugerencias en el desarrollo del trabajo de investigación y redacción final de este documento.

Al Dr. Abelardo Correa Calderón por sus valiosas enseñanzas en el aula y las palabras de aliento para seguir adelante. Además de sus aportaciones y recomendaciones en aras de mejorar este documento.

Al Dr. Raúl Díaz Molina, por haberme apoyado arduamente en las pruebas de laboratorio.

Al M.C. Daniel F. Álvarez Valenzuela, por sus comentarios para mejorar la calidad de este documento y por compartir conmigo sus experiencias y amistad.

Al rancho “Magaña” por el apoyo brindado para realizar parte importante de mi proyecto y por permitirme el acceso al establo.

A todos los profesores del ICA que alguna u otra manera contribuyeron con sus conocimientos en mi formación académica y profesional.

A los encargados de laboratorios, biblioteca y trabajadores quienes me brindaron su apoyo y las facilidades para llevar a buen término mi trabajo de investigación.

A mis compañeros y amigos de licenciatura, maestría y doctorado: Ma. de los Ángeles, Ricardo, Ángel, Gustavo, Martin, Sacra, Raquel, Yolanda, Citlali, Abril, Eudor, Bill, Jazmín, Francisco, Lizbeth, Roberto, a todos, gracias por darme la oportunidad de conocerlos y de compartir con ustedes, los buenos, y no tan buenos momentos durante este periodo de formación.

ÍNDICE TEMATICO

ÍNDICE TEMATICO	v
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1.- Zona de confort.....	3
2.2.- Efecto del Cambio climático en la producción animal	3
2.2.1.- Índice de temperatura y humedad (ITH).....	4
2.2.2.- Mecanismos de termorregulación	5
2.2.3.- Estrés oxidativo	6
2.2.4.- Metabolitos reactivos al oxígeno (ROM's y ROS)	7
2.2.5.- Antioxidantes	9
2.2.6.- Marcadores de estrés oxidativo (TOS, TAS y OSi)	9
2.3.- Estrés por calor.....	13
2.3.1.- Estrés por calor en ganado lechero	13
2.3.2.- Variables fisiológicas (TR, FR, TP, jadeo y sudoración)	14
2.3.3.- Producción de leche	19
2.3.4.- Composición de la leche (PC, GR, SNG y CCS).....	21
2.3.5.- Estrés oxidativo	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. Lugar de estudio	25
3.2. Animales, manejo y tratamientos	25
3.3. Descripción de instalaciones	26
3.3.1. Sombras y corrales	26
3.4. Mediciones y muestreo	27
3.4.1. Condiciones climáticas	27
3.4.2. Variables fisiológicas	27
3.4.3. Condición corporal	28

3.4.4. Variables de producción y composición de leche	28
3.4.5. Metabolitos sanguíneos.....	29
3.4.6. Variables oxidativas (TOS) y (TAS) en plasma	29
3.5. Análisis estadístico	30
4. RESULTADOS	31
4.1. Condiciones Ambientales.....	31
4.2. Variables fisiológicas.....	33
4.3. Condición corporal.....	36
4.4. Producción y composición de leche	37
4.5. Metabolitos sanguíneos (glucosa, triglicéridos y colesterol).....	41
4.6. Variables oxidativas (TOS, TAS y OSI).....	42
5. DISCUSIÓN	44
5.1. Condiciones Ambientales.....	44
5.2. Variables fisiológicas.....	45
5.3. Condición corporal.....	47
5.4. Producción y composición de la leche	49
5.5. Metabolitos sanguíneos.....	56
5.6. Variables oxidativas (TOS, TAS, OSi).....	59
5.6.1. Status oxidativo total en plasma (TOS)	59
5.6.2. Status antioxidante total en plasma (TAS)	61
5.6.3. Índice de estrés oxidativo (OSI)	63
6. CONCLUSIONES	66
7. LITERATURA CITADA.....	67

DEDICATORIAS

A dios por darme la oportunidad de conquistar una más de mis metas...

A esos seres tan maravillosos que en todo momento han están ahí para brindarme su apoyo incondicional, además de sabios consejos que me han permitido llevar a buen término esta etapa de formación y dar comienzo a la siguiente. Mi familia:

Mis padres:

Tomasa Olvera García

y

Alejandro Anzures Zamudio

Mis hermanos:

Cándido Anzures Olvera

Ma. del Rocío Anzures Olvera

Ángeles Rubí Anzures Olvera

A mis abuelos:

Margarita García Pliego

Fausto Olvera García

A la familia:

Ocampo Estrada,

Por su cariño y amistad

***Quien quiere hacer algo encuentra un medio, quien
no quiere hacer nada encuentra una excusa.*** Proverbio árabe

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la dieta ofrecida durante las dos épocas del año a vacas Holstein	26
Cuadro 2. Condiciones climáticas registradas durante el periodo de estudio de verano e invierno.....	32
Cuadro 3. Efecto de la época sobre las respuestas fisiológicas de vacas Holstein lactantes.....	33
Cuadro 4. Efecto de la época sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein lactantes.....	37
Cuadro 5. Efecto de la época sobre las concentraciones de metabolitos y marcadores de estrés oxidativo en suero de vacas Holstein lactantes.....	41

LISTA DE FIGURAS

Gráfica 1. Promedios mensuales de temperatura ambiental (Ta), humedad relativa (HR) e índice de temperatura-humedad (ITH) durante el periodo experimental.....	31
Gráfica 2. Variación de la temperatura rectal y frecuencia respiratoria por efecto de la época del año.....	34
Gráfica 3. Efecto de la época sobre la temperatura de piel en distintas regiones corporales de vacas Holstein lactantes.....	35
Gráfica 4. Promedios de condición corporal por efecto de la época en vacas Holstein lactantes en el periodo de estudio.....	36
Gráfica 5. Efecto de la época sobre la producción de leche en vacas Holstein lactantes.....	38
Gráfica 6. Efecto de la época sobre la composición de la leche en vacas Holstein lactantes.....	39
Gráfica 7. Número de células somáticas en la leche de vacas Holstein lactantes por efecto de la época del año.....	40
Gráfica 8. Efecto de la época sobre la concentración de metabolitos sérica de vacas Holstein lactantes.....	42
Gráfica 9. Efecto de la época sobre la concentración sérica de marcadores de estrés oxidativo de vacas Holstein lactantes.....	43

RESUMEN

El estrés por calor (EC) induce la producción de radicales libres derivados del oxígeno, los cuales se asocian con efectos negativos en la fisiología, salud y productividad de vacas lecheras. Con el propósito de comparar variables fisiológicas y productivas de vacas Holstein en verano e invierno bajo condiciones de una región árida, se seleccionaron aleatoriamente 40 vacas multíparas lactantes (100 a 150 d en leche) en un mes representativo de cada época del año (n=20/época). Los datos fueron analizados bajo un diseño completamente al azar, con época del año como tratamiento (verano vs invierno). Las temperaturas de la piel en costado derecho, nalga, ubre y cabeza, así como de la leche fueron 10 °C más altas ($P < 0.05$) en verano. La temperatura rectal y la tasa respiratoria (106.87 ± 0.05 vs 47.74 ± 0.06 rpm) fueron mayor ($P < 0.05$) en verano comparado con invierno. Las concentraciones de colesterol y TAS fueron menores ($P < 0.05$) en verano, mientras que los niveles de glucosa y OSI fueron mayores ($P < 0.05$) en la misma época, y TOS no vario. La producción de leche se redujo en más del 50% ($P < 0.05$) en verano, observándose disminuciones de 42.6% en la producción de energía en leche y de 48.4% en la producción de leche ajustada a 3.5% de grasa. Se concluye que el EC incrementa la producción de ROS con reducción concomitante de la capacidad antioxidante y tiene un efecto perjudicial en la fisiología y productividad de vacas Holstein debido al desarrollo de estrés oxidativo consecuentemente disminuye la producción láctea, por lo que hace necesario utilizar innovaciones ambientales para reducir el impacto negativo de las altas temperaturas durante la época de verano.

Palabras clave: Estrés calórico, ganado lechero, capacidad antioxidante, producción de leche.

ABSTRACT

Heat stress (HS) induces the production of oxygen-derived free radicals associated with deleterious effects on the physiology, health and productivity of dairy cows. In order to evaluate and compare physiological and productive responses of Holstein cows in summer and winter in an arid area, 40 lactating multiparous cows (100 to 150 DIM) were randomly selected from a representative month of each season (n = 20/season). Data were analyzed under a completely randomized design, with season of the year as factor of interest (summer vs winter). The skin temperatures of right side, buttock, udder and head, as well as raw milk were nearby 10 °C higher in summer time (P < 0.05). Respiration rate was two times higher (106.87 ± 0.05 vs 47.74 ± 0.06 bpm; P < 0.05) in summer, while rectal temperature reached 1.6 °C warmer in summer. Cholesterol concentrations, TAS and OSI were lower (P < 0.05) in summer, while glucose and OSI were higher (P < 0.05) in summer than in winter and TOS did not change between seasons. Milk production was reduced by more than a half (P < 0.05) in summer, and significant reductions of 42.6% in energy production in milk and 48.4% in milk production adjusted to 3.5% fat were observed. The percentages of fat and protein in milk were higher (P < 0.05) in summer. In conclusion, the effect of heat stress is evident in summer and has detrimental effects on physiology and productivity of lactating Holstein cows, emphasizing the adoption of environmental innovations to reduce the negative impact of high temperatures of summer season in this arid region of México.

Key words: Heat stress, dairy cattle, antioxidant capacity, milk yield.

1. INTRODUCCIÓN

La producción de leche en regiones áridas muy cálidas se caracteriza por ser estacional debido a la variabilidad en las temperaturas ambientales a través del año (Avendaño-Reyes *et al.*, 2010). Generalmente, la época de invierno en estas zonas registra condiciones climáticas favorables para el ganado lechero, mientras que en verano las temperaturas se incrementan a tal grado que producen un estrés por calor (EC) a los animales. Así, en invierno la producción de leche se mantiene elevada y en verano se reduce drásticamente por efecto del EC. Como una medida para mantener la condición homotermia, el ganado lechero reduce su consumo de alimento y redistribuye parcialmente la energía disponible para activar mecanismos de termorregulación de tipos fisiológico, metabólico y endocrinológico, situación que le resta disponibilidad de energía para el proceso de galactogénesis, reflejándose en una baja en la producción de leche (Ganaie *et al.*, 2013; Bernabucci *et al.*, 2010). Una respuesta inmediata de las vacas lecheras a la presencia de EC es el incremento en la temperatura rectal, en la frecuencia respiratoria y una reducción en el consumo de alimento; todo ello como medida para disipar la carga de calor y reducir la producción de calor metabólico (Bernabucci *et al.*, 1999).

Durante la última década, se ha buscado explicar la reducción en producción de leche y la activación de mecanismos fisiológicos de termorregulación bajo condiciones de EC de verano como una consecuencia del incremento en el estrés oxidativo que generan estas condiciones en el ganado lechero (Kumar *et al.*, 2011; Ganaie *et al.*, 2013). Algunos estudios han reportado que el EC induce la producción de radicales libres derivados del oxígeno (ROS), los cuales se asocian a varios de los efectos deletéreos como son alta tasa respiratoria y temperatura corporal,

consumo de alimento reducido, aumento de problemas metabólicos y una disminución en los parámetros productivos y reproductivos, así como de resistencia a enfermedades (Bernabucci *et al.*, 2005; Castillo *et al.*, 2005). Por consecuencia, se ha determinado que la intensificación en la producción de leche puede conducir a un aumento en los niveles de estrés oxidativo en vacas lecheras (Kumar *et al.*, 2011; Wullepit *et al.*, 2009).

Al respecto, Castillo *et al.* (2006) estudiaron alteraciones en la capacidad antioxidante de vacas lecheras durante la lactancia temprana, encontrando gran variación interindividual en niveles de malondialdehídos al inicio y durante el pico de lactancia. El aumento en la producción de radicales libres por efecto del EC puede conducir a un daño en el epitelio mamario, contribuyendo así a la disminución en producción de leche (Aitken *et al.*, 2009). En otro estudio, Lakritz *et al.* (2002) observaron que los niveles de glutatión oxidado en sangre se elevó bajo condiciones de EC en bovinos. Asimismo, la actividad antioxidante total en plasma disminuyó cuando las vacas lecheras fueron mantenidas en cámaras climáticas a una temperatura de 29.5 °C durante 7 d. Cabe mencionar que la información disponible sobre el estatus oxidativo de vacas Holstein en producción es escasa bajo condiciones de EC, existiendo solamente algunos reportes preliminares. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de época del año (verano vs invierno) sobre algunas respuestas fisiológicas, la producción y composición de leche, así como la capacidad antioxidante de vacas Holstein bajo condiciones áridas del noroeste de México.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Zona de confort

La zona termoneutral (zona de confort) es conocida como el rango de temperatura ambiente donde la tasa metabólica es mínima, siendo la regulación de la temperatura a través de procesos no evaporativos (Bligh, 1973). Cada especie, raza o categoría animal, relacionada con su estado fisiológico, tiene una zona de confort en la que el gasto de energía es mínimo, constante e independiente de la temperatura ambiental (Nardone *et al.*, 2006). Fuera de los límites extremos de esta zona, el organismo sufre hipotermia o hipertermia hasta que muere de frío o calor. La diferencia entre temperatura normal y letal del cuerpo es del orden de 15 a 25 °C en calor (Fuquay, 1981), y de sólo alrededor de 3 a 6 °C en frío. Esto explica por qué el frío representa un problema menor que el calor (Bianca, 1976; Collier *et al.*, 1982) y por consecuencia los animales seleccionados por rendimiento lechero, con alta producción de calor endógeno, muestran una alta tolerancia al frío y baja tolerancia al calor (Wullepit *et al.*, 2009). Como consecuencia, los límites de la zona de confort térmico para estos animales seleccionados cada vez es más bajo y puede volver a los animales cada vez más sensibles al estrés por calor (Yousef, 1987), requiriendo energía adicional para regular la temperatura, de modo que se reduce la energía disponible para los procesos productivos (Bianca, 1976; Bauman y Currie, 1980).

2.2.- Efecto del Cambio climático en la producción animal

El cambio climático es visto como una gran amenaza para la supervivencia de muchas especies, ecosistemas y la viabilidad y sostenibilidad de los sistemas de producción animal (Gaughan *et al.*, 2009). En los últimos 30 años se ha observado

una tendencia a incrementarse la temperatura del planeta. De acuerdo con los registros de la organización meteorológica mundial la temperatura en la tierra ha aumentado en aproximadamente 0.74 °C por año durante el periodo de 1906 a 2005. Asimismo, otros modelos climáticos predicen un incremento de 0.2 °C por año en los siguientes 20 años, concluyendo que para el año 2100 este aumento puede alcanzar entre 1.88 y 4.08 °C (IPCC, 2007). Bajo este escenario de cambio climático, entre el 20 y 30% de las especies pecuarias y animales están en riesgo de extinción (Aggarwal y Upadhyay, 2013).

2.2.1.- Índice de temperatura y humedad (ITH)

Muchos han sido los esfuerzos realizados para identificar los umbrales a los que los animales comienzan a sufrir estrés térmico con el objeto de prevenir los efectos negativos que éstos implican. El término estrés es comúnmente utilizado para indicar una condición medioambiental que es adversa al bienestar animal (Stott, 1981). Sin embargo, la magnitud del estrés y su impacto asociado con la producción animal son difíciles de definir. Stott (1981) señaló que la única forma de medir la magnitud del estrés es a través de la respuesta animal. Muchos intentos han sido realizados para lograr obtener un índice de fácil cálculo y aplicación. Una forma sencilla para cuantificar el grado de EC es mediante el uso del índice de temperatura-humedad (ITH), y un ejemplo es el propuesto por Hahn (1999), que se estima a partir de la combinación de temperatura ambiental y humedad relativa. La forma de estimar este índice es: $ITH = [0.81 \times \text{temperatura promedio}] + \{\text{humedad relativa (\%)} * [\text{temperatura promedio} - 14.4]\} + 46.4$.

El Instituto de Conservación Ganadera evaluó las respuestas biológicas a diferentes valores de ITH y los clasificó en niveles según la intensidad de estrés a la cual el ganado está expuesto: 1) zona de confort, se encuentra en valores < 72 unidades; 2) estrés ligero, entre 72 a 79 unidades; 3) estrés moderado, de 80 a 89 unidades; 4) estrés severo, > 90 unidades y 5) la muerte con < 98 unidades (Armstrong, 1994). Estos niveles de estrés por calor son muy excesivos, pero no son raros en las zonas áridas durante las olas de calor en los meses de verano (Bohmanova *et al.*, 2007).

Tradicionalmente se pensaba que la síntesis de leche empezaba a disminuir cuando el ITH alcanzaba 72 unidades (Armstrong, 1994); sin embargo, datos recientes indican que las vacas lecheras de alto rendimiento reducen la producción de leche a 68 unidades de ITH (Zimbelman *et al.*, 2009). A medida que aumenta la producción de leche, el umbral de temperatura por EC se reduce, por lo tanto, mientras la selección genética siga basándose principalmente en la producción anual de leche, las vacas probablemente continuarán siendo cada vez más susceptibles al EC (Wullepit *et al.*, 2009). Fuquay (1981) considera que es difícil determinar el grado de efecto de EC sobre la producción de leche debido a que otros factores (raza, época de parto, etapa de lactancia, nutrición, frecuencia de ordeño) que no están relacionados directamente con el ambiente pudieran estar interviniendo.

2.2.2- Mecanismos de termorregulación

La termorregulación se define como el medio por el cual un animal puede mantener su temperatura corporal estable (Bligh, 1973). Al igual que otros homeotermos, los rumiantes regulan su temperatura corporal dentro de un rango

estrecho (± 1.5 °C), mediante mecanismos de termorregulación dirigidos a mantener un equilibrio entre la ganancia y pérdida de calor del animal hacia el medio ambiente circundante (Berman *et al.*, 1985). Este flujo de calor ocurre a través de procesos dependientes de la temperatura (pérdida de calor sensible, es decir, conducción, convección, radiación) y humedad (pérdida de calor latente, la evaporación a través de la sudoración y el jadeo) del entorno (Yousef, 1987; Collier *et al.*, 2006). De manera opuesta, para conservar el calor corporal estos mecanismos se reflejan en cambios comportamentales y posturales, activación del sistema simpático alfa adrenérgico, contracciones musculares, vasoconstricción cutánea, piloerección, aumento del consumo de alimentos, combustión de grasas de reserva (Sanmiguel y Díaz, 2011). La habilidad para termorregular depende de interacciones complejas entre factores anatómicos y fisiológicos (Darcan *et al.*, 2009), factores tales como propiedades de la piel y pelo, capacidad de sudoración y respiración, tejido de aislamiento, relación entre área de superficie por unidad de peso corporal o tamaño relativo de los pulmones, perfiles endocrinológicos y producción de calor metabólico que influyen en la carga de calor (Hasen *et al.*, 2004; Collier *et al.*, 2006; Bernabucci *et al.*, 2010; Da Silva *et al.*, 2011 y 2012).

2.2.3- Estrés oxidativo

Un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes en favor de los oxidantes, que pueda conducir a un daño se denomina "estrés oxidativo" (Sies, 1991; Castillo *et al.*, 2005). Los oxidantes se forman como un producto normal del metabolismo aeróbico, pero se pueden producir a tasas elevadas en condiciones fisiopatológicas. Un estado cuasi-estacionario se mantiene gracias a un modelo complejo de antioxidantes. La

defensa antioxidante es, en parte, capaz de adaptarse a las necesidades cambiantes (Sies, 1997).

2.2.4.- Metabolitos reactivos al oxígeno (ROM's y ROS)

Un radical libre es una molécula con uno o más electrones no apareados en su órbita externa (Reilly *et al.*, 1991). Los radicales libres más abundantes en los sistemas biológicos son los radicales libres derivados de oxígeno (ROS) y sus metabolitos, por lo general se hace referencia como "metabolitos reactivos de oxígeno" [ROM's] (Miller *et al.*, 1993). Los ROS se forman continuamente como subproductos normales del metabolismo celular (Miller *et al.*, 1993) y, en bajas concentraciones, son esenciales para varios procesos fisiológicos, incluyendo la fosforilación de proteínas, la activación de factor de transcripción, la diferenciación celular, apoptosis, maduración de ovocitos, esteroidogénesis, inmunidad celular y defensa celular contra los microorganismos (Hoidal, 2001; Georgieva, 2005; Agarwal *et al.*, 2005). Sin embargo, cuando se produce en exceso, los radicales libres pueden deteriorar la funcionalidad de las células, ya que pueden dañar los lípidos celulares, proteínas y ADN (Miller *et al.*, 1993). ROS es un término colectivo que incluye no sólo los radicales libres centrados en el oxígeno, tales como el anión superóxido y el radical hidroxilo, sino también algunos radicales no derivados de oxígeno, como el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso y el óxido nítrico (Reilly *et al.*, 1991). Varios investigadores han reportado la utilidad de medición de ROS en la evaluación de estrés oxidativo en cabras (Di Trana *et al.*, 2006; Celi *et al.*, 2008; Celi *et al.*, 2010a), ovejas (Castillo *et al.*, 2001), y vacas lecheras (Bernabucci *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 2008; Pedernera *et al.*, 2010) para evaluar el estado de salud.

Durante estrés oxidativo, nuevos compuestos y estructuras modificadas de este modo se forman, y uno de ellos son los productos de oxidación avanzada de proteínas (AOPP). Los AOPP son productos terminales de proteínas expuestas a ROS y surgen de la reacción entre las proteínas del plasma y oxidantes clorados mediadas por la enzima mieloperoxidasa de neutrófilos (Fialová *et al.*, 2006; Noyan *et al.*, 2006). Estudios realizados en rumiantes han reportado niveles elevados de AOPP en corderos (Celi y Raadsma, 2009) y en vacas lecheras (Celi y Raadsma, 2010) suplementados con Yerba Mate (*Ilex Paraguensis*).

Los lípidos, en particular los poliinsaturados, son propensos a la oxidación, ya que son uno de los sustratos más susceptibles de liberar radicales y los biomarcadores de la peroxidación lipídica son considerados los mejores indicadores de estrés oxidativo (Georgieva, 2005). La concentración de malondialdehído (MDA) es uno de los varios productos finales de bajo peso molecular formados durante la descomposición inducida por radicales de ácidos grasos poliinsaturados (Janero, 1990). El MDA reacciona fácilmente con el ácido tiobarbitúrico por la producción de un pigmento rojo que puede medirse fácilmente por espectrofotometría en forma de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico [TBARS] (Janero, 1990). La peroxidación lipídica puede medirse a través de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox, por sus siglas en inglés). Las LDL son las portadoras principales de lípidos en el plasma y se componen de ésteres de colesterol, fosfolípidos, colesterol y triglicéridos libres, así como la apolipoproteína B (Matsuura *et al.*, 2008).

2.2.5.- Antioxidantes

Un antioxidante es cualquier sustancia que, cuando está presente en concentraciones bajas en comparación a las de un sustrato oxidable, retrasa significativamente o previene la oxidación de ese sustrato (Halliwell y Gutteridge, 1995; Gutteridge y Halliwell, 2010). El sistema de antioxidantes está representado por mecanismos enzimáticos, tales como la glutatión peroxidasa (GSH-Px), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa; o bien no enzimáticos, tales como las vitaminas A, C y E, urato, transferrina e incluso albúmina (Reilly *et al.*, 1991; Agarwal *et al.*, 2005; Noyan *et al.*, 2006). Existen metaloenzimas específicas para eliminar radicales superóxido: cobre-zinc superóxido dismutasa (Cu, Zn-SOD), localizado en el citosol y SOD manganeso (Mn-SOD), que se encuentra en las mitocondrias. Estas enzimas antioxidantes requieren algunos elementos traza esenciales en la dieta, tales como Mn^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} para SOD, Se para la glutatión peroxidasa y Fe para la catalasa (Miller *et al.*, 1993).

2.2.6.- Marcadores de estrés oxidativo (TOS, TAS y OSi)

El término “biomarcador” fue adaptado de la epidemiología molecular de los radicales biológicos libres (Offord *et al.*, 2000); se aplica igualmente a los productos derivados de lípidos, ADN, proteínas y consumo de antioxidantes. Información relativa a la naturaleza de la desnaturalización de estos radicales, así como la localización de estrés oxidativo, puede ser obtenida a partir del análisis de biomarcadores discretos aislados a partir de tejidos/orgánulos/fluidos (Griffiths *et al.*, 1988). Sin embargo, las diferencias en los modelos y metodologías vuelven difícil realizar comparaciones precisas (Piccione *et al.*, 2007; Celi, 2011a,b).

El estado oxidante total (TOS, status oxidant total) en plasma se considera como un indicador de la producción de radicales libres (Miller *et al.*, 1993). Cuando las reacciones metabólicas se exceden, los radicales libres se acumulan y puede ocurrir la perturbación del equilibrio redox y la producción de estrés oxidativo (Tanaka *et al.*, 2007a). Se ha sugerido la posibilidad de que la actividad metabólica pueda determinar el estado oxidante a través de correlaciones entre biomarcadores metabólicos y oxidativos dependiendo de la condición fisiológica de la vaca (Castillo *et al.*, 2005). De hecho, se han observado modificaciones de oxidantes y antioxidantes en plasma y eritrocitos en vacas durante el período de transición (Bernabucci *et al.*, 2002b) y en diferentes épocas (Liangron *et al.*, 2007). El período peri-parto (particularmente después del parto) se caracteriza por un estado antioxidante empobrecido y una disminución progresiva de la actividad antioxidante con el progreso de la lactancia (Bernabucci *et al.*, 2005), probablemente debido al agotamiento de los antioxidantes solubles en grasa a través de la leche (Castillo *et al.*, 2005).

En general, la producción de leche ha aumentado sustancialmente durante los últimos años, lo que ha traído como resultado el incremento de la densidad de nutrientes en la dieta de las vacas lecheras. Este aumento se ha logrado principalmente mediante la alimentación con más concentrados y menos forraje (Abuelo *et al.*, 2011b). Hoy se sabe que el estrés oxidativo influye significativamente en las enfermedades durante la producción (como cetosis, hígado graso, hipocalcemia clínica, retención de placenta, metritis y desplazamiento de abomaso) que son asociadas a este estado y que tienen un doble origen: a) por el exceso en la producción de oxidantes de origen metabólico, y que es mayor cuanto mayor sea la

producción, o b) por la disminución en los niveles de antioxidantes orgánicos, por agotamiento o por escaso aporte nutricional (Abuelo *et al.*, 2011b). Precisamente, la importancia del manejo nutricional en relación con el estrés oxidativo quedó patente en el estudio realizado en ovinos por Castillo *et al.* (2001). Asimismo, Yongqing *et al.* (2013) indicaron que dietas altas en carbohidratos fermentables afectan la homeostasis del rumen y producen estrés oxidativo en vacas lecheras. Hou *et al.* (2008) demostraron que vacas alimentadas con dietas altas en granos mostraron menor contenido de TAC y mayor contenido de MDA en suero. Gabai *et al.* (2004) informaron que dietas altas en almidón conducen a un aumento de estrés oxidativo en vacas lecheras en lactancia temprana, lo que podría ser causado por cambios en la fosforilación oxidativa. Adicionalmente se ha informado reducción del metabolismo oxidativo de la glucosa durante EC resultando en disfunción mitocondrial y aumento en la generación de ROS (Rhoads *et al.*, 2013).

Por otra parte la medición del estatus antioxidante total (TAS) considera la acción acumulativa de todos los antioxidantes presentes en el plasma y los fluidos del cuerpo, proporcionando así un parámetro integrado en lugar de la simple suma de antioxidantes medibles (Miller *et al.*, 1993, 1999; Ghiselli *et al.*, 2000). El TAS puede medirse a través de varios métodos, como Capacidad Antioxidante Equivalente en Trolox (TEAC; Miller *et al.*, 1993), Parámetro Antioxidante Total de Eliminación de Radicales (TRAP; Ghiselli *et al.*, 1995), Capacidad de Absorbancia de los Radicales de Oxígeno (ORAC; Cao *et al.*, 1993), Capacidad del Plasma Reduciendo el Ion Férrico (FRAP) y el Potencial Antioxidante Biológico (BAP; Benzie y Strain, 1996). Sin embargo, cambios en los componentes de los sistemas antioxidantes no son a menudo la causa, sino la consecuencia del estrés oxidativo

inducida por el aumento de la actividad de los radicales libres (Venditti y Meo, 2006). En ausencia de valores de referencia en rumiantes (Celi, 2011a), TAS puede proporcionar información biológicamente más relevante para describir de manera más efectiva el equilibrio dinámico entre pro oxidantes y antioxidantes en plasma (Ghiselli *et al.*, 2000).

El estrés oxidativo desempeña un papel clave en varias condiciones patológicas relacionadas con producción, reproducción y bienestar animal (Lykkesfeldt y Svendsen, 2007). Asimismo, numerosas metodologías de rápida evolución han surgido para evaluar estrés oxidativo, cada una con ventajas y desventajas propias, en su mayoría incluyen medidas directas o indirectas de oxidantes y antioxidantes (Celi, 2011a). En este sentido, varios investigadores (Young, 2001; Mandebvu *et al.*, 2003; Castillo *et al.*, 2006; Abuelo *et al.*, 2011a) han sugerido la importancia de evaluar no sólo las concentraciones de oxidantes y antioxidantes por separado, sino también analizar su relación a través de una proporción o relación, ya que el desequilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes define el concepto de estrés oxidativo. Sin embargo, el primer enfoque utilizando esta relación se hizo en medicina humana por Sharma *et al.* (1999). En ganado lechero, Celi (2011b) propuso el uso de la relación pro-oxidantes/antioxidantes como un índice indicativo de riesgo a desarrollar una enfermedad por el animal. Consistentemente, Abuelo *et al.* (2011a, 2013) y Castillo *et al.* (2013) indicaron que la evaluación conjunta a través de OSI muestra mayor precisión del estado oxidativo de los animales al encontrar diferencias que no estaban presentes con la evaluación separada de pro-oxidantes o antioxidantes. Sin embargo, se debe tener cuidado en la interpretación de los resultados, ya que variaciones individuales marcadas fueron

previamente informadas en otros biomarcadores de estado oxidativo en vacas lecheras peri-parto, influenciadas por muchos factores (Castillo *et al.*, 2005, 2006).

2.3.- Estrés por calor

Estrés calórico se puede definir como un estado fisiológico donde la temperatura interna del cuerpo de una especie dada excede su rango específico en actividad normal, que resulta de una carga de calor total (producción interna y del medio ambiente) superior a la capacidad de disipar calor (Yousef, 1985). Cabe mencionar que la capacidad de los rumiantes para regular su temperatura corporal es dependiente de la especie y la raza. Así, razas lecheras son típicamente más sensibles al EC que las razas cárnicas, porque generan más calor metabólico en climas calientes (Bernabucci *et al.*, 2010).

2.3.1.- Estrés por calor en ganado lechero

Las vacas lecheras están expuestas a diversas presiones metabólicas de adaptación hacia la alta producción láctea y de las condiciones ambientales, por lo que pueden experimentar estrés por calor (Bernabucci *et al.*, 2010). El grado de estrés térmico puede ser influenciado por las condiciones ambientales como la temperatura ambiente, humedad relativa, radiación solar y velocidad del viento (Arias *et al.*, 2008). Esta situación provoca al animal un estado de malestar debido a la incapacidad para disipar el exceso de calor corporal, afectándose negativamente la eficiencia productiva y reproductiva en el ganado lechero (Armstrong, 1994; West, 2003; Mader *et al.*, 2006). El ganado lechero lactando, por su elevado consumo de alimento, producen más calor metabólico, que sumado al calor que impera en el ambiente resulta en una excesiva carga de calor corporal (Fuquay, 1981), que

durante condiciones de EC causa un desequilibrio entre la producción de calor y su disipación (Conrad, 1985). Esta situación conlleva a la activación de respuestas fisiológicas, metabólicas, endocrinológicas y conductuales para reducir el estrés térmico (Kadzere *et al.*, 2002; West, 2003).

2.3.2.- Variables fisiológicas (TR, FR, TP, jadeo y sudoración)

Los parámetros fisiológicos como tasa respiratoria, frecuencia cardiaca, temperatura corporal y temperatura de la piel dan una respuesta inmediata a la tensión climática y, en consecuencia, al nivel de confort o des confort para el animal (Bianca, 1965). La excesiva carga de calor impuesta sobre el organismo por la temperatura ambiente, es expresada comúnmente con un aumento de la temperatura corporal (Berman *et al.*, 1985).

La temperatura rectal (TR) se reconoce como una medida importante del estado fisiológico, así como indicador ideal para la evaluación del estrés térmico en los animales (Srikandakumar y Johnson, 2004; Marko *et al.*, 2011). No obstante, cuando se registra esta variable se debe considerar el movimiento de los animales porque puede incrementar la temperatura corporal entre 0.5 y 3.5 °C en condiciones de altas temperaturas, pudiendo confundir los resultados (Mader *et al.*, 2007). La TR promedio del ganado lechero es de 38.5 °C, pero en condiciones de EC se puede incrementarse hasta 40.1 °C (Gwazdauskas, 1985). Incluso un aumento de menos de 1 °C en la TR es suficiente para reducir el rendimiento en la mayoría de las especies de ganado (McDowell *et al.*, 1976), mientras que el incremento en 1 °C en la TR, la producción de leche disminuye alrededor de 3.5 L (Marko *et al.*, 2011). Se ha observado que la TR empieza a incrementar a una temperatura ambiente entre 25 a

26 °C en vacas lactantes, independientemente de su nivel de producción (Berman *et al.*, 1985; Tapki *et al.*, 2006). Martello *et al.* (2010) reportaron una diferencia en la TR de 0.8 °C en vacas Holstein entre el invierno y el verano en Brasil. Padilla *et al.* (2006) informaron que la TR fue más alta durante el verano (39.8 °C) que en otoño (38.3 °C) en vacas lactantes. Tanaka *et al.* (2007b) indicaron un incremento gradual de la TR de mayo a septiembre, en un rango de 38.6 °C a > 39.0 °C fuera del control homeostático. Además el rango normal en TR es muy estrecho en la mayoría de los animales domésticos, aproximadamente no mayor a 2.5 °C.

Por otra parte, una respuesta importante al EC es la frecuencia respiratoria [FR] (Gaughan *et al.*, 2000). En bovinos en condición de EC, el motivo primordial de incrementar la FR es la pérdida de calor por vías respiratorias (Arias *et al.*, 2008), siendo ésta solo responsable del 15% de las pérdidas totales de calor (Finch, 1986; Maia *et al.*, 2005), mientras que el resto corresponde a otros mecanismos como conducción, convección y radiación (Maia *et al.*, 2005). La FR normal es de ~ 60 rpm en condiciones termoneutrales y de 80 a 120 en condiciones de EC moderadas; por encima de 120 rpm se estima que existe una excesiva carga de calor (Mount, 1979; Hahn *et al.*, 1997; Mader *et al.*, 2006). La FR en vacas lecheras estresadas por calor puede incrementarse hasta en 75% más de lo normal (20 rpm; Mount, 1979). Se ha observado un incremento del 6% en la FR a partir de 64 unidades de ITH (Marko *et al.*, 2011). De hecho, se sugiere que por cada unidad de respiración por arriba de 45 rpm, disminuye la cantidad de leche en aproximadamente 0.3 L (Marko *et al.*, 2011). Algunos autores han indicado que un incremento en la FR (50-60 rpm) puede iniciar a partir de una temperatura de 25 °C (Berman *et al.*, 1985). Sin embargo, en condiciones extremas, esto no resulta suficiente para lograr refrescar al animal, por lo

que la respiración vuelve a ser un poco más lenta pero más profunda (McGovern y Bruce, 2000). En este sentido, ganado bovino expuesto a una temperatura ambiente de 41.1 °C y humedad relativa de 78% mostró una tasa respiratoria de 102 rpm (Gwazdauskas, 1985). Wise *et al.* (1988) han reportado en vacas Holstein 126.4 rpm con un ITH de 86.2 unidades. Avendaño-Reyes *et al.* (2010) informaron que vacas lactantes alcanzaron una tasa respiratoria de 112 rpm con un ITH de 75 unidades. Sin embargo, cuando se incrementa la FR también se incrementa el uso de energía, contribuyendo a aumentar la producción de calor metabólico y, por consecuencia, la carga de calor corporal (Cain *et al.*, 2006).

Cuando el ganado está expuesto a condiciones ambientales cálidas, la respuesta inicial es la vasodilatación, lo que aumenta el flujo sanguíneo a la superficie de la piel y a las extremidades, seguido de la producción de sudor de las glándulas sudoríparas (Willmer *et al.*, 2004; Maia *et al.*, 2005). El aumento resultante en la temperatura de la piel y la extensión de la temperatura del centro hacia debajo de las extremidades aumenta el gradiente de temperatura entre la piel y el medio ambiente, lo que provoca mayor pérdida de calor por radiación y convección (Cunningham, 2002; Marai *et al.*, 2007, 2010). Si la temperatura de la piel se aproxima a la temperatura interna, la resistencia a la eliminación de calor debe disminuir o el calor se acumulará y aumentará la temperatura corporal (Finch, 1986).

Se conoce que las neuronas sensibles se encuentran en el área pre-óptica del hipotálamo, la piel y las vísceras. La información de estas neuronas sensibles al calor central y periférico están integradas en el hipotálamo para regular la vasodilatación y aumento del flujo sanguíneo de la piel. La información de los receptores centrales de temperatura predomina sobre la piel y los receptores viscerales, por lo que un

aumento de la temperatura central de sólo 0.5 °C provoca un aumento de siete veces en el flujo sanguíneo de la piel (Cunningham, 2002). La temperatura de la piel, aunque depende del color de la misma, puede ser un buen indicador del EC (Maia *et al.*, 2005; Martello *et al.*, 2010; Da Silva *et al.*, 2012).

La medición de la temperatura en diferentes sitios anatómicos del cuerpo en el animal puede ser utilizada como un indicador de estrés térmico en vacas lecheras lactantes (Martello *et al.*, 2010). Al respecto, estudios recientes señalan que las regiones superficiales muestran temperatura variable, dependiente de las influencias del entorno externo (Maia *et al.*, 2005; Ferreira *et al.*, 2006). Adicionalmente, se ha sugerido que animales más eficientes tienen menor temperatura de la superficie corporal que los animales menos eficientes (Da Silva *et al.*, 2011; Lima *et al.*, 2013). Maia *et al.* (2005) observaron que a temperaturas entre 10 y 20 °C, la evaporación de la piel representa de 20 a 30% del calor total disipado por el cuerpo del ganado. Cuando la temperatura supera 30°C, la evaporación de la piel alcanzó el 85% del total de las pérdidas por evaporación (Da Silva *et al.*, 2011). Asimismo, Pollard *et al.* (2005) indicaron que el ganado lechero es capaz de mantener la temperatura corporal interna hasta que las temperaturas superficiales de la piel son superiores a 35°C y 30 °C en la temperatura del aire (Allen, 1962). Por encima de esta temperatura en su superficie, las vacas comienzan a almacenar calor, a elevar su temperatura rectal, aumentan las pérdidas cutáneas de calor y la variación por evaporación (de la temperatura corporal) entre las vacas es mucho mayor que por debajo de 35°C. Esta variabilidad puede deberse a diferencias en el número (y la actividad) de glándulas sudoríparas y las características de la capa de pelo (Olson *et al.*, 2006; Da Silva *et al.*, 2012). De acuerdo con Baeta y Souza (2010), las pérdidas

por evaporación aumentan en porción significativa del calor que se elimina de la epidermis por la vaporización. La vaporización de 1 ml de agua requiere 2.43 joules y esta es la cantidad de calor perdido cuando 1 ml de agua se evapora por la piel o las vías respiratorias (Silanikove *et al.*, 2000). Berman *et al.* (1985) indicaron que la tasa máxima de evaporación de agua en las vacas lactantes fue de 1,5 kg/h, que se traduce en 4.3 kJ/d. En contraste la sudoración es considerada mucho más eficaz que el jadeo, ya que representa aproximadamente el 70 a 85% de la pérdida de calor por evaporación total que se produce cuando la temperatura del aire es de 31 °C (Da Silva *et al.*, 2011). Sin embargo otros estudios han señalado que las pérdidas de calor por radiación y convección pueden abarcar hasta 73 % de la pérdida total de calor (Hardy y DuBois, 1938; Ek *et al.*, 1999; Baccari; 2001; Maia *et al.*, 2005; Montanholi *et al.*, 2008).

En otro orden la condición corporal (CC) puede verse afectada durante la lactancia temprana y/o condiciones de estrés calórico, debido a una movilización de las reservas de grasa en el cuerpo. Estudios realizados bajo condiciones de EC no han reportado diferencias en la CC de vacas lactantes con o sin enfriamiento evaporativo (Avendaño-Reyes *et al.*, 2006, 2010), con respecto al nivel de producción láctea en verano (Flamenbaum *et al.*, 1995) y tampoco en condiciones de ambiente controlado (Shwartz *et al.*, 2009; Rhoads *et al.*, 2009; Wheelock *et al.*, 2010). Posiblemente debido a la activación de una serie de cambios metabólicos post-absorción, derivados de mecanismos ahorradores de glucosa (Rhoads *et al.*, 2010; Baumgard *et al.*, 2011, 2012), son en gran medida independientes de la reducción de la ingesta de alimento y del balance energético del animal, priorizando

el mantenimiento de la euthermia y dan prioridad homeorética a la síntesis de producto, ya sea leche o carne (Bauman y Currie, 1980; Baumgard *et al.*, 2011).

Contrariamente Garnosworthy y Topps (1982) reportaron un efecto negativo en la CC al parto sobre la producción de leche, ya que vacas delgadas (2.7 unidades) produjeron mayor cantidad de leche que vacas gordas (3.7 unidades). Consistente con lo reportado por Treacher *et al.* (1986) quienes encontraron que vacas de CC moderada (2.8 unidades) producen más leche que vacas obesas (3.9 unidades). La CC óptima en la producción de leche de vacas lecheras Holstein se considera entre 3.0 – 3.5, si sobre pasa este último puede resultar en la reducción de la producción láctea (Roche *et al.*, 2009).

2.3.3.- Producción de leche

En condiciones de EC, la productividad de los animales domésticos decrece (Cain *et al.*, 2006); se sabe que las temperaturas ambientales por encima de 28 °C reducen la producción láctea de vacas lecheras por la disminución en la ingesta de alimento (Barash *et al.*, 2001; West 2003) como respuesta compensatoria para mantener su homeotermia (Cain *et al.*, 2006; Nardone *et al.*, 2006). En verano se incrementa el intervalo entre partos, lo que reduce la eficiencia económica de la producción láctea, a la vez que crea una estacionalidad indeseable en el abasto de leche al mercado. La pérdida promedio anual de leche debido a la influencia del período caluroso del verano, es de 500 kg por vaca (Flamenbaum, 2010). Aunque el EC afecta negativamente a las vacas (lactando y secas) a lo largo de toda la lactancia el grado de afectación difiere según la etapa de la lactancia en la cual se sufrió dicho estrés. Cabe mencionar que vacas primíparas se consideran diferentes

de las múltiparas en cuanto a su calidad metabólica (Olsson *et al.*, 1998). Vacas primíparas en lactancia temprana muestran bajo consumo de alimento y producción de leche, pero un recambio óseo más activo (Iwama *et al.*, 2004). En consecuencia, vacas múltiparas y altas productoras son más sensibles a estrés térmico y a desarrollar estrés oxidativo en condiciones de calor (Tanaka *et al.*, 2008). Cuando el EC se ejerce en la mitad de la lactancia se afecta la persistencia de la misma: en vacas paridas a inicio del invierno, el nivel de producción hacia el décimo mes de lactancia es 63 % del pico de producción, comparado con solo 58 % en vacas que paren a principios de verano sin recibir enfriamiento en esta estación (Flamenbaum, 2010).

Asimismo, influencias negativas de los factores climáticos pueden causar una disminución de 3% a 10% en la producción de leche de vacas lactantes (Hristov *et al.*, 2007). Du Preez *et al.* (1990) reportaron que la producción de leche puede disminuir de 10 a 40% en vacas Holstein durante el verano en comparación con el invierno. De acuerdo con West (2003), cuando la temperatura ambiental es de 35 °C, disminuye la producción de leche en 33%, y cuando la temperatura alcanza 40 °C, puede reducirse hasta 50%. Tapki y Sahin (2006) reportan una reducción del 16.1% en la producción de leche en vacas de alta producción, mientras que las baja productoras redujeron su productividad en 11.6% entre junio y agosto. Así mismo, Novák *et al.* (2007) reportaron menor producción de leche cuando las vacas alcanzan su pico de producción (50 d) o en lactancia tardía (300 d) en los meses de verano. De hecho, vacas que paren al final del otoño hasta principios de primavera producen más leche (hasta 8%) que las que paren en verano, esto posiblemente debido a una interacción entre la luz del día y la temperatura ambiente (Kučera *et al.*, 1999).

Martínez-Borraz *et al.* (2012) reportó reducción del 16.4 % de la producción de leche en los meses de junio a agosto por efecto del EC.

Adicionalmente se prevé que el cambio climático aumente el número de días de cada año, cuando las vacas lecheras experimentan EC. En este sentido el uso de modelos de simulación ha permitido estimar que para el año 2025, la producción de emisiones de gases efecto invernadero incrementará los días de EC en un 25%, lo que podría significar una disminución de 35 a 210 kg de leche/vaca/año. La proyección de este mismo escenario para el año 2050, habrá un aumento del 60% de los días de EC, lo que podría provocar una reducción de 85 a 420 kg de leche/vaca/año (Crimp *et al.*, 2010).

2.3.4.- Composición de la leche (PC, GR, SNG y CCS)

El calor veraniego afecta negativamente el contenido de grasa y proteína en la leche, y hace aumentar el conteo de células somáticas, lo que disminuye significativamente la calidad de la leche. Algunos autores han reportado cambios estacionales (Todorova, 1998) y efectos de la temperatura del aire (Muroya *et al.*, 1997) en fracciones de proteína de la leche. Adicionalmente se ha sugerido que el EC altera el metabolismo de las proteínas disminuyendo sus niveles en la leche en condiciones de EC (Rhoads *et al.*, 2009; Shwartz *et al.*, 2009), y parece que en mayor medida la síntesis de α y β -caseína (Bernabucci *et al.*, 2002a). Altas temperaturas ambientales reducen 0.01 kg/°C la producción de proteínas de la leche en vacas lecheras (Barash *et al.*, 2001). Bahashwan (2014) reporto disminución del 7.5% en la producción de proteína entre la época frío y calor en vacas dhofari. Además, otros estudios informan una caída en la concentración de proteína de la

leche en entornos cálidos (Itoh *et al.*, 1998; Terada y Shioya 1998), también como resultado de la ingesta restringida de alimento (Vicini *et al.*, 2002; Pacheco *et al.*, 2003).

Entornos de EC se han asociado con depresiones en el porcentaje de grasa de la leche (Rodríguez *et al.*, 1985). Ravagnolo *et al.* (2000) encontraron una disminución en la producción de grasa de la leche de 0.012 kg por cada unidad de incremento en el ITH cuando éste superó 72 unidades. El EC redujo significativamente el contenido de grasa en leche al pasar de 3.58% durante la primavera, hasta 3.24% en verano (Bouraoui *et al.*, 2002). Contrariamente, Schwartz *et al.* (2009) indicaron que vacas estresadas por calor en ambiente controlado no redujeron la concentración de grasa de la leche, similar a lo reportado por otros autores (Roman-Ponce *et al.*, 1977; Knapp y Grummer, 1991).

El EC se asocia con cambios en el conteo de células somáticas (CCS) en la leche y la frecuencia de mastitis (Du Preez *et al.*, 1990). El CCS es generalmente más bajo durante el invierno y más alto durante la temporada de verano (Khate y Yadav, 2010). Esto probablemente debido a que durante el verano, el crecimiento y número de bacterias del medio ambiente se incrementan en el material de cama del ganado estabulado debido a que la temperatura y humedad son favorables (Harmon, 1994; Nardone *et al.*, 2010). Smith *et al.* (2013) reportaron un incremento en la concentración de células somáticas por efecto del EC en verano, tanto en ganado Holstein como Jersey. Consistentemente, Hammami *et al.* (2013) informaron un incremento en el número de CS bajo condiciones de altas temperaturas. En presencia de enfermedades inflamatorias como la mastitis (Weiss *et al.*, 2004), existe un aumento en la peroxidación de lípidos que causa una disminución en los niveles

de algunas moléculas antioxidantes en consecuencia al estrés oxidativo (Goff *et al.*, 1996; Komine *et al.*, 2004). Esto indica la relación entre el estado oxidativo y mastitis, uno de los problemas más graves en vacas lecheras (Kleczkowski *et al.*, 2006).

2.3.5.- Estrés oxidativo

Existe evidencia que el EC induce la producción de radicales libres derivados del oxígeno, por consiguiente, se muestran algunos efectos deletéreos del estrés por calor (Mitchell y Russo, 1983; Loven, 1988). El estrés oxidativo estimula la producción de radicales libres y ROS, y se piensa que está involucrado en la etiología de muchas enfermedades (Halliwell y Gutteridge, 1990) por reducir la actividad metabólica de varios tejidos, por consiguiente, disminuye el rendimiento de los animales domésticos.

El estrés oxidativo comúnmente ocurre después del EC en regiones áridas, semiáridas y tropicales afectando la fisiología y productividad de los animales (Dehghan *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2011; Ganaie *et al.*, 2013). La hipertermia se ha propuesto como responsable de estimular la producción de ROS, pero en patrones similares de la expresión de genes que incluyen proteínas de choque térmico y a la vez estrés oxidativo (Schiaffonati *et al.*, 1990; Rhoads *et al.*, 2013). Alta temperatura ambiental estimula la producción excesiva de ROS, especialmente anión superóxido y peróxido de hidrógeno (Siva Kumar *et al.*, 2007). La influencia de variaciones de temperaturas ambientales sobre la actividad de enzimas antioxidantes (Harmon *et al.*, 1997; Bernabucci *et al.*, 2002b; Burke *et al.*, 2009; Kataria *et al.*, 2010), e incremento de peroxidación de lípidos (Bhat *et al.*, 2010; Bernabucci *et al.*, 2010) se

ha reportado en varias investigaciones como la principal respuesta adaptativa de las vacas a condiciones ambientales adversas.

En las últimas décadas, la información sobre estrés oxidativo en animales domésticos bajo EC se ha incrementado, sobre todo en aves de corral (Donkoh, 1989; Mujahid *et al.*, 2005). Los efectos de EC sobre el índice de estrés oxidativo en el plasma de vacas lecheras han sido evaluados por algunos investigadores. En general, se han informado cambios en el perfil de marcadores de estrés oxidativo en plasma y eritrocitos de vacas lecheras que conducen a un aumento de estrés oxidativo en condiciones cálidas (Castillo *et al.*, 2003; Bernabucci *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 2007b; Calamari *et al.*, 1999). Aitken *et al.* (2009) indicaron un incremento de la actividad de GSH-Px1 como respuesta citoprotectora contra daño oxidativo durante el inicio de la lactancia. Hidgon y Freid, (2003) y Bernabucci *et al.* (2010), establecieron la relación entre el metabolismo de lípidos y estrés oxidativo en vacas lecheras periparto. Recientemente Tanaka *et al.* (2008) sugirieron una posible relación entre el estrés oxidativo durante temporadas de calor y la producción de leche en vacas primíparas. Consistentemente, varios estudios (Kolb y Seehawer, 2000; Lührke *et al.*, 2005; Tanaka *et al.*, 2008; Anjali *et al.*, 2013; Turk *et al.*, 2013) demostraron que el nivel de producción de leche está asociado con estrés oxidativo por el aumento del metabolismo celular y mayor consumo de oxígeno durante la síntesis adicional de leche. El EC incrementa la producción de ROS, por consiguiente, el desarrollo de estrés oxidativo en vacas sin importar su estado fisiológico (Harmon *et al.*, 1997; Trout *et al.*, 1998; Calamari *et al.*, 1999; Bernabucci *et al.*, 2002b; Lakritz *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2007b; Sakatani *et al.*, 2012).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

El estudio se realizó entre los meses de Febrero y Julio del 2011, en el establo comercial “Magaña”, ubicado en el ejido Morelia, Valle de Mexicali, Baja California, México (36° 26´ LN, 115°11´ LO y altitud de 14 msnm). El clima en la región es árido y extremo, con temperatura máxima de 52 °C en verano y mínima de -6 °C en invierno. La precipitación media anual es de 86 mm, la cual se considera errática y se concentra principalmente en los meses de Noviembre y Diciembre (García, 1985). La colección de datos se realizó en el mes de febrero por considerarse la parte fría en época de invierno (diciembre a principios de marzo) y en julio por ser el mes intermedio de los meses (junio – agosto) más calientes del año 2011.

3.2. Animales, manejo y tratamientos

Un total de 40 vacas multíparas lactantes de raza Holstein Friesian fueron seleccionadas, 20 en invierno y 20 en verano, considerando vacas multíparas (2 – 3 partos) y días en producción de leche entre 100 y 150 (133.3 ± 4.63 en invierno y 137.6 ± 6.32 en verano). Las vacas se alojaron en un corral abierto provisto de sombra, comederos en línea y bebederos. La sombra estaba ubicada al centro del corral y a lo largo del comedero, el cual abarcaba todo el lado norte del corral. Diariamente, los animales se alimentaron mañana y tarde con un concentrado comercial y heno de alfalfa *ad libitum*. El agua se ofreció sin restricción. Se colectaron muestras de alimento ofrecido para análisis de composición química en el laboratorio de nutrición animal del ICA-UABC (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de la ración basal ofrecida durante las dos épocas del año a los grupos de vacas Holstein.

Composición de ingredientes (g/kg de alimento)	
Heno de alfalfa	600
Concentrado comercial*	400
Composición química (g/kg)	
Materia seca	981.6
Proteína cruda (PC)	180.0
Grasa (extracto etéreo)	42.08
Cenizas	72.6
Fibra detergente neutro (FDN)	339.1
CNE**	366.2

*Generaleche 958 (Agribands Purina México, SA de CV, México, DF)

Contiene: 310 g/kg de carbonato de calcio; 180 g/kg de óxido de magnesio, 390 g/kg fosfato dicálcico; 120 g/kg de sal.

El contenido de energía de la ración (NE_L) fue de 1.10 Mcal/kg MS.

**Carbohidratos No Estructurales (g/kg) = [1000 - (cenizas + CP + FND + grasa)].

3.3. Descripción de instalaciones

3.3.1. Sombras y corrales

Las sombras están construidas con techos de lámina galvanizada con estructura de tubo de acero, con orientación norte-sur y ubicación al centro del corral. Las medidas de los corrales fueron 94.12 x 54.0 m dando un total de 5082.48 m² correspondiendo 20.3 m² a cada animal. Las dimensiones de las sombras fueron 94.12 x 7.35 m con 4.0 m de altura. Los corrales estaban construidos con postes de tubo y varilla de acero, en la parte norte se encontraba el área de comederos, la cual contaba con trampas individuales unidas entre sí (0.63 m de ancho, 0.91 m de altura a partir de la pared interna del comedero), tipo semiautomáticas de inmovilidad. A lo largo del comedero tenía un piso con anchura de 3.20 m que mide lo mismo de largo del corral, las dimensiones del comedero de forma trapezoidal son: ancho inferior 0.61 m, ancho superior 0.67 m, altura interna 0.64 m y altura externa 0.45 m, cuenta con 3

bebederos distribuidos al este, en centro y oeste de la línea de sombra al centro del corral, que mide 3.0 x 0.80 m con 0.40 m de fondo.

3.4. Mediciones y muestreo

3.4.1. Condiciones climáticas

Los datos de temperatura ambiental y la humedad relativa se obtuvieron las 24 h del día correspondientes al periodo experimental, a través del Departamento de Meteorología del Instituto de Ingeniería de la UABC; con esa información se calculó el ITH mediante la fórmula propuesta por Hahn *et al.* (1999):

$$\text{ITH} = (0.81 * T_{\text{amb}}) + [\text{HR} * (T_{\text{amb}} - 14.4)] + 46.4 \quad (\text{ecuación 1})$$

Dónde:

ITH = Índice de Temperatura Humedad (U)

T_{amb} = Temperatura ambiental (°C)

HR = % Humedad Relativa (expresado en decimales).

3.4.2. Variables fisiológicas

La temperatura rectal (TR), la frecuencia respiratoria (FR) y la temperatura en distintas partes de la piel (cabeza, costado derecho, ubre y nalga) fueron registradas individualmente por la mañana (06:30 h) y tarde (15:00 h) en cada día de muestreo. La temperatura rectal se midió con un termómetro digital transrectal (Delta Track CA™, USA); mientras la temperatura de diferentes regiones de la piel (cabeza, ubre, costado derecho y nalga) fueron medidas en grados centígrados con un termómetro infrarrojo tipo pistola (Raytek, Modelo ST-20, CA™, USA) a una distancia de 1.5 m del animal, cuidando que el animal estuviera siempre bajo sombra. La frecuencia

respiratoria fue medida por conteo del movimiento del espacio intercostal durante un minuto y se expresó en respiraciones por minuto (rpm).

3.4.3. Condición corporal

La condición corporal de las vacas se registró individualmente cada día de muestreo usando una escala de 1 a 5 (1 = muy flaca y 5 = muy gorda; Wildman *et al.*, 1982), y siempre fue realizada por el mismo evaluador.

3.4.4. Variables de producción y composición de leche

La producción de leche diaria (PL) fue registrada colocando pesaleches (Waikato, Inter Ag, Hamilton, Nueva Zelanda) en la línea de ordeño durante la mañana y tarde. Una muestra de leche por vaca se colectó en el ordeño de la mañana para determinar porcentajes de contenido de grasa (G), proteína cruda (PC) y sólidos no grasos (SNG) usando un analizador de leche automático (Lactichек™ LC-01, P&P, USA). Además, en la misma muestra se midió temperatura de la leche con un termómetro digital (Delta Track, CA[®], USA) y conteo de células somáticas (CCS) con un equipo (DCC™, De LAVAL, WC, USA). Con la información de producción y composición de la leche se calculó la producción de leche corregida a 3.5% de grasa [LCG] (Parekh, 1986) usando la fórmula:

$$LCG = [(0.425 \times PL) + (16.425 \times ((\% G/100) \times PL))] \quad (\text{ecuación 2})$$

También se calculó la energía en leche [EL] (Tyrrell and Reid, 1965) usando la fórmula:

$$EL \text{ (Mcal/d)} = \{[(40.72 \times \%G) + (22.65 \times \%PC) + 102.77] / 1000\} \times 2.204 \times PL$$

(ecuación 3)

Adicionalmente se calculó la energía corregida en leche [ECL] (Orth, 1992) usando la fórmula:

$$\text{ECL (kg/d)} = [(\text{kg PL} * 0.327) + (\text{kg G} * 12.95) + (\text{kg PC} * 7.2)] \text{ (ecuación 4)}$$

Utilizando la producción de leche y algunas constantes desarrolladas por Baumgard *et al.* (2011), se calculó el contenido de lactosa en la leche [LAC] usando la fórmula:

$$\text{LAC (kg/d)} = [(\text{Kg PL} * 0.072) / (2*0.95)] \quad \text{(ecuación 5)}$$

A los datos del conteo de células somáticas se le aplicó una transformación logarítmica (TCCs) para introducir normalidad en los datos colectados.

3.4.5. Metabolitos sanguíneos

Se colectaron muestras sanguíneas por punción de la vena coccígea en tubo vacutainer de 10 ml por la tarde (16:00 h) en cada día de muestreo. Después de la extracción, los tubos con sangre se colocaron en refrigeración y se transportaron en una hielera al laboratorio para ser centrifugadas a 3500 rpm durante 15 min a temperatura de 10 °C. El suero fue separado y colocado por duplicado en alícuotas de 2 ml, para posteriormente almacenarlo a -20 °C hasta la determinación de metabolitos (glucosa, colesterol y triglicéridos) y marcadores de estrés oxidativo (estado oxidativo total [TOS] y estado antioxidante total [TAS]). La concentración de metabolitos se determinó con un lector de química sanguínea (Modelo DT-60, Johnson & Johnson Co., High Wycombe, UK).

3.4.6. Variables oxidativas (TOS) y (TAS) en plasma

La concentración de TOS y TAS se determinó por el método de Elisa, usando kits comerciales (Mega Tip San ve Tic Ltd Sti, Gaziantep, Turkey) utilizando el

método colorimétrico automatizado (Erel, 2005). Con la información de la concentración de TOS y TAS se calculó el índice de estrés oxidativo (OSI) usando la fórmula propuesta por Harma *et al.* (2006), siendo:

$$\text{OSI} = [(\text{TOS} / \text{TAS}) * 100] \quad (\text{ecuación 6})$$

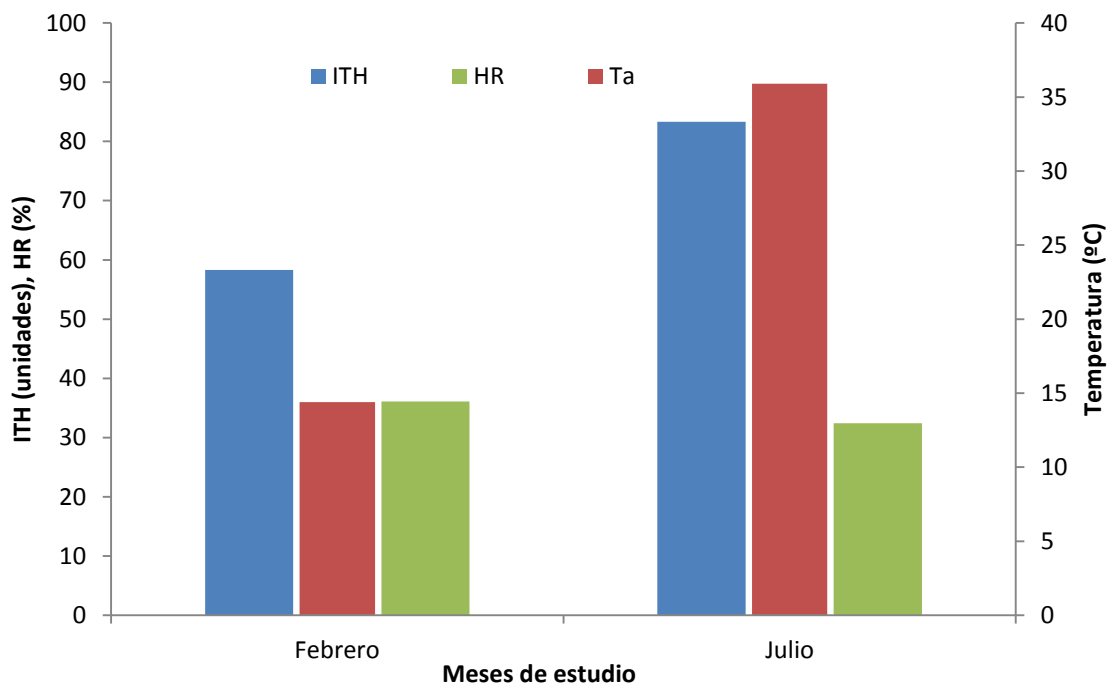
3.5. Análisis estadístico

Toda la información se sometió a un análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar donde el tratamiento fue la época del año (Invierno y Verano), usando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS (SAS, 2004). Cuando se detectaron diferencias a un $\alpha = 0.05$, se realizaron comparaciones de medias ajustadas a través de una prueba de “t” de Student. Cuando las probabilidades oscilaron entre 0.05 y 0.10, se consideró como tendencia.

4. RESULTADOS

4.1. Condiciones Ambientales

Las condiciones ambientales observadas a través del periodo experimental se presentan en la gráfica 1. Los promedios mensuales de Ta, HR e ITH fueron 14.4 °C, 36.1 % y 58.3 unidades en invierno, mientras que en verano las mismas variables climáticas fueron 35.9 °C, 32.4 % y 83.3 unidades, respectivamente.



Gráfica 1. Promedios mensuales de temperatura ambiental (Ta), humedad relativa (HR) e índice de temperatura-Humedad (ITH) durante el periodo experimental.

En el Cuadro 2 se presentan las variaciones en la temperatura ambiente (Ta, °C), humedad relativa (HR, %) y unidades de ITH en el establo registradas durante los meses de medición. La temperatura ambiente promedio durante los meses de muestreo ascendió a 21.5 °C (rango de 14.4 °C a 35.9 °C), mientras que el valor promedio de humedad relativa disminuyó 3.7 % (de 36.1% a 32.4%). Durante el estudio el valor medio de ITH incrementó 26.1 unidades (de 58.3 a 83.3 unidades), superando el nivel crítico de confort de 72 unidades.

Cuadro 2. Promedios, máximas y mínimas de temperaturas ambiente, humedad relativa y unidades de ITH por mes del año.

Mes	Temperatura ambiente (°C)			Humedad Relativa (%)			Índice de Temperatura-Humedad		
	Mín.	Máx.	Prom.	Mín.	Máx.	Prom.	Mín.	Máx.	Prom.
Enero	8.2	22.2	14.8	19.2	55.0	36.2	52.7	66.4	58.7
Febrero	8.4	21.1	14.4	19.9	56.0	36.1	52.9	65.3	58.3
Marzo	13.8	27.7	27.7	16.3	51.2	32.5	57.7	72.8	72.8
Abril	18.3	31.7	25.0	13.2	45.5	26.8	62.2	78.0	69.6
Mayo	19.1	34.1	26.7	10.9	41.2	16.4	63.0	81.0	71.6
Junio	24.5	40.7	32.8	8.7	39.0	21.2	69.0	90.4	79.3
Julio	29.4	42.7	35.9	15.8	54.5	32.4	74.8	93.3	83.3
Agosto	29.1	43.5	36.7	12.9	54.8	30.6	74.5	94.6	84.4
Septiembre	27.5	40.9	34.4	16.8	56.5	34.5	72.5	90.6	81.4
Octubre	20.9	35.0	28.0	15.2	67.6	37.5	59.8	82.0	69.7
Noviembre	13.1	25.9	19.2	14.8	52.1	30.4	63.9	81.4	72.9
Diciembre	7.6	20.4	14.6	36.2	84.9	62.6	59.8	82.0	69.7

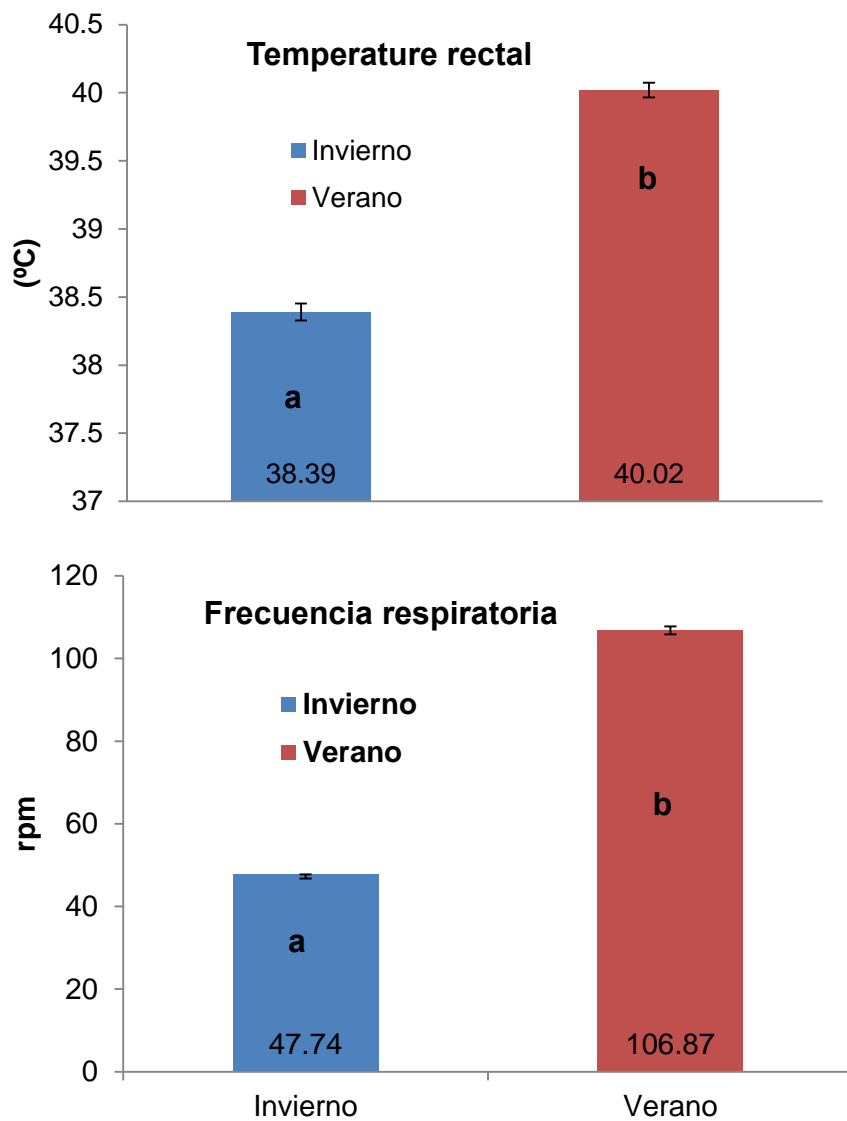
4.2. Variables fisiológicas

En el cuadro 3 se presentan los resultados de variables fisiológicas registradas. La temperatura rectal, la frecuencia respiratoria y la temperatura de las diferentes regiones anatómicas fueron diferentes ($P < 0.01$) en invierno y verano.

Cuadro 3. Efecto de época sobre respuestas fisiológicas de vacas Holstein lactantes.

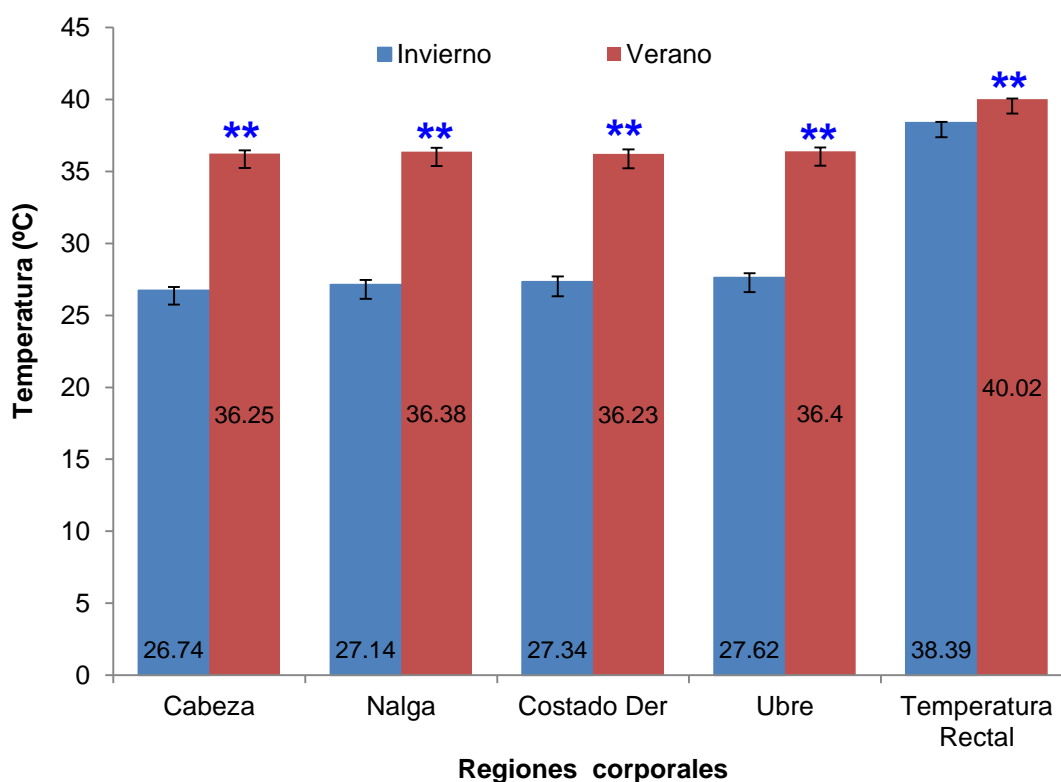
Variable	Época		Valor de P
	Invierno	Verano	
Condición corporal (unidades)	3.54 ± 0.05	3.48 ± 0.04	0.4317
Temperatura rectal (°C)	38.39 ± 0.06	40.02 ± 0.05	< .0001
Frecuencia respiratoria (rpm)	47.74 ± 1.05	106.87 ± 0.90	< .0001
Temperaturas de la piel			
Nalga (°C)	27.14 ± 0.32	36.38 ± 0.27	< .0001
Costado derecho (°C)	27.34 ± 0.36	36.23 ± 0.31	< .0001
Ubre (°C)	27.62 ± 0.32	36.40 ± 0.27	< .0001
Cabeza (°C)	26.74 ± 0.24	36.25 ± 0.21	< .0001

Se observó que la tasa respiratoria fue dos veces mayor (106.87 vs 47.74 rpm) en verano que en invierno ($P < 0.01$), mientras que la temperatura rectal alcanzó 1.6 °C (40.02 vs 38.39) más ($P < 0.01$) en verano (gráfica 2). Además, se detectó que los principales mecanismos de termorregulación usados por las vacas a cualquier condición de estrés por calor es un incremento en la frecuencia respiratoria y pérdidas de calor piel (cabeza y nalga) en horas de baja radiación solar.



Gráfica 2. Variación de la temperatura rectal y frecuencia respiratoria por efecto de la época del año. ^{a,b} Diferencias entre medias altamente significativas (P < 0.0001).

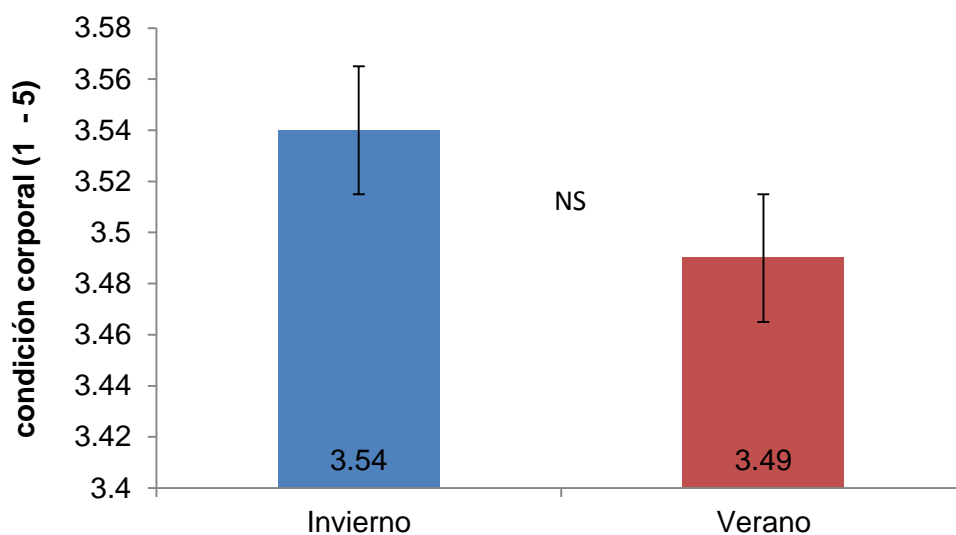
Las temperaturas de la piel en cabeza, nalga, costado derecho y ubre se vieron incrementadas en 36%, 34%, 33% y 32% respectivamente, y también la temperatura rectal (4.2%) en verano cuando se comparó con el grupo de vacas de invierno (gráfica 3). En general, las temperaturas de la piel en flanco derecho, nalga, ubre y cabeza, fueron alrededor de 10 °C más altas ($P < 0.05$) en verano que en invierno.



Gráfica 3. Efecto de la época sobre la temperatura de la piel en distintas regiones corporales de vacas Holstein lactantes estresadas por calor (** indica diferencias entre épocas a $P < 0.01$).

4.3. Condición corporal

La condición corporal no fue afectada ($P > 0.05$) por la época del año, es decir, no difirió estadísticamente entre invierno y verano [3.54 ± 0.05 vs 3.48 ± 0.04 unidades respectivamente] (gráfica 4). Por lo tanto, la CC fue solo numéricamente menor en verano ($P = 0.4317$).



Gráfica 4. Promedios de condición corporal por efecto de la época en vacas Holstein lactantes (NS = no significativo $P > 0.05$).

4.4. Producción y composición de leche

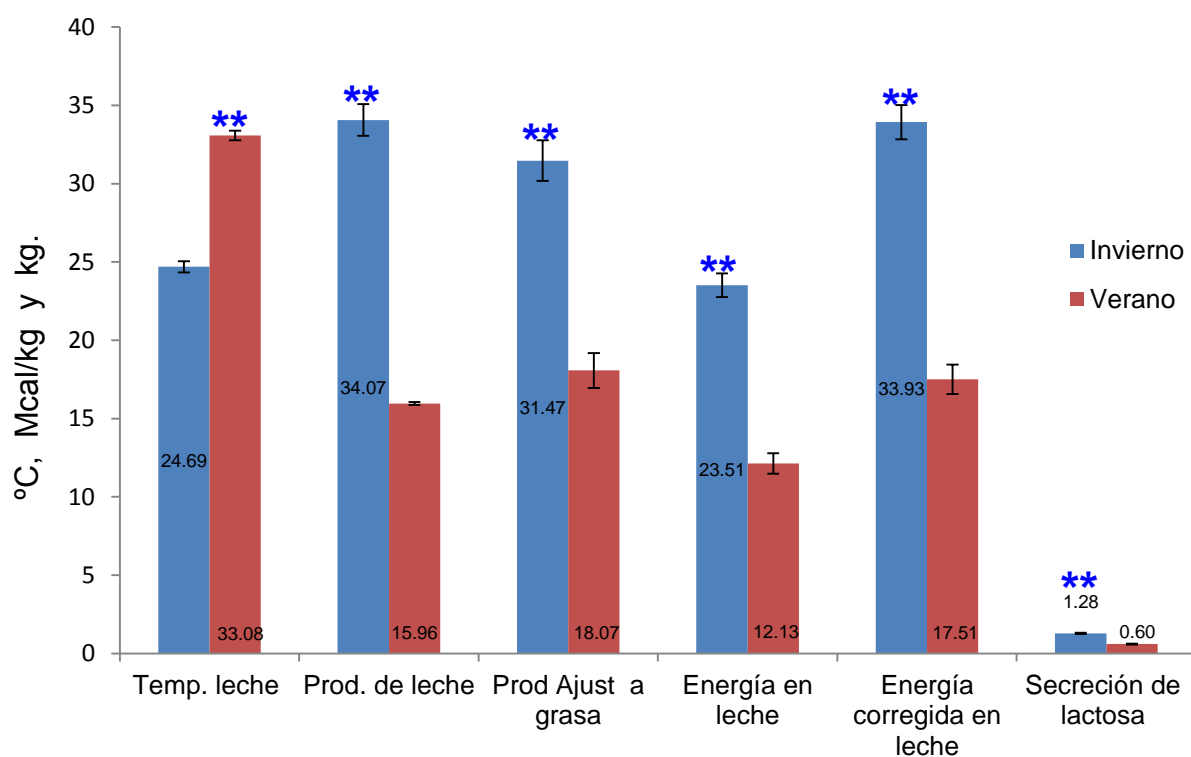
En el cuadro 4 se presentan los resultados de producción y composición de la leche. Las vacas presentaron similar número de días en lactancia entre épocas (133.3 ± 4.63 y 137.6 ± 6.32 d, en invierno y verano, respectivamente). En invierno, la producción de leche corregida al 3.5% de grasa, energía y energía corregida en leche fueron mayores ($P < 0.01$), mientras que la temperatura de la leche, el número de células somáticas, así como los porcentajes de grasa ($P = 0.0003$) y proteína cruda ($P = 0.0337$) fueron menores, comparado con el verano. Asimismo, el porcentaje de sólidos no grasos ($P = 0.0977$) solo tendió a incrementarse en el verano.

Cuadro 4. Efecto de época sobre la producción y composición de la leche en vacas Holstein lactantes.

Variable	Época		Valor P
	Invierno	Verano	
Temperatura de la leche (°C)	24.69 ± 0.36	33.08 ± 0.31	< .0001
Producción de leche (kg/d)	34.07 ± 1.01	15.96 ± 0.87	< .0001
LCG al 3.5 % (kg/d)	31.47 ± 1.30	18.07 ± 1.12	< .0001
EL (Mcal/d)	23.51 ± 0.76	12.13 ± 0.65	< .0001
ECL (kg/d)	33.93 ± 1.09	17.51 ± 0.94	< .0001
LAC (kg/d)	1.28 ± 0.04	0.60 ± 0.03	< .0001
Grasa (%)	3.24 ± 0.14	3.97 ± 0.12	0.0003
SNG (%)	9.23 ± 0.08	9.41 ± 0.07	0.0977
Proteína (%)	3.48 ± 0.03	3.57 ± 0.03	0.0337
CCS (Células *1000/ml)	242.12 ± 160.6	467.08 ± 138.05	0.2948
TCC _S (unidad arbitraria)	4.39 ± 0.32	5.32 ± 0.28	0.0358

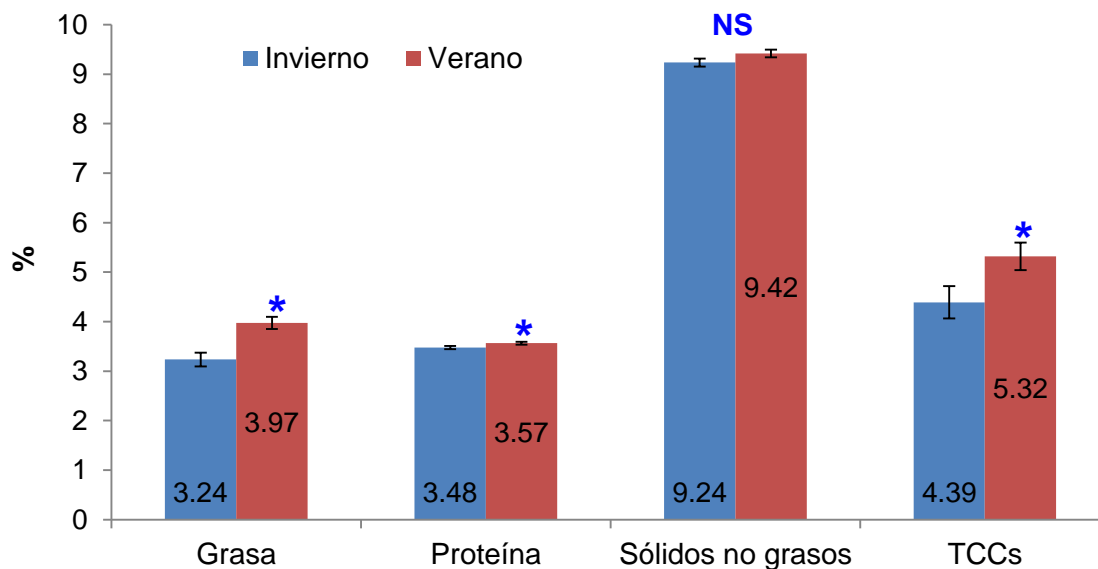
LCG a 3.5%= Leche corregida al 3.5% de grasa, **EL** = Producción de energía en leche, **ECL** = Energía corregida en leche, **LAC** = Lactosa en la leche, **SNG** = Sólidos totales no grasos **CCS** = Conteo de células somáticas, **TCCs** = Transformación logarítmica de CCS.

La producción de leche se redujo en más del 50 % ($P < 0.05$) en verano, observándose reducciones de 42 % en la producción de leche ajustada a 3.5 % de grasa y de 48 % en la producción de energía y energía corregida en leche (gráfica 5).



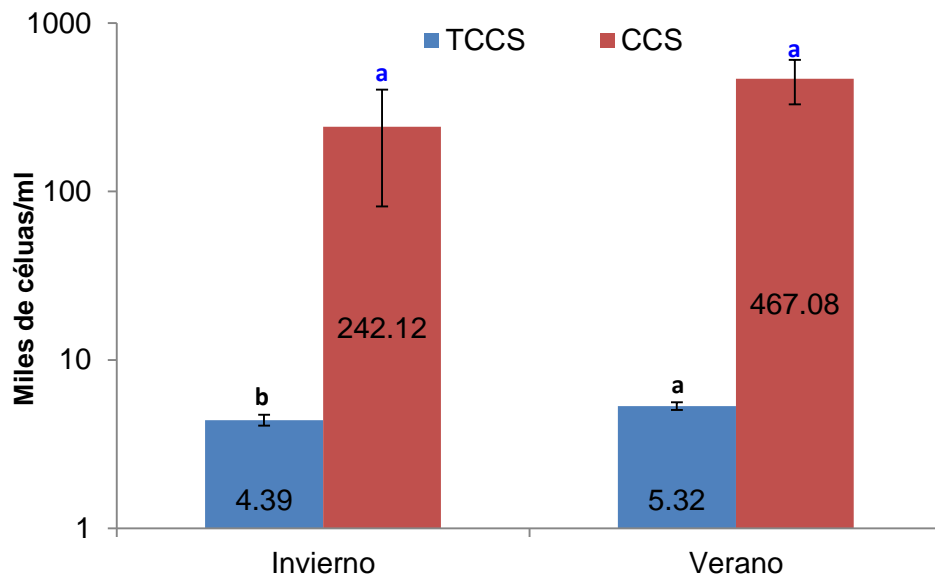
Gráfica 5. Efecto de la época sobre la producción de leche en vacas Holstein lactantes. (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ indican diferencias entre época).

Los porcentajes de grasa y proteína en leche fueron mayores ($P < 0.05$) en verano. Asimismo, el porcentaje de sólidos no grasos tendió ($P = 0.0977$) a incrementarse en el verano (gráfica 6). El porcentaje de grasa y el número de células somáticas en la leche se incrementó en más del 20 %, asimismo el contenido de proteína aumentó 2.6 % en verano, observándose una tendencia a incrementarse de 1.96 % el porcentaje de sólidos no grasos en leche y de 48.4 % en la producción de leche ajustada a 3.5 % de grasa en invierno (gráfica 6).



Gráfica 6. Efecto de la época sobre la composición de la leche en vacas Holstein lactantes. (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ indican diferencias entre cada época y NS no significativo).

El conteo de células somáticas (CCS) sin transformar no difirió entre época, sin embargo, cuando se utilizó la transformación logarítmica, se observó que TCCs fue mayor ($P = 0.0358$) en verano. Esta diferencia, que se muestra en la gráfica 7, se atribuye al efecto del estrés por calor al que estuvieron expuestas las vacas lecheras durante el periodo de verano.



Gráfica 7. Número de células somáticas en la leche de vacas Holstein lactantes por efecto de la época del año. ^{a,b} literales diferentes indican diferencias ($P < 0.05$).

4.5. Metabolitos sanguíneos (glucosa, triglicéridos y colesterol)

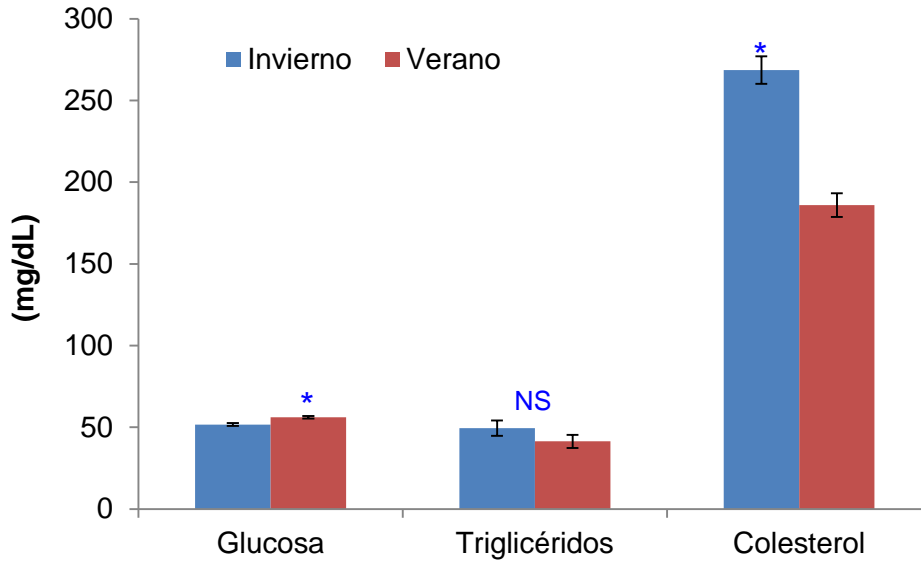
La concentración de colesterol fue menor ($P < 0.05$) en verano, mientras que la de glucosa fue mayor ($P < 0.05$) en la misma época. No obstante, la concentración de triglicéridos ($P > 0.05$) fue similar en ambas épocas (cuadro 5 y gráfica 7). Sin embargo, los niveles de glucosa presentaron un incremento de 8.49 % en verano, contrariamente las concentraciones de colesterol disminuyeron un 30.73 % en la misma época. Aunque los niveles de triglicéridos no fueron afectados por la época, se observó un decremento de 16.52 % en los niveles en plasma.

Cuadro 5. Efecto de época del año sobre la concentración de metabolitos y marcadores de estrés oxidativo en suero de vacas Holstein lactantes.

Variable	Época		Valor P
	Invierno	Verano	
Glucosa (mg/dL)	51.70 ± 0.95	56.09 ± 0.81	0.0012
Triglicéridos (mg/dL)	49.53 ± 4.69	41.35 ± 4.03	0.1941
Colesterol (mg/dL)	268.53 ± 8.40	186.0 ± 7.22	< .0001
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eq/L)	4.62 ± 0.28	4.94 ± 0.24	0.3885
TAS ($\mu\text{mol Trolox}$ Eq/L)	685.35 ± 23.2	489.65 ± 19.95	< .0001
OSI (Carr U)	0.69 ± 0.05	1.02 ± 0.05	< .0001

TOS = estado oxidante total; **TAS** = estado antioxidante total;

OSI = índice de estrés oxidativo

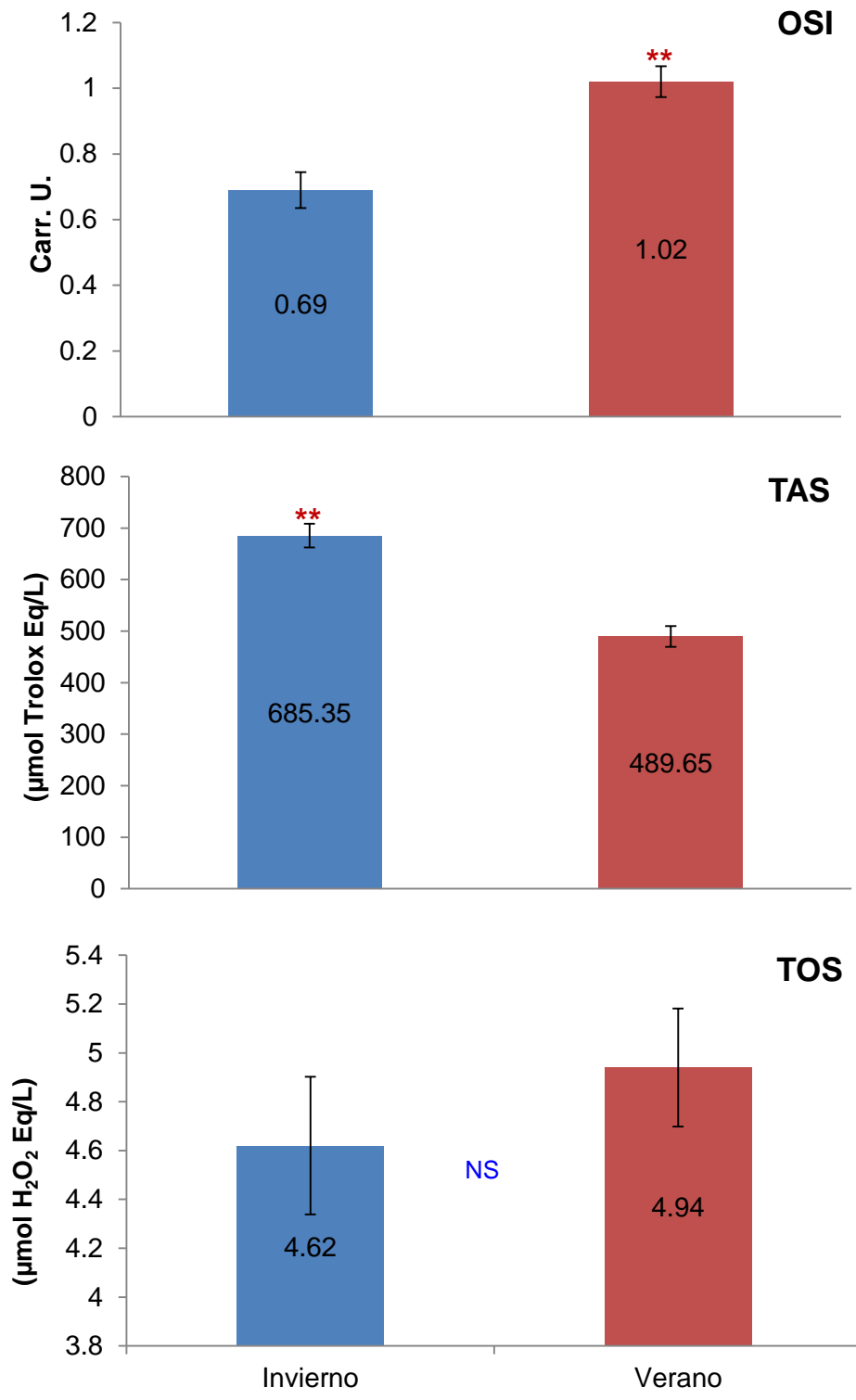


Gráfica 8. Efecto de la época sobre la concentración sérica de metabolitos de vacas Holstein lactantes (* $P < 0.05$ indican diferencias entre épocas y NS no significativo).

4.6. Variables oxidativas (TOS, TAS y OSI)

Las concentraciones de TOS fueron similares ($P = 0.3885$) entre las épocas, pero el TAS fue mayor ($P < 0.01$) y el OSI menor ($P < 0.01$) en invierno que en verano (Cuadro 5). En general los niveles de TAS cayeron 28.55 % en verano, contrariamente el OSI incremento un 47.83 % en la misma época, así también las concentraciones de TOS presentaron un ligero incremento [6.93 %] (gráfica 8).

La gráfica 8 muestra la variación de los niveles séricos de pro-oxidantes (TOS), capacidad antioxidante (TAS) e Índice de estrés oxidativo (OSI) en el periodo evaluado.



Gráfica 9. Efecto de la época sobre la concentración sérica de marcadores de estrés oxidativo de vacas Holstein lactantes (** P < 0.01 indica diferencias entre épocas y NS no significativo con P > 0.05).

5. DISCUSIÓN

5.1. Condiciones Ambientales

Las condiciones ambientales (T_a , HR e ITH) extremas registradas tanto en invierno como en verano son típicas de regiones áridas, es decir, elevadas temperaturas combinadas con baja humedad durante el verano y viceversa en invierno. La mayor humedad relativa de invierno se debe a la distribución de lluvias que se registra en esta región del noroeste de México. En general, la información climática sugiere que mientras que en invierno las vacas se encontraban dentro de su zona termoneutral (5 a 25 °C; Bianca, 1976) y en condiciones óptimas para expresar su potencial de producción de leche, en verano se encontraron bajo EC severo, ya que la vaca lechera Holstein empieza a sufrir las consecuencias del calor cuando el ITH sobrepasa de 72 unidades (Armstrong, 1994; Gantner *et al.*, 2011). Diferentes estudios han observado una relación importante entre el ITH y la producción de leche. Ravagnolo *et al.* (2000) señalan que la producción de leche, grasa y proteína parece ser constantes a un ITH de 72 unidades. Zimbelman *et al.* (2011) indicaron pérdidas en producción de leche alrededor de 2.2 kg/d cuando el ITH se ubica entre 65 a 73 unidades. En particular, la producción de leche decrece en 0.41 kg/vaca/d por cada unidad de ITH que se incrementa arriba de 69 unidades (Bernabucci *et al.*, 2010). Bohmanova *et al.* (2007) reportan diferentes porcentajes de disminución de producción de leche por unidad de ITH, en un rango de 0.40 a 0.27 y de 0.59 a 0.23 kg en Georgia y Arizona, respectivamente. West (2003) reporta decremento de la producción de leche en vacas Holstein de 0.88 kg por unidad de ITH incrementado por el retardo en la media de ITH de 2 días.

5.2. Variables fisiológicas

En situaciones de estrés térmico, una serie de respuestas fisiológicas, endocrinológicas y de comportamiento son adoptadas por el ganado lechero para mantener la condición homotermia ante la exposición a altas temperaturas, que han sido documentadas en algunos estudios (Kadzere *et al.*, 2002; West, 2003; Collier *et al.*, 2005; Nardone *et al.*, 2006; Avendaño-Reyes *et al.*, 2006; Nienaber y Hahn, 2007; Marai *et al.*, 2010; Joksimović-Todorović, *et al.*, 2011; Baumgard y Rhoads, 2013). Cuando estos mecanismos fallan en la disipación de la carga de calor, es inevitable que la temperatura corporal se incremente (Berman, 2005; Cain *et al.*, 2006; Gaughan *et al.*, 2009). No obstante, se sabe que factores como estado fisiológico, nivel de producción y disponibilidad de energía tienen influencia sobre los mecanismos de termorregulación (Kumar *et al.*, 2011; Ganaie *et al.*, 2013; Baumgard y Rhoads, 2013).

Por otra parte, en este estudio, las variables temperatura rectal, frecuencia respiratoria y temperatura de las diferentes regiones anatómicas fueron afectadas por efecto de las altas temperaturas. De acuerdo con resultados previamente publicados (Leagates *et al.*, 1991, Tanaka *et al.*, 2007b, Marai *et al.*, 2010; Martello *et al.*, 2010; Baumgard *et al.*, 2011; Joksimović-Todorovic *et al.*, 2011; Ganaie *et al.*, 2013), las vacas monitoreadas en verano presentaron mayor temperatura rectal, frecuencia respiratoria y temperatura de las diferentes regiones de la piel donde se midieron cuando se compara con las de invierno, lo cual se explica por las condiciones ambientales registradas en verano. De hecho, la severidad del EC al que estuvieron sometidas las vacas durante el verano (14.4 vs. 36.5 °C) provocó que la tasa respiratoria de las vacas se incrementara en 1.5 veces. Se ha señalado que la

tasa respiratoria bajo condiciones termoneutrales fluctúa entre 40 y 60 rpm en el ganado lechero (Berman *et al.*, 1985; Yousef, 1985; Mader *et al.*, 2006), mientras que en el presente estudio se registraron más de 100 rpm en verano.

El aumento de la temperatura corporal y tasa respiratoria son mecanismos normales por los cuales las vacas disipan el calor para mantener su condición homeotermia en ambientes cálidos, siendo 38.5°C la temperatura corporal considerada normal en bovinos (West *et al.*, 2003). Por otra parte, Johnson *et al.* (1980) encontraron que la temperatura corporal se correlaciona positivamente con los cambios de temperatura a través de las épocas del año en vacas lecheras. En este estudio, ese valor no pudo ser mantenido por las vacas durante el verano, ya que su promedio alcanzó 40 ± 0.05 °C. Al respecto, Pollard *et al.* (2005) indicaron que el ganado lechero es capaz de mantener la temperatura corporal interna hasta que las temperaturas superficiales de la piel son superiores a 35 °C. Si la temperatura de la superficie de la piel está por debajo de 35 °C, el gradiente de temperatura interna y la piel es lo suficientemente grande para que los animales usen con eficacia las 4 rutas de intercambio de calor (Collier *et al.*, 2006).

Lo anterior sugiere otro posible mecanismo de termorregulación usado por las vacas en el presente estudio, considerando el intercambio de calor entre la superficie del cuerpo y el ambiente. Dado que se observó que la temperatura de la cabeza, nalga, costado derecho y ubre se vieron incrementadas (36%, 34%, 33% y 32%, respectivamente) en verano, la temperatura del ambiente fue mayor a la del animal. Congruente con estos resultados, varios autores (Montanholi *et al.*, 2008; Martello *et al.* 2010; Da Silva *et al.*, 2012; Lima *et al.*, 2013; Gil *et al.*, 2013) reportan mayores temperaturas en diferentes regiones de la superficie de la piel (cabeza, región

auricular, cuello, ubre, corvejones, flancos, rodillas), dado que tienden a incrementarse durante la exposición a condiciones de calor y humedad. Además, en condiciones de EC severo en vacas primíparas (Hernández *et al.* 2011) y vacas lactantes (Avendaño-Reyes *et al.* 2012), se han observado altas temperaturas en ubre, costado derecho y nalga.

Es evidente que el ganado expuesto a condiciones de EC hace una redistribución del flujo sanguíneo hacia la periferia en consecuencia incrementa la temperatura de la superficie corporal (Marai *et al.*, 2007), promoviendo la pérdida de una mayor cantidad de calor por rutas sensibles e insensibles (Cunningham, 2002; Kadzere *et al.*, 2002; Collier *et al.*, 2006). La evaporación puede ser el medio más eficaz de transferencia de calor (Maia *et al.*, 2005), dado que por cada gramo de agua vaporizada aproximadamente se pierden 2.4 kJ de calor (Renaudeau *et al.*, 2012). En general, los resultados de temperatura de la piel sugieren que la transferencia de calor a través de la piel es un mecanismo compensatorio importante que puede ser utilizado por vacas lactantes en condiciones de EC severo.

5.3. Condición corporal

Una respuesta comúnmente observada en ganado lechero son cambios en la CC durante todo el ciclo de lactancia debido a un incremento en las necesidades de energía para la síntesis de leche a partir del inicio de la lactancia y continuando con el pico de la misma que a menudo exceden la energía disponible de la ingesta de alimento (Roche *et al.*, 2009). Como consecuencia, se movilizan las reservas de grasa del cuerpo para compensar la escasez de energía necesaria para satisfacer las demandas de producción de leche (Bewley y Schutz, 2008). No obstante, en este

estudio no se observó dicha respuesta en CC de las vacas por efecto de la época del año. Consistentemente durante el EC, adaptaciones homeoréticas actúan para reprimir la movilización de lípidos (Itoh *et al.*, 1998; Shwartz *et al.*, 2009; Rhoads *et al.*, 2009; Wheelock *et al.*, 2010) a pesar de la inapetencia, similarmente observado en ovejas estresadas por calor (Sano *et al.*, 1983), y en cerdos con síndrome de estrés (Hall *et al.*, 1980). Se ha propuesto que este es un mecanismo natural y evolutivo para sobrevivir a una carga de calor debido a que la β -oxidación de AGNE puede producir más calor metabólico que la de los carbohidratos (Baumgard y Rhoads, 2007).

Aunque la CC en este trabajo solo tendió a disminuir numéricamente en verano, es probable que las vacas estuvieron bajo condiciones de estrés severo (83.3 unidades de ITH), por consiguiente el gasto de energía para mantener su homeotermia se vio incrementado. De hecho, cuando un animal está experimentando una carga extra de calor es necesario aumentar los costos de mantenimiento (McDowell *et al.*, 1976; Beede y Collier, 1986), que algunos estiman de 7 a 25% (NRC, 2001); esto supone mayor costo energético para disipar el calor almacenado.

Recientemente se ha informado que la pérdida de peso corporal de las vacas, asociada con la utilización de la grasa de reserva produce un aumento de estrés oxidativo (Bernabucci *et al.*, 2010). Dicha relación se confirmó por una correlación negativa entre el contenido de α -tocoferol y AGNE en plasma (Frei y Hidgon, 2003). Ronchi *et al.* (2000) y Bernabucci *et al.* (2005) reportaron que las vacas con mayor CC y una mayor disminución de la CC son más sensibles a estrés oxidativo. Similarmente, se ha informado que vacas a media lactancia con CC alta (≥ 3.5) tienen significativamente menor potencial antioxidante en comparación con vacas de CC

normal [2.5–2.7] (Caleb, 2007). Consecuentemente, vacas con alta CC pueden experimentar estrés oxidativo en ausencia de alteración del balance energético (O'Boyle *et al.*, 2006). En este sentido, los niveles de ROS en vacas obesas durante lactancia media pueden no ser suficientes para provocar un aumento de los eventos de peroxidación lipídica, sin embargo, el agotamiento crítico de defensas antioxidantes puede predisponer a estos animales a patologías inducidas por oxidantes (Sordillo *et al.*, 2009), como se ha reportado de manera similar en humanos con obesidad (Vicent *et al.*, 2007).

Adicionalmente, Tanaka *et al.* (2011) confirman la importancia de la función hepática para el mantenimiento de la CC, incluyendo el estado oxidativo en vacas. Finalmente, Turk *et al.* (2013) sugieren que la movilización de lípidos y el estrés oxidativo son parte de una adaptación metabólica compleja en un balance bajo de energía que alcanza el equilibrio después que avanza la lactancia.

5.4. Producción y composición de la leche

Muchas regiones del norte de México se clasifican como zonas áridas y semiáridas que experimentan períodos prolongados de altas temperaturas en el verano (Chacón *et al.*, 2010). Consecuentemente, el calor intenso en verano resulta en fluctuaciones estacionales de la producción de leche. Este es un problema particular en el Valle de Mexicali, estado de Baja California, México, donde vacas Holstein a menudo son afectadas adversamente hasta por periodos de seis meses al año a un calor considerable, de mayo a septiembre (Avendaño-Reyes *et al.*, 2006). La temperatura ambiente durante la época de verano se ubicó muy por encima de la termoneutralidad del ganado. Consecuentemente, en el presente estudio, la

producción de leche fue 18.11 kg/d menor en verano que en invierno; esta reducción coincide también con 18 unidades más de ITH considerando el mínimo de 72 que se registraron durante el verano (promedio de 83, rango 74-93). Es evidente que la sensibilidad del ganado a estrés térmico se incrementa cuando se incrementa la producción de leche, reduciendo así el “umbral de temperatura” (Berman, 2005).

Generalmente, en regiones templadas, el contenido de grasa y proteína pueden promediar 0.4% y 0.2% inferior en verano en comparación con los meses de invierno (Collier *et al.*, 2012). Sandhu *et al.* (2011) encontraron mayor producción de leche en la lactancia en primavera y menor en verano. Smith *et al.* (2013) reporta decremento en la producción y el contenido de grasa y proteína de la leche en vacas Holstein estresadas por calor, consecuentemente la disminución de la energía en leche. Estos cambios climático-fisiológicos en las vacas aumentaron la ingesta de agua, disminuyó la producción de leche y el consumo de alimento (Bernabucci *et al.*, 2002a) durante la temporada de calor. Adicionalmente, vacas altas productoras estresadas por calor presentan problemas para mantener un volumen plasmático estable debido a la pérdida de líquido corporal por el jadeo y la sudoración (Silanikove, 1997). El hallazgo de los estudios anteriores indica que la producción de leche fue mayor en invierno y se vio afectada negativamente por el calor, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente trabajo. No obstante un efecto directo del EC en la glándula mamaria daría lugar a cambios paralelos en el contenido de componentes de la leche, éste no fue el caso porque cambios en el contenido de grasa, proteína, y lactosa de la leche son discordante durante EC agudo (Silanikove *et al.*, 2009; Rhoads *et al.*, 2009).

Cabe mencionar que la síntesis de leche es muy sensible al estrés térmico. Por ejemplo, la disminución de la producción en 35-40 % no son inusuales en vacas lecheras (Wets, 2003), mientras que Rhoads *et al.* (2009), Wheelock *et al.* (2010) y Baumgard *et al.* (2011) informaron reducción de la producción de leche del 21, 27.6 y 33 %, respectivamente en vacas lactantes estresadas por calor. Kamiya *et al.* (2005) reportaron una reducción de 23 % en la producción de leche cuando la temperatura ambiental fue superior a 28 °C y 60 % de HR. Usman *et al.* (2013) informaron que la producción de leche se redujo de 10 a 40 % en vacas Holstein durante el verano en comparación con el invierno en condiciones tropicales y subtropicales. En este estudio, la temperatura ambiental promedio en verano fue de 36.7 °C y la producción de leche disminuyó alrededor del 50 %, lo cual sugiere, en conjunto con otros resultados, que el nivel de producción de leche disminuye conforme las condiciones ambientales aumenten por encima de la zona de confort y no se cuenta con estrategias de mitigación del EC para ganado lechero (Kamiya *et al.*, 2005, Martínez-Borraz *et al.*, 2012).

Además, se observó que el contenido de proteína, grasa y células somáticas en leche fueron mayores en verano que en invierno, lo cual muy posiblemente esté relacionado con el menor volumen de leche producido en consecuencia de la reducción en el consumo de alimento inducido por estrés térmico (Collier *et al.*, 2006). Contrario con estos resultados, Joksimović-Todorović *et al.* (2011) reportan menor producción y disminución del contenido de proteína en leche en vacas a inicio de lactancia en verano. Aunque en nuestro estudio el porcentaje de grasa aumentó en verano, lo cual concuerda con resultados previos en vacas en clima controlado (Schwartz *et al.*, 2009), fue algo realmente inesperado, ya que la grasa de la leche

por lo general decrece durante los meses de verano en establos comerciales (Kadzere *et al.*, 2002). Consistentemente, Staples y Thatcher (2011) indicaron que los porcentajes de grasa y proteína a menudo se reducen (~ 0.5 y 0.2 % respectivamente) durante EC y la temporada de verano. Lo anterior confirmado mediante una correlación negativa entre volumen de leche secretado y su composición química (Kamiya *et al.*, 2005).

Es conocido que bajas temperaturas en invierno elevan producción de leche y el porcentaje de proteína (Broucek *et al.*, 2006; Bahashwan, 2014). Menor consumo de agua y mayor concentración de grasa fue registrado por Sharma *et al.* (2002) en temporada de frío. Contrariamente, en condiciones de estrés agudo, existe una inhibición más intensa de la secreción de lactosa y la secreción de fluidos como grasas y proteínas, que se refleja en el aumento de las concentraciones de grasa y proteína en la leche, aunque estos aumentos no compensan la reducción general de la producción (Kadzere *et al.*, 2002; Wheelock *et al.*, 2010). Esto coincide con los resultados observados en el presente trabajo, relacionados con la producción y calidad de la leche bajo condiciones de estrés severo en verano.

Por otra parte, el porcentaje de sólidos no grasos tendió ($P = 0.097$) a incrementarse en el verano. Otros estudios (Tanaka *et al.*, 2008; Kamiya *et al.*, 2006a; Smith *et al.*, 2013) reportaron valores similares a los observados en el presente estudio, mientras que Marko *et al.* (2011) indicaron que los niveles de sólidos no grasos de la leche decrecen en periodo de calor.

Durante el presente estudio, las condiciones de EC que prevalecieron en verano (Junio, Julio, Agosto y Septiembre con valores de ITH > 79 unidades) provocaron que la producción de leche, producción ajustada al 3.5% de grasa de la

leche, la energía y la energía corregida en leche disminuyeran drásticamente comparado con el invierno. En vacas lecheras, la producción de energía en leche ha demostrado ser una función lineal de la ingesta de energía metabolizable. Esta ingesta se relaciona con la producción de calor, una medida del metabolismo oxidativo que está estrechamente relacionado con el consumo de oxígeno de todo el cuerpo en el ganado (Löhrke *et al.*, 1997). Por ello, una respuesta biológica comúnmente observada en ganado lechero expuesto a altas temperaturas ambientales es la disminución del consumo (Beede y Collier, 1986) y la utilización de algunos de los ingredientes del alimento (Rhoads *et al.*, 2009) como medida para reducir la producción de calor metabólico, situación que ha demostrado afectar negativamente la síntesis de la leche (West, 2003, Baumgard y Rhoads, 2007).

Estudios previos han demostrado que las vacas lactantes son más sensibles a EC (Kadzere *et al.*, 2002; West, 2003), particularmente cuando están a la mitad o al final de la lactancia (Calamari *et al.*, 1998; Spiers *et al.*, 2004; Cincović y Belić, 2009). Esto se atribuye a que al inicio de la lactancia, la productividad depende de la posibilidad de las vacas para utilizar sus reservas de energía, mientras que después, la productividad depende de la energía utilizada de los alimentos (Bertoni, 1998; Bernabucci *et al.*, 2010). A diferencia del periodo de transición, el BEN durante EC se caracteriza por la disminución en concentración de glucosa (Belić *et al.*, 2010), y se correlaciona de manera importante con la disminución de la cantidad y la calidad de leche (Cincović *et al.*, 2010).

En este sentido, Schwartz *et al.* (2009) demostraron que las variaciones en el consumo de alimento y producción de leche responden a un patrón cíclico de carga de calor. Entonces, el EC reduce la síntesis de leche por mecanismos tanto directos

como indirectos, es decir, a través de la reducción el consumo de alimento (Baumgard y Rhoads, 2007). Conjuntamente, la reducción del consumo de alimento, que sólo explica aproximadamente 50 % de la caída en la producción de leche (Rhoads *et al.*, 2009; Wheelock *et al.*, 2010) y cambios postabsorción de glucosa y homeostasis de lípidos, puede contribuir a la reducción adicional de la síntesis láctea (Schwartz *et al.*, 2009; Rhoads *et al.*, 2013) durante la hipertermia inducida por el medio ambiente.

Es importante señalar que las diferencias observadas en el presente estudio en la producción de leche durante el verano se pueden atribuir a las diferencias en rendimiento de lactosa en leche, que fueron de 1,277.2 y 598.2 g/d en invierno y verano respectivamente, lo que implica que las vacas estresadas por calor secretaron 678.9 g/d menos lactosa. Estudios previos en vacas lecheras lactantes indican que animales estresados por calor secretan aproximadamente 200 a 400 g/d menos lactosa en la leche (Rhoads *et al.*, 2009; Schwartz *et al.*, 2009; Aschenbach *et al.*, 2010), diferencia que sugiere que el tejido extramamario utiliza ~ 225 g/d más glucosa bajo condiciones de EC (Baumgard *et al.*, 2011). Además, la reducción de la síntesis de lactosa es un mecanismo clave del por qué el EC disminuye la producción de leche (Baumgard *et al.*, 2011), restando importancia al uso de glucosa en la síntesis láctea (O'Brien *et al.*, 2010; Rohads *et al.*, 2011), priorizando mantener la eutermia.

Ligado a esto, las condiciones climáticas están asociadas con un aumento en la incidencia de mastitis debido al aumento en la susceptibilidad a infecciones (Hammami *et al.* 2013). Generalmente, el recuento de células somáticas es más bajo durante el invierno y más alto durante el verano (Khate y Yadav, 2010, Sharma *et al.*,

2011), debido a condiciones favorables de temperatura y humedad (Harmon, 1994; Nardone *et al.*, 2010). Congruentemente, en el presente estudio se observó que existe relación de la época sobre el número de células somáticas. Similarmente, Smith *et al.* (2013) indicaron un incremento en la concentración de células somáticas por efecto del EC de verano, tanto en ganado Holstein como Jersey. En otro estudio también reportaron dicho incremento en número de células somáticas bajo condiciones de altas temperaturas (Hammami *et al.*, 2013). Adicionalmente, Yilmaz *et al.* (2013) informaron de un incremento en el CCS durante el verano en condiciones de climas mediterráneos en vacas de razas Holstein, Brown Swiss y Montbelliard.

Debe destacarse que vacas lecheras de alta producción son más propensas a desarrollar estrés oxidativo y la situación se puede agravar bajo ciertas condiciones ambientales, fisiológicas y alimenticias (Bernabucci *et al.*, 2002, 2005; Castillo *et al.*, 2005; Lührke *et al.*, 2005). Cuando se produce un perturbador de la homeostasis, los procesos oxidativos conducen a estrés oxidativo que en vacas lecheras de alta producción causan inflamación de la glándula mamaria (Sordillo *et al.*, 2009). El estrés oxidativo conduce a menor resistencia de la invasión de patógenos, aumenta la probabilidad de aparición de condiciones inflamatorias y especialmente de mastitis (Jóźwik *et al.*, 2012a). Alto CCS en la leche se asocia positivamente con alta concentración de MDA en la leche (Suriyasathaporn *et al.*, 2006), en consecuencia, más radicales libres se liberan y surge un estado de estrés oxidativo (Kleczkowski *et al.*, 2004).

Sin embargo, la especificidad de estrés oxidativo y su relación con la mastitis y otras enfermedades es aún una cuestión compleja. Por un lado se ha sugerido un

mayor nivel de óxido nítrico y menor contenido de ácido ascórbico en suero sanguíneo de animales con mastitis (Jóźwik *et al.*, 2012b; Sordillo *et al.*, 2009; Padilla *et al.*, 2006) en animales sanos. Por otro, se han encontrado altos niveles de hidroperóxido de lípidos en los eritrocitos de vacas con mastitis. Un reducido contenido de ascorbatos y aumento de los productos de peroxidación de lípidos indica que hay una relación entre la mastitis y estrés oxidativo (Jóźwik *et al.*, 2012b). Weiss *et al.* (2004) confirmaron la relación entre mastitis y la aparición de estrés oxidativo y Bonga *et al.* (2008) encontraron que existe variabilidad del nivel de MDA en vacas con alto número de células somáticas como resultado tanto de la influencia o interacción con otros factores (cambios patológicos o un estrés considerable). Otro hecho es el aumento de radicales libres durante la mastitis que se asocia principalmente con la disminución de defensas antioxidantes (Abd, 2013). Coincidentemente, en el presente estudio se observó que la capacidad antioxidante disminuyó y aumentó la CCS, confirmando el alto índice de estrés oxidativo durante la época de verano, lo que indica que la salud de la ubre se vio comprometida.

5.5. Metabolitos sanguíneos

Varias investigaciones indican el papel fundamental de la cuantificación de metabolitos sanguíneos, hormonas tiroideas y glucocorticoides en la producción de calor endógeno y su regulación (Bertoni *et al.*, 1998; Ronchi *et al.*, 1999), además de proveer evidencias de la capacidad de adaptación de un animal a los cambios ambientales mediante la alteración de su actividad metabólica (Bernabucci *et al.*, 2010). Sin embargo, se debe considerar el efecto de la época y las condiciones climáticas, ya que Giuliotti *et al.* (2004) demostraron que existe una relación entre los

metabolitos plasmáticos y la alimentación de los animales. Esto provoca variaciones estacionales de algunos parámetros metabólicos relacionados con el aporte de energía-proteína, como colesterol, triglicéridos y albúmina (Quintela *et al.*, 2011). El presente estudio mostró que las concentraciones séricas de glucosa fueron mayores (56.09 vs 51.70 mg/dL) en verano, mientras que Avendaño-Reyes *et al.* (2010) encontraron menor concentración (48.41 mg/dL) en vacas lactantes bajo estrés severo; además, Giuliotti *et al.* (2004) y Avendaño-Reyes *et al.* (2012) reportaron valores similares (54.7 y 55.56 mg/dL, respectivamente) en verano. De la misma forma, Quintela *et al.* (2011) mostraron valores similares (55.11 mg/dL) durante el periodo primavera-verano. Sin embargo, Rohads *et al.* (2009), Wheelock *et al.* (2010) y Baumgard *et al.* (2011) informaron mayor concentración de glucosa (62.6, 67.7 y 65.3 mg/dL, respectivamente) en vacas estresadas por calor en condiciones controladas. Estas diferencias en la disponibilidad de glucosa están asociados con una reprogramación en la partición de nutrientes postabsorción para aminorar los efectos negativos del EC (Rhoads *et al.*, 2009).

Otra posible respuesta puede ser la reducción en la absorción de glucosa en el tejido mamario, un tejido no sensible a insulina, al menos desde un punto de vista captación de glucosa (Baumgard *et al.*, 2011). En gran medida, esta sensibilidad sistémica dependiente de la secreción pancreática de insulina estimulada por glucosa favorece la liberación hepática de glucosa (O'Brien *et al.*, 2010; Wheelock *et al.*, 2010), mecanismo que puede considerarse como una adaptación metabólica clave que los animales experimentan para maximizar la utilización de la glucosa, y esto es presumiblemente un mecanismo empleado para sobrevivir a una carga térmica (Wheelock *et al.*, 2010). Similarmente, atletas estresados por calor

consistentemente han aumentado la producción hepática de glucosa y mejorado en todo el cuerpo la oxidación de carbohidratos a expensas de los lípidos (Febbraio, 2001; Jentjens *et al.*, 2002). El aumento de la producción de glucosa hepática se origina tanto del aumento de la glucogenólisis (Febbraio, 2001) como de la gluconeogénesis (O'Brien *et al.*, 2008). Esto aunado a un incremento de la capacidad intestinal de absorción de glucosa [vía GLUT1] (Garriga *et al.*, 2006) y mayor capacidad renal de reabsorción de glucosa [vía GLUT1] (Ikari *et al.*, 2005) durante estrés térmico.

En contraste, el EC puede alterar múltiples rutas insulino-dependientes e independientes de la captación de glucosa y es probable que tejidos específicos, principalmente tejido hepático, adiposo y muscular (Baumgard y Rhoads, 2013), independientemente de la ingesta de alimento o del estatus energético. Sin embargo, vacas estresadas por calor son hipoglucemiantes, es decir, tienen bajos niveles de glucosa en sangre, lo cual es consistente con estudios anteriores en vaquillas (Nardone *et al.*, 1997; Ronchi *et al.*, 1999) y vacas lactantes (Abeni *et al.*, 2007; Rhoads *et al.*, 2009), aunque contrario a lo observado en este estudio.

Adicionalmente, durante el periodo evaluado los niveles de colesterol en plasma fueron bajos (268.53 vs 86.0 mg/dL) en verano y la concentración de triglicéridos no variaron entre épocas. Aunque mayor concentración sérica de triglicéridos observada en el invierno podría ser debido a una menor utilización de lípidos por los tejidos periféricos en este período. Por otra parte, Bernabucci *et al.* (1999) reportaron menor concentración de colesterol plasmático en verano que en primavera. Mientras que Abeni *et al.* (2007) encontraron una ligera reducción en colesterol y triglicéridos en los periodos más calurosos. Quintela *et al.* (2011)

indicaron valores bajos de colesterol y triglicéridos durante primavera-verano en comparación con otoño-invierno. Avendaño-Reyes *et al.* (2010, 2012) no encontraron diferencia en las concentraciones plasmáticas de glucosa, colesterol y triglicéridos en vacas lactantes en condiciones de estrés agudo. Esto sugiere que el perfil metabólico en vacas lecheras puede estar influenciado por las condiciones climáticas. Así mismo, puede ser indicativo de la reducción de la actividad del hígado, observada anteriormente por Ronchi *et al.* (1999) y Bernabucci *et al.* (2010), y en parte podría explicar valores más bajos de colesterol en plasma que los observados en nuestro estudio durante el periodo más caluroso o por un aumento en la utilización de lípidos por los tejidos periféricos observado durante el EC. Sin embargo, no así los niveles constantes de triglicéridos.

Cabe mencionar que se esperaba una mayor concentración de colesterol en las vacas en verano debido a que los animales inapetentes hacen uso de los lípidos para generar energía. Más aún, porque el EC agudo causa un marcado incremento en niveles circulantes de cortisol, epinefrina y norepinefrina (Collier *et al.*, 2005), los cuales estimulan la lipólisis de los adipocitos y la movilización de ácidos grasos no esterificados (Beede y Collier, 1986).

5.6. Variables oxidativas (TOS, TAS, OSi)

5.6.1. Status oxidativo total en plasma (TOS)

La intensificación en la producción de leche junto con factores ambientales adversos conlleva a un aumento en los niveles de estrés oxidativo en vacas lecheras (Kumar *et al.*, 2011). El mayor TOS en verano observado en el presente estudio sugiere que el EC causó un aumento en la generación de ROS, que normalmente

son neutralizadas por los sistemas enzimáticos y no enzimáticos de los organismos. Estudios previos han indicado incremento del nivel de oxidantes en vacas lecheras lactantes estresadas por calor (Harmon *et al.*, 1997; Liangrong *et al.*, 2007; Tanaka *et al.*, 2008, 2011). Asimismo, Calamari *et al.* (1999) reportaron una reducción significativa en las concentraciones de ácido ascórbico y antioxidantes solubles en lípidos (la vitamina E y β -caroteno) en vacas estresadas por calor a inicio y media lactancia. Contrariamente, Trout *et al.* (1998) señalaron que no hay efectos de EC sobre la concentración de antioxidantes solubles en lípidos (β -tocoferol, β -caroteno, retinol y retinylpalmitate) y sobre la concentración de MDA en el músculo. Por otra parte, Löhrke *et al.* (2005) reportaron que la concentración de hidroperóxidos de lípidos séricos en LDL se correlacionó positivamente con la producción de leche, lo que sugiere que el nivel de la producción de leche puede contribuir al nivel de los procesos oxidativos.

En general, la producción de leche ha aumentado sustancialmente durante los últimos años, como resultado del incremento de la densidad de nutrientes en la dieta de las vacas. Este aumento se ha logrado principalmente mediante la alimentación con más concentrados y menos forraje (Wheelock *et al.*, 2010; Abuelo *et al.*, 2011a). Precisamente, la importancia del manejo nutricional en relación con estrés oxidativo quedó claro en un estudio realizado en ovinos (Castillo *et al.*, 2001). Varios estudios han indicado que dietas altas en granos o carbohidratos fermentables (Andrews *et al.*, 2006; Sgorlon *et al.*, 2008); conducen a un aumento de estrés oxidativo en vacas lecheras en lactancia (Gabai *et al.*, 2004; Hou *et al.* 2008; Yongqing *et al.*, 2013), además son más susceptibles a desarrollar un estado antioxidante inadecuado (Löhrke *et al.*, 2004). Así mismo, reducción del metabolismo oxidativo de la glucosa

durante EC puede resultar en disfunción mitocondrial e incremento en la generación de ROS (Rhoads *et al.*, 2013).

5.6.2. Status antioxidante total en plasma (TAS)

El mayor TAS en invierno observado en este estudio sugiere que las condiciones ambientales de esta época resultan en una menor generación de ROS en ganado lechero en producción. Por tanto, niveles altos de TAC en vacas lactantes pueden explicarse en parte por las diferencias en el contenido de nutrientes de las dietas, ya que son bajas en fibra y contienen un mayor contenido de energía, proteínas y antioxidantes, especialmente las vitaminas A y E (NRC, 2001) o debido a la variación en la disponibilidad y contenido de antioxidantes de los forrajes basales por efectos estacionales (Giulioti *et al.*, 2004). Similarmente, Fike and Saker (2005) observaron mayor concentración de antioxidantes en invierno y decremento de los niveles de SOD en verano, cuando el EC probablemente habría sido mayor.

Además, se ha demostrado una correlación directa entre las defensas antioxidante/capacidad de resistir el estrés oxidativo a través de las especies (Bernabucci *et al.*, 2013). Mudron *et al.* (1999) indicaron que el FRAP es mayor en vacas en lactancia tardía y más baja en las vacas secas. De igual forma, Mandebvu *et al.* (2003) reportaron valores altos de TAC en invierno y verano en vacas lactantes, mientras que Castillo *et al.* (2003) encontraron mayor concentración plasmática de hidroperóxidos de lípidos en las vacas durante el período de lactancia, sin una alteración concomitante de TEAC en plasma. No obstante, Turk *et al.* (2013) señalaron disminución de TAS una semana antes del parto, indicando así un bajo estado antioxidante y el estrés oxidativo en el período de transición en vaquillas.

Es importante recalcar que la variación en la capacidad antioxidante durante la lactancia probablemente podría estar relacionada con el agotamiento de los antioxidantes liposolubles que se transfieren a la leche (Wachter *et al.*, 1999; Castillo *et al.*, 2003). Por otra parte, Albera y Kankofer (2010) encontraron una tendencia creciente de TAC en la segunda lactancia, mientras que la actividad de GSH-Px fue opuesta al comparar vacas post parto durante su primera y segunda lactancia. Los mismos autores señalan un aumento significativo de los parámetros antioxidantes, mientras que el contenido de grupos sulfhidrilo tendió a disminuir y fluctuar la intensidad de la peroxidación de lípidos en las vacas y sus crías (Albera y Kankofer, 2011). Bardos *et al.* (2000) y Gaal *et al.* (2006) mencionaron que en el parto, los valores plasmáticos de TAC fueron dos veces más altos en terneros recién nacidos como en sus madres. En concordancia, Hojo (1986) mencionó que la actividad de GSH-Px en la leche de vacas decrece durante la lactancia. Pedernera *et al.* (2010) observaron mayor concentración de BAP entre la 1, 3 y 5 semana de lactancia y la concentración de ROS fue opuesta en el mismo periodo, en vacas lecheras durante la lactancia temprana. Similares resultados fueron reportados por Celi y Raadsma, (2010b) en vacas en media lactancia. Celi (2013) encontró una correlación negativa entre AOPP y la producción de leche, que sugiere que estrés oxidativo puede estar involucrado en algunas funciones fisiológicas pertinentes, tales como la producción de leche.

Por su parte, Aitken *et al.* (2009) encontraron que en vacas posparto, la expresión génica del pro-oxidante 15-lipoxigenasa 1 se incrementa en forma importante en el tejido mamario de vacas lecheras, además de observar altas correlaciones positivas entre distintas enzimas antioxidantes, lo que sugiere la

generación de respuestas protectoras de estos antioxidantes a posibles estados inflamatorios. Estas respuestas pueden ser disminuidas cuando los partos de las vacas se presentan en la época cálida de verano. Al respecto, Sakatani *et al.* (2012) observaron que los niveles de GSH, TBARS, SOD y GSH-Px en eritrocitos fueron menores en verano que en invierno en vacas no lactantes, concluyendo que las altas temperaturas del verano son un factor que determina un aumento en el estrés oxidativo en vacas Negras Japonesas.

5.6.3. Índice de estrés oxidativo (OSI)

La estimación completa de la actividad pro y antioxidantes es la mejor herramienta en la determinación de la intensidad del estrés oxidativo, dado que oxidantes y antioxidantes son efectos aditivos. Cuando se miden sólo unos pocos parámetros, los niveles pueden permanecer sin cambios o disminuir, a pesar de que el estado real oxidante aumenta o viceversa (Erel, 2005; Albera y Kankofer, 2010, 2011). El OSI se definió como la proporción de TOS a nivel de TAS (Abuelo *et al.*, 2011a; Celi, 2011a). Un valor estandarizado no existe para los niveles OSI.

En la actualidad no hay un punto de acuerdo sobre si las vacas experimentan estrés oxidativo en el periodo periparto, ya que algunos estudios lo han sugerido (Bernabucci *et al.*, 2005; Castillo *et al.*, 2005) y otros no reportan ningún desafío (Wullepit *et al.*, 2009; Dobbelaar *et al.*, 2010). Sin embargo, Abuelo *et al.* (2013) encontraron que las vacas experimentaron un desafío oxidativo después del parto e inicio de lactancia, lo cual coincidió con un estudio en medicina humana en el que la relación entre el nivel de estrés oxidativo y la patología fueron mayores cuando las

mediciones de oxidantes y antioxidantes de defensa se combinaron en una proporción (Sharma *et al.*, 1999).

No obstante, dada la naturaleza de estos resultados, resulta difícil hacer comparaciones con trabajos previos. El índice de estrés oxidativo fue más alto en verano en relación al invierno, lo cual puede deberse que las vacas estuvieron bajo condiciones de EC severo, lo que conlleva a la activación de respuestas fisiológicas como incremento de la tasa respiratoria, reducción del consumo de alimento, incremento del consumo de agua, en consecuencia la reducción de la producción de leche, todo ello para reducir la producción de calor metabólico, consecuentemente estos mecanismos están directamente relacionados con el incremento de la producción de ROS. Abuelo *et al.* (2011a, 2013) observaron el mayor valor de OSI en vacas en su pico de lactancia, mientras que Pedernera *et al.* (2010) observaron alto nivel de OSI en vacas de baja producción asociado con altas concentraciones de ROS. Además, Celi (2013) reportó valores significativamente bajos de OSI en los meses de abril y junio en vacas lactantes suplementadas con yerba mate.

Lo anterior concuerda parcialmente con los resultados observados en el presente estudio, lo que puede deberse a diferencias fisiológicas inherentes a los animales utilizados y las condiciones ambientales en las que fueron desarrollados los experimentos. Sin embargo, se debe poner atención al interpretar estos resultados, dado el reducido número de unidades experimentales y variaciones fisiológicas de los marcadores en éstas. Dicha variación previamente informada por Castillo *et al.* (2005, 2006) en vacas lecheras periparto, con muchos factores que influyen en ella. Estas variaciones fueron confirmadas recientemente en los estudios de Albera y Kankofer (2010, 2011). Por otra parte, el menor OSI en invierno se podría explicar

por la ausencia de factores ambientales estresantes, aunado a un mayor aporte de energía, proteína y antioxidantes en la dieta y mayor disponibilidad y calidad del contenido de antioxidantes de los forrajes basales de la dieta. Esta hipótesis podría ser apoyada por las conclusiones de Wachter *et al.* (1999) y Pedernera *et al.* (2010), quienes indican que el consumo de forraje se asocia positivamente con la actividad antioxidante del plasma.

Es posible que ante la falta de valores de referencia para ROS y TAS en vacas (Celi, 2011b) y al hecho de que pocos estudios se han realizado en esta área, las causas del EO sean difíciles de identificar. Sin embargo, con el fin de estudiar EO durante el periodo de lactancia y su impacto en la productividad del ganado bajo condiciones de EC, se debe establecer un rango normal para los diferentes marcadores biológicos de este proceso. Dicho procedimiento ha sido utilizado con éxito en un estudio de la fertilidad humana (Sharma *et al.*, 1999) y permitiría una mejor interpretación basada en la evidencia de los resultados de diversos estudios en vacas lactantes que actualmente parecen contradictorios.

6. CONCLUSIONES

Bajo condiciones de estrés calórico severo en verano se observó comprometida la capacidad termorregulatoria de vacas lactantes dada su temperatura rectal que alcanzó 40 °C, al igual que las temperaturas de la superficie de la piel aumentaron 10 °C. Sin embargo, los mecanismos termorregulatorios no fueron suficientes para disipar la carga de calor, situación que originó un incremento en la frecuencia respiratoria como principal mecanismo para disipar la carga de calor acumulada. También se concluye que el estrés calórico decrece la capacidad antioxidante en vacas Holstein lactantes a media lactancia, ya que presentaron mayor índice de estrés oxidativo, posiblemente debido a la reducida disponibilidad de antioxidantes (por la reducción de la ingesta) y al incremento en la producción de radicales libres por efecto del estrés calórico. Asimismo, se observó una marcada reducción (50%) de la producción de leche aunada con un aumento en la producción ROS durante el verano, cuya causa no está clara. Finalmente, el mayor índice de estrés oxidativo se encontró durante la época de verano, lo que indica que el animal es más susceptible en esta época para desarrollar estrés oxidativo.

Con base en estos resultados, se concluye que el estrés por calor en verano causa efectos negativos en la fisiología y productividad de las vacas lecheras Holstein. Esto indica la importancia de suplementar compuestos antioxidantes en verano a vacas lecheras en lactancia en combinación contar con estrategias ambientales que eviten una drástica caída en producción de leche durante los meses de altas temperaturas.

7. LITERATURA CITADA

- Abd Ellah, M. R. 2013. Role of free radicals and antioxidants in mastitis. *J. Adv. Vet. Res.*, 3:1-7.
- Abeni, F., L. Calamari, and L. Stefanini. 2007. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. *Int. J. Biometeorol.*, 52:87–96.
- Abuelo, A., J. Hernández, V. Pereira, J. L. Benedito and C. Castillo. 2011a. Oxidative stress index. A new tool to evaluate oxidative status during transition period in dairy cows. In: 6th Proc. Europ. Congr. of Bovine Health Manage. Ed. Société Belge Francophone de Buiatrie. 7-9 Septemberx, Belgium. p. 51.
- Abuelo, A., J. Hernández, P. Vázquez, V. Pereira, J. L. Benedito and C. Castillo. 2011b. Estrés oxidativo en la fase de transición. *Mundo Ganadero*, 242: 24-31.
- Abuelo, A., J. Hernández, J. L. Benedito and C. Castillo. 2013. Oxidative stress index (OSi) as a new tool to assess redox status in dairy cattle during the transition period. *Animal*, 7-8: 1374–1378.
- Agarwal, A., S. Gupta, and R. K. Sharma. 2005. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod. Biol. Endocrin.*, 3: 28.
- Aggarwal, A., and R. Upadhyay. 2013. Heat stress and milk production. In: *Heat Stress and Productivity*. Springer India. New Delhi Heidelberg, N.Y., Dordrecht London. p. 53-72.
- Aitken, S. L., E. L., Karcher, P. Rezamand, J. C. Gandy, M. J. Vandehaar, A. V. Capuco, L. M. Sordillo. 2009. Evaluation of antioxidant and proinflammatory gene expression in bovine mammary tissue during the periparturient period. *J. Dairy Sci.*, 92: 589-598.
- Albera, E., and M. Kankofer. 2010. The comparison of antioxidative/oxidative profile in colostrum, milk and blood of early post-partum cows during their first and second lactation. *Reprod. Dom. Anim.*, 45: e417–e425.
- Albera, E., and M. Kankofer. 2011. The comparison of antioxidative/oxidative profile in blood, colostrum and milk of early post-partum cows and their newborns. *Reprod. Dom. Anim.*, 46: 763–769.
- Allen, T. E. 1962. Responses of Zebu, Jersey and Zebu x Jersey crossbred heifers to rising temperature, with particular reference to sweating. *Aust. J. Agric. Res.*, 13: 165-179.
- Amstrong, D. V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.*, 77: 2044-2050.

- Andrews, J., M. Vazquez-Anon and G. Bowman. 2006. Fat stability and preservation of fatty acids with AGRADO antioxidant in feed ingredients used in ruminant rations. *J. Dairy Sci.*, 89 (Suppl.1):60. (Abstr.)
- Anjali, A., and C. Gulab. 2013. Antioxidant status, hormone levels and immunity in crossbred cows of different levels of production. *Ind. J. Anim. Res.*, 47: 492-497.
- Arias, R. A.; T. L. Mader, and P. C. Escobar. 2008. Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet.*, 40 (1): 7-22.
- Armstrong, D.V. 1994. Heat stress interactions with shade and cooling. *J. Dairy Sci.* 77:2044-2050.
- Aschenbach, R. J., N. B. Kristensen, S. S. Donkin, H. M. Hammon, and G. B. Penner. 2010. Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. *Life Sci.*, 62: 869-877.
- Avendaño-Reyes, L., F. D. Álvarez-Valenzuela, A. Correa-Calderón, S. Saucedo-Quintero, P. H. Robinson, and J. G. Fadel. 2006. Effect of cooling Holstein cows during the dry period on postpartum performance under heat stress conditions. *Livest. Sci.*, 105: 198–206.
- Avendaño-reyes, L., F. D. Álvarez-Valenzuela, A. Correa-Calderón, A. Algándar-Sandoval, E. Rodríguez- González, R. Pérez-Velázquez, U. Macías-Cruz, R. Díaz-Molina, P. H. Robinson, and J. G. Fadel. 2010. Comparison of three cooling management systems to reduce heat stress in lactating Holstein cows during hot and dry ambient conditions. *Livest. Sci.*, 132: 48-52.
- Avendaño-Reyes, L., J.A. Hernández-Rivera, F. D. Álvarez-Valenzuela, U. Macías-Cruz, R. Díaz-Molina, A. Correa-Calderón, P. H. Robinson, and J. G. Fadel. 2012. Physiological and productive responses of multiparous lactating Holstein cows exposed to short-term cooling during severe summer conditions in an arid region of Mexico. *Int. J. Biometeorol.*, 56: 993-999.
- Baccari, Jr. F. 2001. Manejo Ambiental da Vaca Leiteira em Climats Quentes. Editora da universida de estadual de Londrina. Londrina PR-Brazil. p. 142.
- Baeta, F. C., y C. F. Souza. 2010. *Ambiência em Edificações Rurais – Conforto Animal*. 2. ed. Viçosa: UFV.
- Bahashwan, S. 2014. Effect of cold and hot seasons on fat, protein and lactose of Dhofari cow's milk. *Net. J. Agri. Sci.*, 2: 47-49.
- Barash, H., N. Silanikove, A. Shamay, and E. Ezra. 2001. Interrelationships among ambient temperature, day length and milk yield in dairy cows under a mediterranean Climate. *J. Dairy Sci.*, 84: 2314–2320.

- Bardos, L., I. Nobert, H. Lakner, S. Pavel, and K. Ooppel., 2000: Antioxidant vitamin (retinoids, β -carotene, tocopherol) and glycated protein (SEFA) levels and ferric reducing ability of plasma (FRAP) in newborn calves in the postpartal hours. *Hung. Vet. J.*, 122: 538–543.
- Bauman, D. E., and W. B. Currie. 1980. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.*, 63: 1514–1529.
- Baumgard, L. H., and R. P. Rhoads. 2007. The effects of hyperthermia on nutrient partitioning. In: 69th Proc. Cornell Nutr. Conf. for Feed Manufacturers (Ed. T. Overton), Cornell Univ. NY. p. 93–104.
- Baumgard, L. H., J. B. Wheelock, S. R. Sanders, C. E. Moore, H. B. Green, M. R. Waldron, and R. P. Rhoads. 2011. Postabsorptive carbohydrate adaptations to heat stress and monensin supplementation in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 94: 5620–5633.
- Baumgard, L. H., and R.P. Rhoads. 2012. Invited review: ruminant production and metabolic responses to heat stress. *J. Anim. Sci.*, 90: 1855-1865.
- Baumgard, H.L., and R.P. Rhoads. 2013. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 1: 7.1 - 7.27.
- Beede, D. K., and R. J. Collier. 1986. Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress. *J. Anim. Sci.*, 62: 543-554.
- Belić, B., M. R. Cincovi, D. Stojanovi, Z. Kovaevi, S. Medi, V. Simi. 2010. Hematology parameters and physical response to heat stress in dairy cows. *Contemp. Agric.*, 59: 161-166.
- Benzie, I. F. F., and J. J. Strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Anal. Biochem.*, 239: 70–76.
- Berman, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Herz, D. Wolfenson, A. Arieli, and Y. Graber. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.*, 68: 1488–1495.
- Berman, A. J. 2005. Estimates of heat stress relief needs for Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 83: 1377–1384.
- Bernabucci, U., P. Bani, B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone. 1999. Influence of short and long term exposure to a hot environment on rumen passage rate and diet digestibility by Friesian heifers. *J. Dairy Sci.*, 82: 967-973.

- Bernabucci, U., B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone. 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 88: 2017-2026.
- Bernabucci, U., N. Lacetera, B. Ronchi, and A. Nardone. 2002a. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. *Anim. Res.*, 51: 25–33.
- Bernabucci, U.; B. Ronchi, N. Lacetera, and A. Nardone. 2002b. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J. Dairy Sci.*, 85: 2173-2179.
- Bernabucci U., N. Lacetera, L. H. Baumgard, R. P. Rhoads, B. Ronchi, and A. Nardone. 2010. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Anim. Sci.*, 4: 1167–1183.
- Bernabucci, U. 2013. Oxidative stress in the periparturient dairy cows. Health and nutrition of high yielding dairy cows. 2nd Workshop – Piacenza, 28th Feb-1st March.
- Bertoni, G. 1998. Effects of heat stress on endocrine-metabolic and reproductive status of the dairy cows. *Zoot. Nutr. Anim.*, 24: 273–282.
- Bewley, J. M., and M. M. Schutz. 2008. An interdisciplinary review of body condition scoring for dairy cattle. *Profess. Anim. Sci.*, 24: 507-529.
- Bhat, S., G. Rao, K. D. Murthy, and P. G. Bhat. 2010. Alterations in stress parameters in rats housed in a pyramid model - seasonal variations. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.*, 1: 1-8.
- Bianca, W. 1965. Reviews of the progress of dairy science. Physiology. Cattle in hot environment. *J. Dairy Sci.*, 32: 291–328.
- Bianca, W. 1976. The significance of meteorology in animal production. *Int. J. Biometeorol.*, 20: 139–156
- Bligh, J., 1973. In: J. Bligh (Ed.) *Temperature Regulation in Mammals and Other Vertebrates*. North Holland, Amsterdam. p. 351–354.
- Bogna, K., B. Sitkowska, and S. Mroczkowski. 2008. Physiological state of dairy cattle and somatic cells count class versus level of plasma malonyldialdehyde. *J. Cen. Europ. Agr.*, 9: 373-376.
- Bohmanova, J., I. Misztal, and J. B. Cole. 2007. Temperature humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 90: 1947–1956.

- Bouraoui, R., M. Lahmar, A. Majdoub, M. Djemali, and R. Belyea. 2002. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Anim. Res.*, 51: 479–491.
- Broucek, J., C.W. Arave, P. Kisac, S. Mihina, P. Flak, M. Uhrincat, A. Hanus. 2006. Effects of some management factors on milk production in first-calf heifers. *Asian-australas J Anim Sci* 19:672–678.
- Burke, N. C., G. Scaglia, H. T. Boland, and W. S. Swecker Jr. 2009. Influence of two-stage weaning with subsequent transport on body weight, plasma lipid peroxidation, plasma selenium, and on leukocyte glutathione peroxidase and glutathione reductase activity in beef calves. *Vet. Immunol. Immunopathol*, 127: 365–370.
- Cain, J. W., P. R. Krausman, S. Rosenstock, and J. C. Turner. 2006. Mechanisms of thermoregulation and water balance in desert ungulates. *Wild. Soc. Bull.*, 34: 570-581.
- Calamari, L., and P. Mariani. 1998. Effects of hot environment conditions on the main milk cheesemaking characteristics. *Zoot. Nutriz. Anim.*, 24: 259–271.
- Calamari, L., M. G. Maianti, F. Amendola, and G. Lombardi. 1999. On some aspects of the oxidative status and antioxidants in blood of dairy cows during summer. In: 13th Proc. Assoc. Sci. Prod. Anim. Congr. Piacenza, Italy. p. 449-451.
- Caleb, B. N. 2007. Assessment of redox markers in cattle. MS Diss. Faculty of the Virginia Polytechnic institute and State Univ., Blacksburg.
- Cao, G., H. M. Alessio, and R. G. Cutler. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.*, 14: 303–311.
- Castillo, C., J. Hernandez, M. Lopez-Alonso, M. Miranda and J. L. Benedito. 2001. A different point of view of glutathione peroxidase: Its relationship to the metabolic changes associated with nutritional management in assaf ovine breed. *Arch. Tierz. Dummerstorf*, 44: 305-312.
- Castillo, C., J. Hernández, M. López-Alonso, M. Miranda, and J. L. Benedito, 2003. Values of plasma lipid hydroperoxides and total antioxidant status in healthy dairy cows: preliminary observations. *Arch. Anim. Breeding.*, 46: 227–233.
- Castillo, C., J. Hernández, A. Bravo, M. Alonso-López, V. Pereira, and J. L. Benedito. 2005. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet. J.*, 169: 286-292.
- Castillo, C., J. Hernández, I. Valverde, V. Pereira, J. Sotillo, M. Alonso-López, and J. L. Benedito. 2006. Plasma malonaldehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 80: 133-139.

- Castillo, C., V. Pereira, A. Abuelo, R. Guimarey, M. García-Vaquero, J. L. Benedito, and J. Hernández. 2013. Preliminary results in the redox balance in healthy cats: influence of age and gender. *J. Feline Med. Surg.* 15: 328–332.
- Celi, P., A. Di Trana, and A. Quaranta. 2008. Metabolic profile and oxidative status in goats during the peripartum period. *Aust. J. Exp. Agric.*, 48: 1004-1008.
- Celi, P., and H. W. Raadsma. 2009. The effects of Yerba Mate (*Ilex paraguarensis*) supplementation on the productive performance of lambs. Ruminant physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare. In: *XIth Proc. Inter. Symp. Rumin. Physiol.*, Clermont-Ferrand, France, p. 804–805.
- Celi, P., A. Di Trana, and S. Claps. 2010a. Effects of plane of nutrition on oxidative stress in goats during the peripartum period. *Vet. J.*, 184: 95-99.
- Celi, P., and H. W. Raadsma. 2010b. The effects of Yerba Mate (*Ilex paraguarensis*) supplementation on the productive performance of lactating dairy cows. *Anim. Prod. Sci.*, 50: 339–344.
- Celi, P., 2011a. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. *Immunopharm. Immunot.*, 33: 233-240.
- Celi, P. 2011b. Oxidative stress in ruminants. In: L. Mandelker and P. Vajdovich, editors, *Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice, Studies in Veterinary Medicine*. Humana Press. 5: 191-231.
- Celi, P. 2013. Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) as strategic supplement for dairy cows. In: *Enhancing animal welfare and farmer income through strategic animal feeding*. FAO, 175: 11-18.
- Chacón, A. D., M. E. Giner, V. M. Vázquez, S. M. Roe, S. M. Maldonado, H. Lindquist, B. Strode, R. Anderson, C. Quiroz, & J. Schreiber. 2010. Emisión de gases de efecto Invernadero en Baja California y proyecciones de casos de referencia 1990-2025. 1^{ra} Ed. Comisión de cooperación ecológica fronteriza. Cd. Juárez, Chih., México.
- Cincović, M. R., and B. Belic. 2009. Influence of thermal stress to milk production and quality in dairy cows. *Republic Srpska Vet. J.*, 9: 53-56.
- Cincović, M. R., B. Beli, D. Stojanovi, Z. Kovaevi, S. Medi, and V. Simi. 2010. Metabolic profile of blood and milk in dairy cows during heat stress. *Contemp. Agric.*, 59: 167-172.
- Collier, R. J., D. K. Beed, W. W. Thatcher, L. A. Israel, and C. J. Wilcox. 1982. Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. *J. Dairy Sci.*, 65:2213.

- Collier, R. J., L. H. Baumgard, A. L. Lock, and D. E. Bauman. 2005. Physiological limitations, nutrient partitioning. In: R Sylvester-Bradley and J Wiseman, editors, *Yield of Farmed Species. Constraints and opportunities in the 21st Century*. Nottingham Univ. Press, Nottingham. p. 351–377.
- Collier, R. J., G. E. Dahl, and M. J. Van Baale. 2006. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 89: 1244–1253.
- Collier, R. J., L. W. Hall, S. Rungruang and R. B. Zimbleman. 2012. Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance. In: *Proc. Rumin. Nutr. Symp. Univ. Florida, Gainesville*. p. 74–83.
- Conrad, J. H. 1985. Feeding of farm animals in hot and cold environments. In: M. K. Yousef, editor, *Stress Physiology in Livestock, Vol. 2: Ungulates*. CRC Press: Boca Raton, Florida. p. 205-26.
- Crimp, S. J.; C. J. Stokes; S. M. Howden, A. D. Moore, B. Jacobs, P.R. Brown, A. J. Ash, P. Kocic, P. Leith. 2010. Managing Murray–Darling basin livestock systems in a variable and changing climate: challenges and opportunities. *The Rangeland J.*, 32: 293–304.
- Cunningham, J. G. 2002. *Textbook of Veterinary Physiology*. 3th Ed. Philadelphia, Saunders.
- Da Silva, R. G. & A. S. C. Maia. 2011. Evaporative cooling and cutaneous surface temperature of Holstein cows in tropical conditions. *R. Bras. Zootec.*, 40: 1143-1147.
- Da Silva, R. G., A. S. C. Maia, L. L. M. Costa, & J. P. A. F. de Queiroz. 2012. Latent heat loss of dairy cows in an equatorial semi-arid environment. *Int. J. Biometeorol.*, 56: 927–932.
- Darcan, N.K.; Cankaya, S. and Karakok S.G., 2009. The effects of skin pigmentation on physiological factors of thermoregulation and grazing behavior of dairy goats in a hot and humid climate. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 22: 727-731.
- Dehghan, A., M. Arabi, S. Nahid and M. Aminlari. 2010. Changes of serum reduced and oxidized glutathione in heat stressed ram. *Asian J. Anim. Vet. Adv.*, 5: 472-477.
- Di Trana, A., P. Celi, S. Claps, V. Fedele, and R. Rubino. 2006. The effect of hot season and nutrition on the oxidative status and metabolic profile in dairy goats during mid-lactation. *Anim. Sci.*, 82: 717-722.
- Dobbelaar, P., R. J. Bouwstra, R. M. A. Goselink, R. Jorritsma, J. Van den Borne, and E. Hansen, 2010. Effects of vitamin E supplementation on and the association of

body condition score with changes in peroxidative biomarkers and antioxidants around calving in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, 93: 3103-3113.

Donkoh, A. 1989. Ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of broiler chickens. *Int. J. Biometeorol.*, 33: 259-265.

Du Preez J. H., P. J. Hatting, W. H. Giesecke, and B. E. Eisenberg. 1990. Heat stress in dairy cattle and other livestock under Southern African conditions. III. Monthly temperature-humidity index mean values and their significance in the performance of dairy cattle. *J. Vet. Res.*, 57: 243–248.

Ek, J. R., E. F. Bell, R. A. Nelson, and M. A. Radhi. 1999. Infrared thermographic calorimetry applied to preterm infants under radiant warmers. *J. Therm. Biol.*, 24: 97–103.

Erel, O. 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin. Biochem.*, 38: 1103-1111.

Febbraio, M. A. 2001. Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. *Sports Med.*, 31:47–59.

Ferreira, F., M. F. A. Pires, M. L. Martinez, S. G. Coelho, A. U. Carvalho, P. M. Ferreira, E. J. Facury Filho, and W. E. Campos. 2006. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. *Arquivo. Bras. Med. Vet. Zootecn.*, 58: 732-738.

Fialová, L., I. Malbohan, M. Kalousova, J. Soukupova, L. Krofta, S. Štípek, and T. Zima. 2006. Oxidative stress and inflammation in pregnancy. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 66: 121–128.

Fike, J. and K. Saker. Immune function, oxidative stress, and antioxidants in lactating dairy cows, Virginia Tech. <http://www.cefs.ncsu.edu/publications/dairyconferenceproceedings/05immunefunctionfike.pdf>. Consultado en la red 25/11/2013.

Finch, V. A. 1986. Body temperature in beef cattle: Its control and relevance to production in the tropics. *J. Anim. Sci.*, 62: 531–542.

Flamenbaum, I., D. Wolfenson, P. L. Kunz, M. Mamen, and A. Berman. 1995. Interactions between body condition at calving and cooling of day cows during lactating in summer. *J. Dairy Sci.*, 78: 2221-2229.

Flamenbaum, I. 2010. Relación costo-beneficio de la implementación de sistemas de enfriamiento para vacas altas productoras en clima cálido. In: XX Reunión internacional sobre producción de carne y leche en climas cálidos. 7 y 8 de Octubre. Universidad Autónoma de Baja California. Mexicali, B.C., Mexico. p. 23 – 33.

- Freid, B., and J. V. Higdon. 2003. Antioxidant activity of Tea polyphenols in vivo: Evidence from animal studies. *Am. Soc. Nut. Sci.*, 133: 3275S-3284S.
- Fuquay, J. W. 1981. Heat stress as it affects animal production. *J. Anim. Sci.*, 52: 164-174.
- Gaal, T., P. Ribiczeyne-Szabo, K. Stadler, J. Jakus, J. Reiczigel, P. Kover, M. Mezes, and L. Sumeghy. 2006: Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidant system in the blood of cows and newborn calves around calving. *Biochem. Mol. Biol.*, 143: 391–396.
- Gabai, G., S. Testoni, R. Piccinini, L. Marinelli, and G. Stradaoli. 2004. Oxidative stress in primiparous cows in relation to dietary starch and the progress of lactation. *Anim. Sci.*, 79: 99-108.
- Ganaie, A. H., G. Shanker, N. A. Bumla, R. S. Ghasura, N. A. Mir, S. A. Wani, and G. B. Dudhatra. 2013. Biochemical and physiological changes during thermal stress in bovine. *J. Vet. Sci. Technol.*, 4: 2157-7579.
- Gantner, V., P. Mijić, K. Kuterova, D. Solić, and R. Gantner. 2011. Temperature-humidity index values and their significance on the daily production of dairy cattle. *Mljekarstvo* 61: 56-63.
- García, E. 1985. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köeppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 2th Ed. Inst. Geografía, UNAM. DF, México.
- Garnsworthy, P. C., and J. L. 1982. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. *Anim. Prod.*, 35: 113-119.
- Garriga, C., R. R. Hunter, C. Amat, J. M. Planas, M. A. Mitchell, and M. Moreto. 2006. Heat stress increases apical glucose transport in the chicken jejunum. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 290: R195–R201.
- Gaughan, J. B., S. M. Holt, G. L. Hahn, T. L. Mader and R. Eigenberg. 2000. Respiration rate—Is it a good measure of heat stress in cattle? *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 13: 329-332.
- Gaughan, J. B., N. Lacetera, S. E. Valtorta, H. H. Khalifa, L. Hahn and T. Mader. 2009. Response of domestic animals to climate challenges. In: K. L. Ebi, I. Burton and G. R. McGregor, editors, *Biometeorology of Adaptation to Climate Variability and Change*. Springer Sci. Heidelberg, Germany. p. 131–170.
- Georgieva, N. V., 2005. Oxidative stress as a factor of disrupted ecological oxidative balance in biological systems—a review. *Bulg. J. Vet. Med.*, 8: 1–11.

- Ghiselli, A., M. Serafini, G. Maiani, E. Azzini, and A. Ferro-Luzzi, 1995. A fluorescence based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 29–36.
- Ghiselli, A., M. Serafini, F. Natella, and C. Scaccini. 2000. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. *Free Radic. Biol. Med.*, 29: 1106-1114.
- Gil, Z., K Adamczyk, P. Zapletal, J. Frelich, M. Šlachta and A. Andreasik. 2013. Impact of the location of the dairy cows in the barn on their body surface temperature. *J. Central Europ. Agric.*, 14: 228-237.
- Giulioti, L., J. Goracci, M. N. Benvenuti, I. Facdouelle, and A. Profumo. 2004. Blood parameters: potential welfare indicators in dairy cows. *Ann. Faculty Vet. Med. Pisa*, 57: 281–289.
- Goff, W. L., W. C. Johnson, C. R. Wyatt, and C. W. Cluff. 1996. Assessment of bovine mononuclear phagocytes and neutrophils for induced L-arginine-dependent nitric oxide production. *Vet. Immunol. Immunop.*, 55: 45–62.
- Griffiths, H. R., J. Lunec, C. A. Gee, and R. L. Willson. 1988. Oxygen radical induced alterations in polyclonal IgG. *FEBS Letters*, 230: 155–158.
- Gutteridge, J. M. C. and B. Halliwell. 2010. Antioxidants: Molecules, medicines and myths. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 393: 561-564.
- Gwazdauskas, F. C. 1985. Effects of climate on reproduction in cattle. *J. Dairy Sci.*, 68: 1568-1578.
- Hahn, G. L., A. M. Parkhurst and J. B. Gaughan. 1997. Cattle respiration rate as a function of ambient temperature. *Pres. ASAE Mid-Central Mtg.* April 11-12.
- Hahn, G. L. 1999. Dynamic responses of cattle to thermal heat load. *J. Anim. Sci.*, 77 (Suppl. 1): 10–20.
- Hall, G. M., J. N. Lucke, R. Lovell, and D. Lister. 1980. Porcine malignant hyperthermia. VII: hepatic metabolism. *Br. J. Anaesth.*, 52: 11–17.
- Halliwell, B., and J. M. C. Gutteridge, 1990: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Method. Enzymol.*, 186: 1–85.
- Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge. 1995. Letter to the Editors: The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic. Biol. Med.*, 18: 125-126.
- Hammami, H., J. Bormann, N. M'Hamdi, H. H. Montaldo, and N. Gengler. 2013. Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *J. Dairy Sci.*, 96: 1844-1855.

- Hansen, P. J. 2004. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim. Reprod. Sci.*, 82–83: 349–360.
- Hardy, J. D., and E. F. DuBois. 1938. The technique of measuring radiation and convection. *J. Nutr.*, 15: 461–475.
- Harma, M. I., M. Harma, and O. Erel. 2006. Are d-ROMs and FRAP tests suitable assays for detecting the oxidative status? *Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 127: 271–275.
- Harmon, R. J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.*, 77: 2103-2112.
- Harmon, R. J., M. Lu, D. S. Trammel, and B. A. Smith. 1997. Influence of heat stress and calving on antioxidant activity in bovine blood. *J. Dairy Sci.*, 80: 264-270
- Hernández-Rivera, J. A., F. D. Álvarez-Valenzuela, A. Correa-Calderón, U. Macías-Cruz, J. G. Fadel, P. H. Robinson and L. Avendaño-Reyes. 2011. Effect of short-term cooling on physiological and productive responses of primiparous Holstein cows exposed to elevated ambient temperatures. *Acta Agr. Scand. A-AN.*, 61: 34-39.
- Higdon, J. V. & B. Frei. 2003. Obesity and oxidative stress – a direct link to CVD? *Arterioscl. Throm. Vas.*, 23: 365-367.
- Hoidal, J. R. 2001. Reactive oxygen species and cell signalling. *Am. J. Resp. Cell. Mol.*, 25: 661-663.
- Hojo, Y., 1986: Sequential study of glutathione peroxidase and selenium contents of human milk. *Sci. Total Environ.*, 52: 83–91.
- Hou, Z., Z. Wang, T. Chai, Y. Jia, Q. Gong, J. Ma, and Y. Wang. 2008. Effects of forage to concentrate ratio on homeostasis of rumen and oxidative stress in cows. *Chin. J. Anim. Vet. Sci.*, 39: 455–459.
- Hristov, S., B. Stanković, M. Joksimović–Todorović, J. Bojkovski, and V. Davidović. 2007. Uticaj toplotnog stresa na proizvodnju mlečnih krava, Zbornik naučnih radova. Zbornik naučnih radova. 13: 47-54.
- Ikari, A., M. Nakano, Y. Suketa, H. Harada, and K. Takagi. 2005. Reorganization of ZO-1 by sodium-dependent glucose transporter activation after heat stress in LLC-PK1 cells. *J. Cell. Physiol.*, 203:471–478.
- IPCC. 2007. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. In: *Summary for Policy Makers*. Intergovernmental Panel on Climate Change, ISSN 0971-2062, Available from <http://www.ipcc.cg/SPM13apr07.pdf>.

- Itoh, F., Y. Obara, M. T. Rose, H. Fuse, and H. Hashimoto. 1998. Insulin and glucagon secretion in lactating dairy cows during heat exposure. *J. Anim. Sci.*, 76: 2182–2189.
- Iwama, Y., M. Kamiya, M. Tanaka, and S. Shioya. 2004. The change of dry matter intake, milk yield and bone turnover in primiparous cows compared to multiparous cows during early lactation. *JPN J. Anim. Sci.*, 75: 213–218.
- Janero, D. R. 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic. Bio. Med.*, 9: 515–540.
- Jentjens, R. L. P. G., A. J. M. Wagenmakers and A. E. Jeukendrup. 2002. Heat stress increases muscle glycogen use but reduces the oxidation of ingested carbohydrates during exercise. *J. Appl. Physiol.*, 92:1562–1572.
- Johnson, H. D. 1980. Environmental management of cattle to minimize the stress of climate changes. *Int. J. Biometeorol.*, 24: 65-78.
- Joksimović-Todorović, M., V. Davidović, S. Hristov, and B. Stanković. 2011. Effect of heat stress on milk production in dairy cows. *Biotech. Anim. Husbandry*, 27: 1017-1023
- Jóźwik, A., N. Strzałkowska, E. Bagnicka, W. Grzybek, J. Krzyżewski, E. Poławska, A. Kołataj, and J. O. Horbańczuk. 2012a. Relationship between milk yield, stage of lactation, and some blood serum metabolic parameters of dairy cows. *Czech J. Anim. Sci.*, 57: 353–360.
- Jóźwik, J., Krzyżewski, N. Strzałkowska, E. Poławska, E. Bagnicka, A. Wierzbicka, K. Niemczuk, P. Lipińska, and J. O. Horbańczuk. 2012b. Relations between the oxidative status, mastitis, milk quality and disorders of reproductive functions in dairy cows-a review. *Anim. Sci. Pap. Rep.*, 30: 297-307.
- Kadzere, C. T., M. R. Murphy, N. Silanikove, and E. Maltz. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 77: 59–91.
- Kamiya, M., Y. Iwama, M. Tanaka, and S. Shioya. 2005. Effects of high ambient temperature and restricted feed intake on nitrogen utilization for milk production in lactating Holstein cows. *JPN J. Anim. Sci.*, 76: 217-223.
- Kamiya, M., Y. Kamiya, M. Tanaka, T. Oki, Y. Nishiba, and S. Shioya. 2006a. Effects of high ambient temperature and restricted feed intake on urinary and plasma 3-methylhistidine in lactating Holstein cows. *JPN J. Anim. Sci.*, 77: 201–207.
- Kamiya, Y., M. Kamiya, and M. Tanaka. 2006b. Effects of forage-to concentrate ratio in prepartum diet on the dry matter intake and milk yield of periparturient cows during hot weather. *JPN J. Anim. Sci.*, 77: 63–70.

- Kataria, N., A. K. Kataria, and R. Maan. 2010. Evaluation of oxidative stress due to hot environmental condition in healthy Marwari goats from arid tract in India. *Philipp. J. Vet. Anim. Sci.*, 36: 175-184.
- Khate, K. and B. R. Yadav. 2010. Incidence of mastitis in Sahiwal cattle and Murrah buffaloes of a closed organized herd. *Ind. J. Anim. Sci.*, 80: 467-469.
- Kleczkowski, M., W. Klucinski, J. Sikora, and M. Zdanowicz. 2004. Role of antioxidants in the protection against oxidative stress in cattle - trace elements and enzymatic mechanisms (part 3). *Pol. J. Vet. Sci.*, 7: 233-240.
- Kleczkowski, M., W. Klucinski, T. Jakubowski, and J. Sikora. 2006. Dependence between acute phase response, oxidative status and mastitis of cows. *Pol. J. Vet. Sci.*, 9:151–158.
- Knapp, D. M., and R. R. Grummer. 1991. Response of lactating dairy cows to fat supplementation during heat stress. *J. Dairy Sci.*, 74: 2573–2579.
- Kolb, E., and J. Seehawer. 2000. Effect of stress on cortisol secretion and vitamin metabolism in cattle. *Praktischer Tierarzt*, 81:1037-1046.
- Komine, K. I., T. Kuroishi, Y. Komine, K. Watanabe, J. Kobayashi, T. Yamaguchi, S.I. Kamata, and K. Kumagai. 2004. Induction of nitric oxide production mediated by tumor necrosis factor alpha on staphylococcal enterotoxin c-stimulated bovine mammary gland cells. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 11: 203–210.
- Kučera, J., J. Hyánek, J. Mikšík, and V. Cermák. 1999. The influence of the season of parturition on milk performance in the Czech Pied cattle. *Czech J. Anim. Sci.*, 44: 343-350.
- Kumar Sunil, B. V., A. Kumar, and K. Meena. 2011. Effect of heat stress in tropical livestock and different strategies for its amelioration. *J. Stress Phys. Biochem.*, 7: 45-54.
- Lakritz, J., M. J. Leonard, P. A. Eichen, G. E. Rottinghaus, G. C. Johnson, and D. E. Spiers. 2002. Whole-blood concentrations of glutathione in cattle exposed to heat stress or's combination of heat stress and endophyte-infected tall fescue toxins in controlled environmental conditions. *Am. J. Vet. Res.*, 63: 799–803.
- Leagates, J. E., B. R. Farthing, R. B. Casady, and M. S. Barrada. 1991. Body temperature and respiratory rate of lactating dairy cattle under field and chamber conditions. *J. Dairy Sci.*, 74: 2491-2500.
- Liangrong, Y. J., L. X Zhang, & L. Qinghua. 2007. Effect of heat stress on anti-oxidative capability in Holstein and Jersey dairy cows [J]. *Fujian J. Anim. Husbandry Vet. S.*, 1: (Abstrac.).

- Lima, I. A., M. Azevedo, C. R. A. Borges, M. A. Ferreira, A. Guim and G. L. P. Almeida. 2013. Thermoregulation of Girolando cows during summertime, in Pernambuco State, Brazil. *Acta Sci. Anim. Sci.*, 35: 193-199.
- Löhrke, B., M. Derno, B. Krüger, T. Viergutz, H. Matthes, and W. Jentsch. 1997. Expression of sulphonylurea receptors in bovine monocytes from animals with a different metabolic rate. *Pflugers Arch.*, 434: 712–720.
- Löhrke, B., T. Viergutz, W. Kanitz, K. Gollnitz, F. Becker, A. Hurtienne, and F. J. Schweigert. 2004. High milk yield in dairy cows associated with oxidant stress. *J. Vet. Res.*, 8: 70–78.
- Löhrke, B., T. Viergutz, W. Kanitz, B. Losand, D. G. Weiss, and M. Simko. 2005. Hydroperoxides in circulating lipids from dairy cows, implications for bioactivity of endogenous-oxidized lipids. *J. Dairy Sci.*, 88: 4562.
- Loven, D. P. 1988. A role for reduced oxygen species in heat induced cell killing and induced induction of thermo tolerance. *Med. Hypotheses*, 26: 39-50.
- Lykkesfeldt, J., and O. Svendsen. 2007. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet. J.*, 173: 502-511.
- Mader, T. L., M. S. Davis, and T. M. Brown-Brandl. 2006. Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, 84: 712-719.
- Mader, T. L., 2007. Heat stress effects on feedlot cattle and mitigation strategies. In: *Proc. 22th Ann. Southwest Nutr. & Manage. Conf. the Univ. of Arizona, Tucson.* p. 84-92.
- Maia, A. S. C., R. G. Da Silva, and C. M. B. Loureiro. 2005. Sensible and latent heat loss from the body surface of Holstein cows in a tropical environment. *Int. J. Biometeorol.*, 50: 17–22.
- Mandebvu, P., J. B. Castillo, D. J. Steckley and E. Evans. 2003. Total antioxidant capacity: A tool for evaluating the nutritional status of dairy heifers and cows. *Can. J. Anim. Sci.*, 83: 605–608.
- Marai, I. F. M.; A. A. El-Darawany; A. Fadiel; and M. A. M. Abdel-Hafez. 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review. *Small. Rumin. Res.*, 71: 1-12.
- Marai, I. F. M., and A. A. M. Haezeb. 2010. Buffalo's biological functions as affected by heat stress — A review. *Livest. Sci.*, 127: 89–109
- Marko, R. C., B. Belić, B. Toholj, M. Stevančević, A. Potkonjak, and P. Lako. 2011. Influence of respiration rate and rectal temperature in Holstein cows to milk production during heat stress. *Serb. J. Agri. Sci.*, 60: 183-189.

- Martello, L. S.; J. H. Savastano; S. L. Silva; and J. C. C. Balieiro. 2010. Alternative body sites for heat stress measurement in milking cows under tropical conditions and their relationship to the thermal discomfort of the animals. *Int. J. Biometeorol*, 54: 647-652.
- Martínez-Borraz, Alfonso, A. Pinelli-Saavedra, S. Y. Moya-Camarena, H. González-Ríos and J. Hernández. 2012. Fatty acid profile and conjugated linoleic acid content of milk from confined Holstein cows during the summer and winter seasons. In: *Milk Production – An Up-to-Date Overview of Animal Nutrition, Management and Health*. INTECH. p. 103-120.
- Matsuura, E., G. R. V. Hughes, and M. A. Khamashta. 2008. Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun. Rev.*, 7: 558-566.
- McDowell, R. E., N. W. Hooven, and J. K. Camoens, 1976. Effects of climate on performance of Holsteins in first lactation. *J. Dairy Sci.*, 59: 965–973.
- McGovern, R. E., and J. M. Bruce. 2000. A model of the thermal balance for cattle in hot conditions. *J. Agric. Engng. Res.*, 77: 81-92.
- Miller, J. K., E. Brzezinska-slebodzinska, and F. C. Madsen. 1993. Oxidative stress, antioxidants and animal function. *J. Dairy Sci.*, 76: 2812-2823.
- Mitchell, J. B., and A. Russo, 1983. Thiols, thiol depletion and thermosensitivity. *Radiat. Res.*, 95: 471-485.
- Montanholi, Y. R.; N. E. Odongo; K. C. Swanson; F. S. Schenkel; B. W. McBride; and S. P. Miller. 2008. Application of infrared thermography as an indicator heat and methane production and its use in the study of skin temperature in response to physiological events in dairy cattle (*Bos taurus*). *J. Therm. Biol.*, 33: 468–475.
- Mount, L. E. 1979. *Adaptation to thermal environment: Man and his productive animals*. Univ. Park Press, Baltimore, MD.
- Mudron, P., G. Kovac, and J. Konvicna. 1999. The ferric-reducing activity of plasma in dairy cows at different lactation stages. *Folia Vet.*, 43:29-31.
- Mujahid, A., Y. Yoshiki, Y. Akiba, and M. Toyomizu. 2005. Superoxide radical production in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. *Poult. Sci.*, 84: 307–314.
- Muroya, S., F. Terada, and S. Shioya. 1997. Influence of heat stress on distribution of nitrogen in milk. *Anim. Sci. Technol.*, 68: 297–300.
- Nardone, A., N. G. Lacetera, U. Bernabucci and B. Ronchi. 1997. Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and early postpartum period. *J. Dairy Sci.*, 80: 838–844.

- Nardone, A., B. Ronchi, N. Lacetera and U. Bernabucci. 2006. Climatic effects on productive traits in livestock. *Vet. Res. Commun.*, 30 (Suppl. 1): 75–81.
- Nardone, A., B. Ronchi, N. Lacetera, M. S. Ranieri and U. Bernabucci. 2010. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livest. Sci.*, 130: 57–69.
- National Research Council (NRC). 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Ed. National Acad. Press. Washington, DC.
- Nienaber, J. A., and G. L. Hahn. 2007. Livestock production system management responses to thermal challenges. *Int. J. Biometeorol.*, 52: 149–157.
- Novák, P., J. Vokřálová, I. Knížková, P. Kunc and J. Rožnovský. 2007. The influence of high ambient temperatures in particular stages of lactation on milk production of Holstein dairy cows. In: K. Střelcová, J. Škvarenina, & M. Blaženec, editors, “Bioclimatology and natural hazards” Inter. Scientific Conf. Poľana nad Detvou, Slovakia.
- Noyan, T., A. Güler, M. R. Sekeroglu, and M. Kamaci. 2006. Serum advanced oxidation protein products, myeloperoxidase and ascorbic acid in pre-eclampsia and eclampsia. *Aust. & New Zeal. J. Obstet. Gynaecol.*, 46: 486–491.
- O'Brien, M. D., L. C. Cole, J. B. Wheelock, S. R. Sanders, G. C. Duff, L. H. Baumgard, and R. P. Rhoads. 2008. Thermal and nutritional regulation of hepatic gluconeogenic genes in growing beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 86 (E-Suppl 2): 455. (Abstr.)
- O'Brien, M. D., R. P. Rhoads, S. R. Sanders, G. C. Duff, and L. H. Baumgard. 2010. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 38:86–94.
- O'Boyle, N., C. M. Corl, J. C. Gandy, and L. M. Sordillo. 2006. Relationship of body condition score and oxidant stress to tumor necrosis factor expression in dairy cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 113: 297-304.
- Offord, E., G. Poppel, and R. Tyrrell. 2000. Markers of oxidative damage and antioxidant protection: current status and relevance to disease. *Free Radic. Res.*, 33: S5–S19.
- Olson T.A., C.C. Chase Jr., C. Lucena, E. Codoy, A. Zuniga and R.J. Collier. 2006. Effect of hair characteristics on the adaptation of cattle to warm climates. In *Proc. of the 8th World Congress on Genetic applied to Livestock Production*, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

- Olsson, G., C. Bergsten, and H. Wiktorsson. 1998. The influence of diet before and after calving on the food intake, production and health of primiparous cows, with special reference to sole heamorrhages. *Anim. Sci.*, 66: 75–86.
- Orth, R. 1992. Sample day and lactation report. In Dairy Herd Improvement Association 200 Fact Sheet A-2. M. S. DRPC, Ed., Ames, IA.
- Pacheco, D., M. H. Tavendale, G. W. Reynolds, T. N. Barry, J. Lee, and W. C. McNabb. 2003. Whole-body fluxes and partitioning of amino acids to the mammary gland of cows fed fresh pasture at two levels of intake during early lactation. *Brit. J. Nut.*, 90: 271–281.
- Padilla, L., T. Matsui, Y. Kamiya, M. Kamiya, M. Tanaka and H. Yano. 2006. Heat stress decreases plasma vitamin C concentration in lactating cows. *Livest. Sci.*, 101: 300–304.
- Parekh, H. K. B. 1986. A new formula for FCM (3.5%) fat [Fat-corrected milk]. *Ind. J. Anim. Sci.*, 56: 608-609.
- Pedernera, M., P. Celi, S. C. García, H. E. Salvin, I. Barchia, and W. J. Fulkerson. 2010. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture. *Vet. J.*, 186: 352–357.
- Piccione, G., M. Borruso, C. Giannetto, M. Morgante and E. Giudice. 2007. Assessment of oxidative stress in dry and lactating cows. *Acta Agric. Scand., A-AN*, 57: 101-104.
- Pollard, B. C., M. D. Estheimer, M. E. Dwyer, P. C. Gentry, W. J. Weber, E. Lemke, L. H. Baumgard, D. A. Henderson, B. A. Crooker and R. J. Collier. 2005. The influence of parity, acclimatization to season, and recombinant bovine somatotropin (rbST) on diurnal patterns of prolactin and growth hormone in Holsteins exposed to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 88 (suppl. 1): 121.
- Purwanto, B. P., Y. Abo, R. Sakamoto, F. Furumoto, and S. Yamamoto. 1990. Diurnal patterns of heat production and heart rate under thermoneutral conditions in Holstein Friesian cows differing in milk production. *J. Agric. Sci. Cam.*, 114: 139-142.
- Quintela, L. A., J. J. Becerra, C. Rey, C. Díaz, J. Cainzos, F. Rivas, W. Huanca, A. Prieto, and P. G. Herradón, 2011. Perfiles metabólicos en parto, parto y postparto en vacas de raza rubia gallega: estudio preliminar. *IBADER - Recursos Rurais*, 7: 5-14.
- Ravagnolo, O. and I. Misztal. 2000. Genetic component of heat stress in dairy cattle, parameter estimation. *J. Dairy Sci.*, 83: 2126–2130.

- Reilly, P. M., H. J. Schiller, and G. B. Bulkley. 1991. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am. J. Surg.*, 161: 488–503.
- Renaudeau, D., A. Collin, S. Yahav, V. de Basilio, J. L. Gourdine and R. J. Collier. 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal*, 6-5: 707–728.
- Rhoads, M. L., R. P. Rhoads, M. J. Van Baale, R. J. Collier, S. R. Sanders, W. J. Weber, B. A. Crooker and L. H. Baumgard. 2009. Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: I. production, metabolism and aspects of circulating somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 92: 1986–1997.
- Rhoads, M. L., J. W. Kim, R. J. Collier, B. A. Crooker, Y. R. Boisclair, L. H. Baumgard and R. P. Rhoads. 2010. Effects of heat stress and nutrition on lactating Holstein cows: II. Aspects of hepatic growth hormone responsiveness. *J. Dairy Sci.*, 93: 170–179.
- Rhoads, R.P., A. J. La Noce, J. B. Wheelock, and L. H. Baumgard. 2011. Alterations in expression of gluconeogenic genes during heat stress and exogenous bovine somatotropin administration. *J. Dairy Sci.* 94:1917–21.
- Rhoads, R. P., L. H. Baumgard and J. K. Suagee. 2013. Metabolic priorities during heat stress with an emphasis on skeletal muscle. *J. Anim. Sci.*, 91: 2492–2503.
- Roche, J. R., N. C. Friggens, J. K. Kay, M. W. Fisher, K. J. Stanford, and D. P. Berry. 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J. Dairy Sci.*, 92: 5769-5801.
- Rodríguez, L. W., G. Mekonnen, C.J. Wilcox, F.G. Martin, and W.A. Krienk. 1985. Effects of relative humidity, maximum and minimum temperature, pregnancy and stage of lactation on milk composition and yield. *J. Dairy Sci.*, 68: 973–978.
- Roman-Ponce, H., W. W. Thatcher, D. E. Buffington, C. J. Wilcox, and H. H. Van Horn. 1977. Physiological and production responses of dairy cattle to a shade structure in a sub-tropical environment. *J. Dairy Sci.*, 60: 424-430.
- Ronchi, B., U. Bernabucci, N. Lacetera, A. S. Verini and A. Nardone. 1999. Distinct and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status in Holstein heifers. *Zoot. Nutr. Anim.*, 25: 71–80.
- Ronchi, B., U. Bernabucci, N. Lacetera, and A. Nardone. 2000. Oxidative and metabolic status of high yielding dairy cows in different nutritional conditions during the transition period. In: *Book of abstracts of the 51st Ann. Meeting of the Europ. Assoc. Anim. Prod.* Wageningen Press, Netherlands. p. 125.

- Sakatani, M., A. Z. Balknala, K. Yamanaka, and M. Takashashi. 2012. Effect of summer heat environment on body temperature, estrous cycles and blood antioxidant levels in Japanese Black cow. *Anim. Sci. J.*, 83: 394-402.
- Sandhu, Z. S., M. S. Tariq, M. H. Baloch and M. A. Qaimkhani. 2011. Performance analysis of Holstein-Friesian cattle in intensive management at dairy farm Quetta, Balochistan, Pak. *J. life Soc. Sci.*, 9: 128-133.
- Sanmiguel P. R. A., y V. Á. Díaz. 2011. Mecanismos fisiológicos de la termorregulación en animales de producción. *Rev. Colombiana de Ciencia Animal* 4: 88-94.
- Sano, H., K. Takahashi, K. Ambo, and T. Tsuda. 1983. Turnover and oxidation rates of blood glucose and heat production in sheep exposed to heat. *J. Dairy Sci.*, 66:856–61.
- SAS. 2004. SAS/STAT Guide for personal computers. Release 9.2 Cary, N.C., USA. SAS Institute Inc.
- Schiaffonati, L., E. Rappocciolo, L. Tacchini, G. Cairo, and A. Bernelli-Zazzera. 1990. Reprogramming of gene expression in postischemic rat liver: induction of proto-oncogenes and hsp 70 gene family. *J. Cell Physiol.*, 143: 79-87.
- Sgorlon, S., G. Stradaoli, G. Gabai, and B. Stefanon. 2008. Variation of starch and fat in the diet affects metabolic status and oxidative stress in ewes. *Small Rum. Res.*, 74: 123–129.
- Sharma, R. K., F. F. Pasqualotto, D. R. Nelson, A. J. Thomas and A. Agarwal. 1999. The reactive oxygen species vs total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. *Human Reprod.*, 14: 2801–2807.
- Sharma, R. B., K. Manish, and V. Pathak. 2002. Effect of different seasons on cross-bred cow milk composition and paneer yield in sub-Himalayan region. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15: 528-530.
- Sharma, N., N. K. Singh, O. P. Singh, V. Pandey, and P. K. Verma. 2011. Oxidative stress and antioxidant status during transition period in dairy cows. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 24: 479–484.
- Shwartz, G., M. L. Rhoads, M. J. Van Baale, R. P. Rhoads and L. H. Baumgard. 2009. Effects of a supplemental yeast culture on heat-stressed lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 92: 935–942.
- Sies, H. 1991. Oxidative stress: Introduction. Page xv-xxii in *Oxidative Stress*: In: H. Sies, editor, *Oxidants and Antioxidants*. Acad. Press Inc., San Diego, CA.

- Sies, H. 1997. Impaired endothelial and smooth muscle cell function in oxidative stress. *Exp. Physiol.*, 82: 291-295.
- Silanikove, N., E. Maltz, A. Halevi, and D. Shinder. 1997. Metabolism of water, sodium, potassium and chlorine by high yielding dairy cows at the onset of lactation. *J. Dairy Sci.* 80: 949–956.
- Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod. Sci.*, 67: 1–18.
- Silanikove, N., F. Shapiro, and D. Shinder. 2009. Acute heat stress brings down milk secretion in dairy cows by up-regulating the activity of the milk-borne negative feedback regulatory system. *BMC Physiol.* 9: 13–22.
- Siva Kumar, A. V. N., V. P. Varshney, and K. V. H. Sastry. 2007 Effect of antioxidants supplementation on total antioxidant activity in heat stressed goats. *Ind. J. Anim. Nutr.*, 24:47-49.
- Smith, D. L., T. Smith, B. J. Rude, and S. H. Ward. 2013. Comparison of the effects of heat stress on milk and component yields and somatic cell score in Holstein and Jersey cows. *J. Dairy Sci.*, 96: 3028-33.
- Sordillo, L. M., G. A. Contreras and S. L. Aitken. 2009. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Anim. Health Res. Rev.*, 10: 53-63.
- Spiers, D. E., J. N. Spain, J. D. Sampson and R. P. Rhoads. 2004. Use of physiological parameters to predict milk yield and feed intake in heat-stressed dairy cows. *J. Therm. Biol.*, 29: 759–764.
- Srikandakumar, A. and E. H. Johnson. 2004. Effect of heat stress on milk production, rectal temperature, respiratory rate and blood chemistry in Holstein, Jersey and Australian milking zebu cows. *Trop. Anim. Health Prod.*, 36 (7): 685
- Staples, C. R., and W. W. Thatcher. 2011. Stress in dairy animals | Heat Stress: Effects on milk production and composition. *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Second Edition). p. 561–566
- Stott, G. H. 1981. What is animal stress and how is it measured? *J. Anim. Sci.*, 52: 150-153.
- Suriyasathaporn, W., U. Vinitketkumnun, T. Chewonarin, S. Boonyayatra, K. Kreausukon and Y. H. Schukken. 2006. Higher somatic cell counts resulted in higher malondialdehyde concentrations in raw cows' milk. *Int. Dairy J.*, 16: 1088-1091.

- Tanaka, M., Y. Kamiya, M. Kamiya, S. Shioya and Y. Nakai. 2007a. Antiradical function of sulfhydryl residues and oxidative stress markers in dairy cattle plasma. *JNP Anim. Sci. J.*, 78: 61–65.
- Tanaka, M., Y. Kamiya, M. Kamiya, and Y. Nakai. 2007b. Effect of high environmental temperatures on ascorbic acid, sulfhydryl residue and oxidized lipid concentrations in plasma of dairy cows. *JPN J. Anim. Sci.*, 78: 301–306.
- Tanaka, M., Y. Kamiya, T. Suzuki, M. Kamiya, and Y. Nakai. 2008. Relationship between milk production and plasma concentrations of oxidative stress markers during hot season in primiparous cows. *JPN J. Anim. Sci.*, 79: 481–486.
- Tanaka, M., Y. Kamiya, T. Suzuki, and Y. Nakai. 2011. Changes in oxidative status in periparturient dairy cows in hot conditions. *JPN J. Anim. Sci.*, 82: 320-324.
- Tapkı I. and Ahmet Şahin. 2006. Comparison of the thermoregulatory behaviours of low and high producing dairy cows in a hot environment. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 99: 1–11.
- Terada, F., and S. Shioya. 1998. Effects of fish meal supplementation and environmental conditions on nitrogen excretion in lactating cows. *JNP Anim. Sci. Tech.*, 69: 620–624.
- Todorova, D. 1998. Influence of the diet and season alteration on the cow's milk composition and properties. *Bulg J. Agri. Sci.*, 4: 525–530.
- Treacher, R. J., I. M. Reid, and C. J. Roberts. 1986. Effect of body condition at calving on the health and performance of dairy cows. *Anim. Prod.*, 43: 1–6.
- Trout, J. P., L. R. McDowell, and P. J. Hansen. 1998. Characteristics of the estrous cycle and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 81: 1244-1250.
- Turk, R., O. Podpecan, J. Mrkun, M. Kosec, Z. Flegar-Mestric, S. Perkovic, J. Staric, M. Robic, M. Belic, and P. Zrimsek. 2013. Lipid mobilisation and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. *Anim. Rep. Sci.*, 141: 109– 115.
- Tyrrell, H. F., and J. T. Reid. 1965. Prediction of the energy values of cow's milk. *J. Dairy Sci.*, 48: 1215–1223.
- Usman, T., M. S. Qureshi, Y. Yu and Y. Wang. 2013. Influence of various environmental factors on dairy production and adaptability of Holstein cattle maintained under tropical and subtropical conditions. *Adv. Environ. Biol.*, 7: 366-372.
- Venditti, P., and S. Meo. 2006. Thyroid hormone-induced oxidative stress. *Cell Mol. Life Sci.*, 63: 414–434.

- Vicini, J. L., B. A. Crooker and M. A. McGuire. 2002. Energy balance in early lactation dairy cows. *Cal. Anim. Nutr. Conf.* p. 1-8.
- Vincent, H. K., K. E. Innes, and K. R. Vincent. 2007. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes. Metab.*, 9: 813–839.
- Wachter, C. M., B. T. McDaniel, L. W. Whitlow, and S. Pettyjohn. 1999. Genetics of antioxidant activity in Holsteins and Jerseys: Associations with various traits. *J. Dairy Sci.*, 82 (Suppl. 1): 10 (Abstr).
- Weiss, W. P., J. S. Hogan, and K. L. Smith. 2004. Changes in vitamin C concentrations in plasma and milk from dairy cows after an intramammary infusion of *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.*, 87: 32-37.
- West, J. W. 2003. Effects of heat stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 86: 2131–2144.
- West, J. W., B. G. Mullinix and J. K. Bernard. 2003. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 86: 232–242.
- Wheelock, J. B., R. P. Rhoads, M. J. Van Baale, S. R. Sanders and L. H. Baumgard. 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 93: 644–655.
- Wildman, E. E., G. M. Jones, P. E. Wagner, R. L. Boman, H. F. Troutt Jr., and T. N. Lesch. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J. Dairy Sci.*, 65: 495-501.
- Willmer, P.; G. Stone & I. Johnston. 2004. Temperature and Its Effects, In: *Environmental Physiology of Animals*. 2th ed. Wiley-Blackwell, West Sussex, United Kingdom. p. 182-245.
- Wise, M. E., D. V. Armstrong, J. T. Huber, R. Hunter, and F. Wiersma. 1988. Hormonal alterations in the lactating dairy cows in response to thermal stress. *J. Dairy Sci.*, 71: 2480-2485.
- Wullepit, N., K. Raes, B. Beerda, R. F. Veerkamp, D. Fremaut, and S. De Smet. 2009. Influence of management and genetic merit for milk yield on the oxidative status of plasma in heifers. *Livest. Sci.*, 123: 276–282.
- Yilmaz, H. and A. Koc. 2013. A research on milk yield, persistency, milk constituents and somatic cell count of red Holstein cows raised under mediterranean climatic conditions. *Bulg. J. Agr. Sci.*, 19: 1401-1407.

- Yongqing, Guo, X. Xiaofeng, Z. Yang, Y. Zhanshan, L. Shengli and C. Zhijun. 2013. Changes in feed intake, nutrient digestion, plasma metabolites, and oxidative stress parameters in dairy cows with subacute ruminal acidosis and its regulation with pelleted beet pulp. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 4: 31.
- Young, I. S., and J. V. Woodside. 2001. Antioxidants in health and disease. *J. Clin. Pathol.*, 54:176-186.
- Yousef, M. K. 1985. Stress Physiology in Livestock. In: M. K. Yousef, editor, *Basic Principles*, Vol. 1. CRC Press. Boca Raton, FL, USA.
- Yousef, M. K. 1987. Principle of bioclimatology and adaptation. In: H. D. Johnson, editor, *Bioclimatology and the Adaptation of Livestock*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam, The Netherlands. p. 17-29.
- Zimbleman, R. B., R. P. Rhoads, L. H. Baumgard, and R. J. Collier. 2009. Revised temperature humidity index (THI) for high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 92: E-Suppl. 1:347.
- Zimbleman, R. B., and R. J. Collier. 2011. Feeding strategies for high-producing dairy cows during periods of elevated heat and humidity. In: *Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf.* Ohio State University. Wayne, Indiana, USA. p. 111-126.