

# Cooling Holstein cows and heifers before calving during the summer: behavioral measures related to animal welfare

## Enfriamiento de vacas y vaquillas Holstein antes del parto durante el verano: medidas de conducta relacionadas con el bienestar animal

Antonio J. Mejía Lastra<sup>1</sup>; Leonel Avendaño Reyes<sup>2</sup>; Arnulfo Vicente Pérez<sup>3</sup>; Ulises Macías Cruz<sup>2</sup>; Abelardo Correa Calderón<sup>2</sup>; Jaime Olivares Pérez<sup>1</sup>; Luis M. Camacho Díaz<sup>1</sup>; Moisés Cipriano Salazar<sup>1</sup>; Saúl Rojas Hernández<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Guerrero, Maestría en Ciencias Agropecuarias y Gestión Local, carretera Iguala-Tuxpan km 2.5, Iguala de la Independencia, Guerrero. México. C. P. 40030.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Ciencias Agrícolas, Blvd. Delta s/n, Ejido Nuevo León, Baja California, México. C. P. 21705.

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Boulevard San Ángel s/n, Fraccionamiento San Benito, Culiacán, Sinaloa, México. C. P. 802460.

\*Corresponding author: saulrh@hotmail.com Tel. 767 1017869. ORCID.ID: 0000-0001-5152-2149

### Abstract

The objective of the study was to compare behaviors related to animal welfare and electrolyte levels between multiparous cows and primiparous heifers under an arid environment in a cooling system for 30 d before calving. Cows and heifers were hosted in different pens with shade and a cooling system. The behavior was monitored through visual sweep analysis and included rest and feeding episodes. Blood samples were collected from eleven cows and eleven heifers to determine electrolytes in serum. The frequency of animals in each activity was recorded in percentages, and means were involved in the MIXED procedure of the Statistical Analysis System for comparison. In the mornings, heifers remained standing in the shade foraging, while cows preferred lying down in the breeze and ruminating in the morning ( $P < 0.05$ ). Cows and heifers similarly maintained their feeding and rumination episodes ( $P > 0.05$ ). In the afternoon, more heifers than cows resorted to drinking water ( $P > 0.05$ ). Electrolytes concentrations were similar ( $P > 0.05$ ). It was concluded that Holstein cows and heifers expressed slight differences in resting and feeding behavior, but blood plasma electrolyte concentrations remained similar and normal.

**Keywords:** Cooling, animal welfare, dairy cattle, dry period.

### Resumen

El objetivo de este estudio fue comparar las conductas relacionadas con el bienestar animal y los niveles de electrolitos entre vacas multíparas y vaquillas primíparas en condiciones de un ambiente árido en un sistema con enfriamiento durante 30 d preparto. Vacas y vaquillas se alojaron en corrales diferentes con sombra y un sistema de enfriamiento. La conducta se monitoreó mediante análisis de barrido visual considerando episodios de descanso y de alimentación. Muestras de sangre de 11 vacas y 11 vaquillas se recolectaron para determinar electrolitos en suero sanguíneo. La frecuencia de animales en cada actividad se registró en porcentajes y las medias se compararon con el procedimiento MIXED del Statistical Analysis System. Por las mañanas, las vaquillas permanecieron de pie bajo la sombra alimentándose, mientras que las vacas prefirieron echarse bajo la brisa y rumiar ( $P < 0.05$ ). Vacas y vaquillas mantuvieron de manera similar sus episodios de alimentación y rumia ( $P > 0.05$ ). Por la tarde, más vaquillas ( $P < 0.05$ ) que vacas recurrieron a beber agua. Las concentraciones de electrolitos fueron similares ( $P > 0.05$ ). En conclusión, las vacas y vaquillas Holstein expresaron diferencias ligeras en la conducta de descanso y alimentación, pero las concentraciones de electrolitos en plasma sanguíneo se mantuvieron similares y normales.

**Palabras clave:** Enfriamiento, bienestar animal, ganado lechero, periodo seco.

Please cite this article as follows (APA 6): Mejía Lastra, A. J., Avendaño Reyes, L., Vicente Pérez, A., Macías Cruz, U., Correa Calderón, A., Olivares Pérez, J., Camacho Díaz, L. M., Cipriano Salazar, M. & Rojas Hernández, S. (2022). Cooling Holstein cows and heifers before calving during the summer: behavioral measures related to animal welfare. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 21(1), 1-16. doi: 10.5154/r.rchsa.2020.11.04



Revista Chapingo  
Serie Zonas Áridas

## Introduction

Hot environmental temperatures in arid climates cause changes in behavior and physiology of dairy cattle affecting their welfare and productive performance, causing economic losses for the dairy industry (Anzures-Olvera et al., 2015). Holstein cattle are very susceptible to high temperatures creating heat stress, so there may be alterations of organic functions that are used as a survival strategy to try to maintain normal body temperature (Baumgard and Rhoads, 2013; West, 2003). This situation triggers changes in their physical activity (Angrecka and Herbut, 2017; Herbut and Angrecka, 2018). Behavioral changes are employed as a strategy to remove excess heat from their body (Polsky and Von Keyserlingk, 2017). For example, the greater the heat load, the longer cows remain standing (Nordlund et al., 2019); this position allows them to expose their body to air movement, so convective heat loss becomes more efficient (Allen et al., 2015).

The presence of heat stress during the dry period in cattle, besides affecting cow welfare, decreases dry matter intake, which impairs the quality and quantities of colostrum and milk produced in subsequent lactation; also, such stress affects birth weight, calf development and survival (Karimi et al., 2015; Tao and Dahl, 2013; Thompson et al., 2014).

Evaporative heat loss (sweating and panting) is the only effective physiological means employed by cows when ambient temperature is higher than body temperature to avoid overheating (Hill et al., 2006; Robinson, 2014); during this period, cows lose electrolytes such as  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  and  $\text{K}^+$ , mainly in sweat (Collier et al., 1982; Hill et al., 2006). When electrolyte loss is mild, the cow's body manages to reabsorb almost all electrolytes without complications; but if sweat secretion intensifies, an increase in aldosterone secretion due to acclimatization may occur; this contributes to chloride and chloride reabsorption before sweat reaches the skin (Robinson, 2014).

Cooling dairy cows for a few weeks before calving by using cooling systems based on forced ventilation and water spray minimizes the effects of heat stress (Avendaño-Reyes et al., 2007); thus, milk quality and production are increased in the following lactation (Avendaño-Reyes et al., 2007; Do Amaral et al., 2009; Tao et al., 2019). In addition, what is propitiated is an improvement to the immune condition of cows (Do Amaral et al., 2011). Heifer cooling prior to their first calving is also essential to make the heifer-to-cow transition as satisfactory and comfortable as possible. However, the comparative behavior between Holstein cows and heifers during the dry period in the same cooling system regime is an aspect that has not been measured. Therefore, the objective of this study was the

## Introducción

La temperatura ambiental caliente en climas áridos provoca cambios en la conducta y fisiología del ganado productor de leche que comprometen su bienestar y desempeño productivo, ocasionando pérdidas económicas para la industria lechera (Anzures-Olvera et al., 2015). El ganado Holstein es muy susceptible a temperaturas altas que les genera estrés calórico, entonces puede haber alteraciones de las funciones orgánicas que son empleadas como estrategia de supervivencia para tratar de mantener su temperatura corporal normal (Baumgard y Rhoads, 2013; West, 2003). Además, esta situación desencadena cambios en su actividad física (Angrecka y Herbut, 2017; Herbut y Angrecka, 2018). Los cambios en la conducta son empleados como estrategia para eliminar el calor excedente de su cuerpo (Polsky y Von Keyserlingk, 2017). Por ejemplo, conforme la carga de calor es mayor, mayor es el tiempo que las vacas permanecen de pie (Nordlund et al., 2019); esta posición les permite exponer su cuerpo al movimiento del aire, por lo que la pérdida de calor por convección se torna más eficaz (Allen et al., 2015).

La presencia de estrés calórico durante el período seco en bovinos, además de afectar el bienestar de las vacas, disminuye el consumo de materia seca, lo que perjudica la calidad y cantidades de calostro y leche producidos en la subsiguiente lactancia; asimismo, dicho agobio afecta el peso al nacer, el desarrollo y la sobrevivencia de la cría (Karimi et al., 2015; Tao y Dahl, 2013; Thompson et al., 2014).

La pérdida de calor por evaporación (sudoración y jadeo) es el único medio fisiológico eficaz empleado por las vacas cuando la temperatura ambiental es mayor que la corporal para evitar el calentamiento excesivo (Hill et al., 2006; Robinson, 2014); durante este periodo, las vacas pierden electrolitos como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$ , principalmente en el sudor (Collier et al., 1982; Hill et al., 2006). Cuando la pérdida de electrolitos es leve, el organismo de la vaca logra reabsorber casi en su totalidad los electrolitos sin complicaciones; pero si la secreción de sudor se intensifica, un aumento en la secreción de aldosterona debido a la aclimatación puede ocurrir; ello contribuye a la reabsorción de cloro y cloruro antes de que el sudor llegue a la piel (Robinson, 2014).

Enfriar las vacas lecheras durante algunas semanas antes del parto mediante el uso de sistemas de enfriamiento basados en ventilación forzada y rociado de agua minimiza los efectos del estrés calórico (Avendaño-Reyes et al., 2007); así, calidad y producción de leche se incrementan en la lactancia siguiente (Avendaño-Reyes et al., 2007; Do Amaral et al., 2009; Tao et al., 2019). Además, lo que se propicia es una

comparative evaluation of behaviors related to animal welfare and electrolyte levels between multiparous cows and first calving heifers under conditions of a arid environment in the same cooling system 30 d before calving.

## Materials and Methods

**Study location:** The present study was conducted at the commercial dairy farm “Nevárez”, located in the Valley of Mexicali, Baja California, Mexico (coordinates 32° 31' N and 115° 13' W; altitude 15 masl). This valley corresponds to an arid zone, an ecosystem known as the Sonoran Desert, with extreme summer maximum daytime temperatures that can exceed 47 °C and very little precipitation, averaging 85 mm per year (García, 2004). The study period was from July 1 to August 8, 2018.

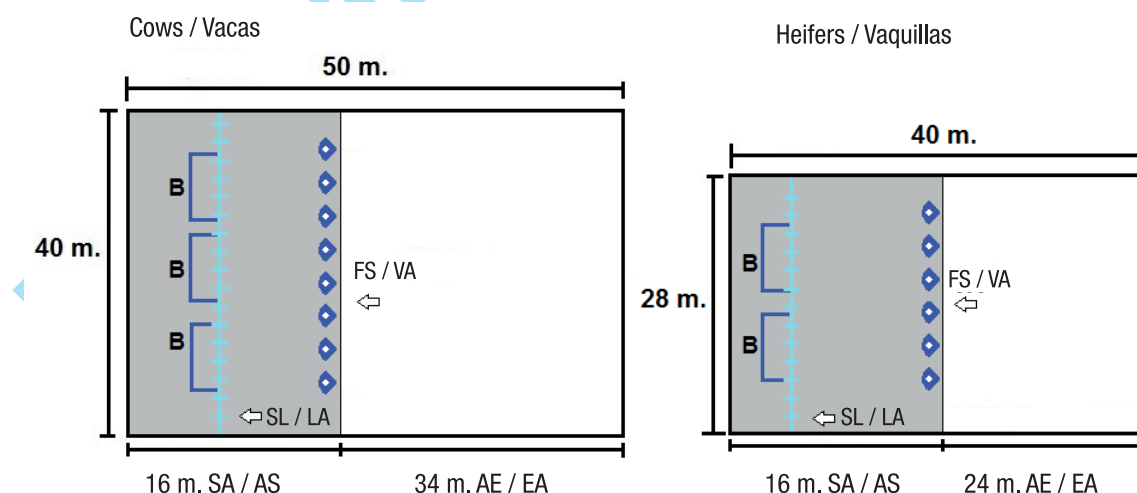
**Animals and confinement pens:** This study involved 50 multiparous cows and 30 primiparous heifers, all pregnant in the dry period, 30 days before calving on average. Both cows and heifers were housed in separate pens with a 6 m high shaded area, oriented in a longitudinal axis from east to west with an area of about 14 m<sup>2</sup> per animal (Figure 1). Pens were equipped with cooling equipment consisting of water sprinklers placed every 4 m and forced ventilation with fans placed at of 2.7 m height (Universal Agri-Cooler model: Universal Fog Cooling Systems, Mesa, Arizona, USA). The equipment was maintained with automated ignition at ambient temperature equal to or higher than 30 °C. The cooling system was located above the drinking area at 1.8 m height; this system had a line of water sprinklers (fog nozzles), consisting

mejora al estado inmunológico de las vacas (Do Amaral et al., 2011). El enfriamiento de vaquillas previamente a su primer parto también es esencial para que la transición de vaquilla a vaca sea lo más satisfactorio y cómodo posible. Sin embargo, la conducta comparativa entre vacas y vaquillas Holstein durante el periodo seco en un mismo régimen de sistema de enfriamiento es un aspecto que no se ha medido. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue la evaluación comparativa de las conductas relacionadas con el bienestar animal y los niveles de electrolitos entre vacas multíparas y vaquillas de primer parto en condiciones de un ambiente árido en un mismo régimen de sistema con enfriamiento durante 30 d preparto.

## Materiales y métodos

**Ubicación del estudio:** El presente estudio se realizó en el establo lechero comercial “Nevárez”, ubicado en el Valle de Mexicali, estado de Baja California, México (coordenadas 32° 31' N y 115° 13' O; altitud 15 msnm). Este valle corresponde a una zona árida, ecosistema conocido como Desierto Sonorense, con verano extremoso de temperaturas diurnas máximas que pueden superar 47 °C y muy poca precipitación, promediando 85 mm anuales (García, 2004). El periodo de estudio fue del 1 de julio al 8 de agosto de 2018.

**Animales y corrales de confinamiento:** En este estudio se involucraron 50 vacas multíparas y 30 vaquillas primíparas, todas gestantes en periodo seco últimos 30 días preparto en promedio. Tanto vacas como vaquillas fueron alojadas en corrales separados con área de sombra de 6 m de altura, orientada en eje



**Figure 1. Cow pens and heifer pens. W: Water troughs; SL: Sprinkler line; FS: 30-inch diameter fans and sprinkler; SA: Shaded area; EA: Exercise area.**

**Figura 1. Corrales de vacas y corral de vaquillas. B: Bebederos; LA: Línea de Aspersores; VA: Ventiladores de 30 pulgadas de diámetro y aspersor; AS: Área de sombra; AE: Área de ejercicio.**

of a 3/8-inch nylon tube, equipped with fog nozzles with 0.75-inch diameter orifice and located 1.35 m apart. This equipment delivered a water flow rate of 250-800 lb-pulg<sup>2</sup>. The diameter of the large velocity oscillating fans was 30 inches with 1 HP of power emitting 15000 cubic feet per minute (cfm) of airflow. These fans were in a linear position over the resting shade area every 4 m and at 2.7 m height. Figure 1 shows the pens of the experimental animals as treatments (Cows and Heifers) and their equipment, as well as their measurements.

**Climate data:** Ambient temperature (AT) and relative humidity (RH) data recorded at the CONAGUA Mexicali, Baja California weather station were provided by the Servicio Meteorológico Nacional (SMN, 2010). Ambient temperature and relative humidity values were recorded every 15 min; hourly and daily averages were estimated. With these variables, Temperature-Humidity Index (THI) was estimated using the formula proposed by Hahn (1999):  $THI = 0.81 (AT) + RH (AT - 14.4) + 46.4$ . Where: AT= ambient temperature (in degrees Celsius), RH=relative humidity (in percent).

### Collection of study variables

**Behavioral variables:** A visual sweep analysis was made based on a duration of 10 min, 3 d per week (every third day) with 4 sampling periods each day (at 6:00, 10:00, 14:00 and 18:00 h). During these periods the behavior of the animals was monitored by considering the following groups of variables: 1) resting episodes: these were divided into standing in the shade (SS), lying down in the shade (LS), lying down in the breeze (LB) and standing on the breeze (SB); and 2) feeding episodes: these were separated into, eating (C), drinking (B) and ruminating (R). The animals received a feeding at 7:00 am in a collective waterer spaced 0.85 m per animal; in this way, problems of hierarchy and overcrowding due to the desire to eat were avoided; and for the rest of the day, feed was stirred in the trough. Each pen was equipped with 2 waterers with automated filling system arranged in a linear manner; thus, each pen could be used by 3 animals at a time.

**Blood electrolytes.** For the analysis of blood electrolytes, blood samples were collected from 11 cows and 11 heifers selected randomly; the samples were collected in 6 mL vacutainer tubes using the coccygeal vein puncture technique. Collection was performed at 6:00 h every 7 d during the study period. After each collection, samples were taken to the laboratory where they were centrifuged at 3500 rpm for 15 min at 10 °C. The serum was then separated in duplicate into 2 ml vials and stored at -20 °C until electrolyte analyses (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>) were performed in an automated electrolyte analyzer (Electrolyte Analyzer LW E60A).

longitudinal de oriente a occidente con superficie de 14 m<sup>2</sup> por animal, aproximadamente (Figura 1). Los corrales estuvieron provistos de equipo de enfriamiento compuesto por aspersores de agua colocados cada 4 m y ventilación forzada con ventiladores colocados a 2.7 m de altura (modelo Universal Agri-Cooler: Universal Fog Cooling Systems, Mesa, Arizona, USA). El equipo se mantuvo con encendido automático a temperatura ambiente igual o mayor a 30 °C. El sistema de enfriamiento estuvo ubicado sobre la zona de bebederos a 1.8 m de altura; este sistema contó con una línea de aspersores de agua (boquillas de niebla), constituida por un tubo de nylon 3/8 de pulgada, equipado con boquillas de niebla con orificio de 0.75 pulgadas de diámetro y situadas a 1.35 m de separación entre ellas. Este equipo suministró un flujo de agua de 250-800 lb-pulg<sup>2</sup>. El diámetro de los ventiladores oscilantes de velocidad grande fue de 30 pulgadas con 1 HP de potencia que emitió 15000 pies cúbicos por minuto (cfm) de flujo de aire. Estos ventiladores se ubicaron linealmente sobre la zona de sombra de descanso cada 4 m y a 2.7 m de altura. La Figura 1 muestra los corrales de los animales experimentales como tratamientos (Vacas y Vaquillas) y su equipamiento, así como sus medidas.

**Datos climáticos:** Los datos de temperatura ambiental (TA) y humedad relativa (HR) registrados en la estación climática CONAGUA Mexicali, Baja California fueron proporcionados por el Servicio Meteorológico Nacional (SMN, 2010). Los valores de temperatura ambiental y humedad relativa se registraron cada 15 min; los promedios por hora y por día de información fueron estimados. Con esas variables se estimó el Índice Temperatura-Humedad (ITH) mediante la fórmula propuesta por Hahn (1999):  $ITH = 0.81 (TA) + HR (TA - 14.4) + 46.4$ . Dónde: TA= temperatura ambiental (en grados centígrados), HR=humedad relativa ambiental (en porcentaje).

### Colección de variables de estudio

**Variables de conducta:** Un registro de barrido visual se hizo con base en una duración de 10 min durante 3 d a la semana (cada tercer día) con 4 periodos de muestreo cada día (horarios 6:00, 10:00, 14:00 y 18:00 h). En esos periodos fue monitoreada la conducta de los animales al considerar los siguientes grupos de variables: 1) episodios de descanso: estos se dividieron en paradas bajo la sombra (PS), echadas bajo la sombra (ES), echadas bajo la brisa (EB) y paradas bajo la brisa (PB); y 2) episodios de alimentación: estos fueron separados en, comiendo (C), bebiendo (B) y rumiando (R). Los animales recibieron una administración de alimento a las 7:00 am en un comedero colectivo con espacio de 0.85 m por animal; así se evitaron problemas de jerarquía y hacinamiento por el deseo de comer; y durante el resto del día, el alimento se removió en el



## Statistical analysis

The frequencies of the behavioral variables were expressed in percentages after logarithmic transformation of the data to meet normality assumptions. Then, an ANOVA was performed by considering a linear model with repeated measurements that included the effects of time, day, treatment (cow or heifer) and hour-in-day nesting. Electrolyte values were analyzed directly with the PDIF command for time-adjusted means (four samples every 7 days) per treatment (cows and heifers) with the MIXED procedure and Tukey's test for comparison of means ( $P \leq 0.05$ ) in the Statistical Analysis System program (SAS Ver. 9.1).

## Results and Discussion

### Climate variables

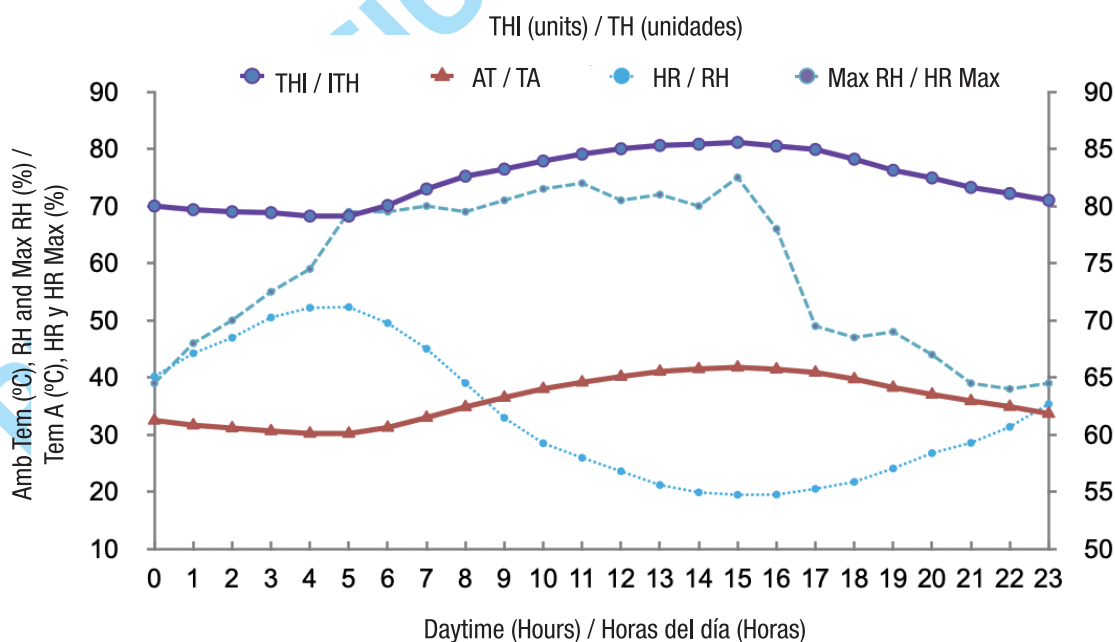
The minimum and maximum values of TA and RH were 30 and 49 °C and 20 and 52 %, respectively. During this study period (Figure 2), temperature and humidity produced an average THI of 82.4 units, which is classified as dangerous for dairy cattle (Armstrong, 1994; West, 2003). At least 14 h per day, the THI value was greater than the 72-unit limit (from 07:00 to 21:00 h); this indicates that the risk of heat stress was manifested for more than half of each day; under natural environmental conditions, this could affect thermoregulation, dry matter intake, and productivity of cattle (Polsky and Von Keyserlingk, 2017). Silanikove

comeder. Cada corral contó con 2 bebederos lineales de llenado automático; entonces, cada corral podía ser usado por 3 animales a la vez.

**Electrolitos sanguíneos.** Para el análisis de electrolitos sanguíneos se recolectaron muestras de sangre de 11 vacas y 11 vaquillas seleccionadas al azar; las muestras se colectaron en tubos vacutainer de 6 mL mediante la técnica de punción de la vena coccígea. La colecta se realizó a las 6:00 h cada 7 d durante el periodo de estudio. Después de cada colecta, las muestras se llevaron al laboratorio donde fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 15 min a 10 °C. Entonces, el suero fue separado por duplicado en viales de 2 ml y almacenados a -20 °C hasta que se realizaron los análisis de electrolitos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Cl}^-$ ) en un analizador automático de electrolitos (Electrolyte Analyzer LW E60A).

### Análisis estadístico

Las frecuencias de las variables de conductas fueron expresadas en porcentajes previa transformación logarítmica de los datos para cumplir con los supuestos de normalidad. Después, un análisis de varianza se realizó al considerar un modelo lineal con mediciones repetidas que incluyó los efectos de hora, día, tratamiento (vaca o vaquilla) y anidación hora en día. Los valores de electrolitos fueron analizados directamente con el comando PDIF para medias ajustadas en el tiempo (cuatro muestreos cada 7 días) por tratamiento (vacas y vaquillas) con el procedimiento MIXED y la



**Figure 2. Averages of Ambient Temperature (AT), Relative Humidity (RH), Temperature and Humidity Index (THI), Maximum Relative Humidity (Max RH) per hour during the experimental period.**

**Figura 2. Promedios de Temperatura Ambiental (TA), Humedad Relativa (HR), Índice de Temperatura y Humedad (ITH), Humedad Relativa Máxima (HR Max) por hora durante el periodo experimental.**

(2000) points out that the ambient temperature should be lower than 21 °C for at least 6 h for a dairy cow to recover from the heat accumulated during the day. Because of the natural temperature and humidity conditions recorded during the study period, animals would be exposed to heat stress for at least 8 h per day.

### Resting episodes

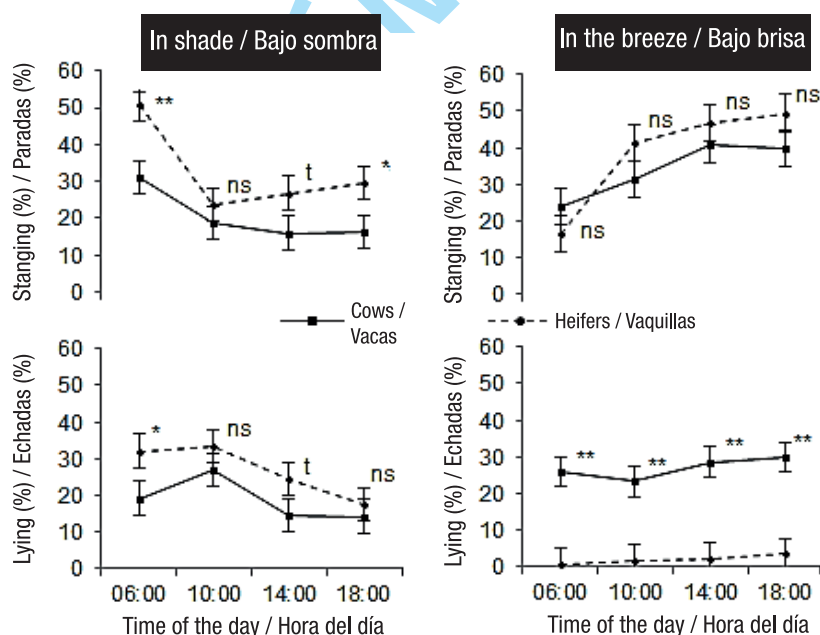
For animals standing under shade, heifers had higher frequency (50.80 and 29.54 %) at 6:00 ( $P < 0.0057$ ) and 18:00 h ( $P < 0.0510$ ), respectively (Figure 3). However, this difference can be attributed to the fact that, during the same schedules, the higher percentage of heifers were eating and drinking in areas provided with shade (Figure 4). The percentage of heifers standing under shade showed a tendency to be higher ( $P < 0.06$ ) than that of cows (26.86 vs. 15.97 %). In the episode standing under the breeze, the difference between cows and heifers was non-significant ( $P > 0.05$ ) (Figure 3). In general, both cows and heifers chose to stand SS and PB to expose their body mass to the breeze and ventilation to induce greater dissipation of body heat to the environment; thus, the effects of heat stress decreased as hours passed and ambient temperature increased (Avendaño-Reyes et al., 2007; Allen et al., 2015; Angrecka and Herbut, 2017). Nordlund et al.,

prueba de Tukey para comparación de medias ( $P \leq 0.05$ ) en el programa Statistical Analysis System (SAS Ver. 9.1).

## Resultados y discusión

### Variables climáticas

Los valores mínimos y máximos de TA y HR fueron de 30 y 49 °C y de 20 y 52 %, respectivamente. Durante el periodo de estudio (Figura 2), las variables de temperatura y humedad produjeron un ITH promedio de 82.4 unidades, el cual se clasifica como peligroso para ganado lechero (Armstrong, 1994; West, 2003). Al menos 14 h por día, el valor del ITH fue mayor que el límite de 72 unidades (de 07:00 a 21:00 h); esto indica que el riesgo de estrés por calor se manifestó durante más de la mitad de cada día; en condiciones naturales de medio ambiente, esto pudo afectar la termorregulación, consumo de materia seca y productividad del ganado (Polisky y Von Keyserlingk, 2017). Silanikove (2000) señala que la temperatura ambiental debe ser menor que 21 °C durante al menos 6 h para que una vaca lechera se recupere del calor acumulado durante el día. Por las condiciones naturales de temperatura y humedad registradas durante el periodo del estudio, los animales quedarían expuestos a estrés calórico por lo menos durante 8 h por día.



**Figure 3.** Diurnal variation in standing and lying behavior under shade and breeze of Holstein cows and heifers cooled 30 d before calving. \* = Significant ( $P < 0.05$ ); \*\* = Highly significant ( $P < 0.01$ ); ns = Not significant; t = trend ( $P = 0.06$ ).

**Figura 3.** Variación diurna en la conducta de paradas y echadas bajo sombra y brisa de vacas y vaquillas Holstein enfriadas 30 d preparto. \* = Significativo ( $P < 0.05$ ); \*\* = Altamente significativo ( $P < 0.01$ ); ns = No significativo; t = tendencia ( $P = 0.06$ ).

(2019) reported that the time animals spent laying decreased from 9 to 6.2 h·d<sup>-1</sup> as THI increased from 68.5 to 79.9 units. Neave et al., (2017) noted that first calving heifers lie down more frequently during the day, however, multiparous cows lie down for longer periods under thermoneutral conditions.

The percentage of heifers lying down in shade was higher ( $P < 0.05$ ) than that of cows (32.00 vs 19.07 %) at 6:00 h of the day. At 14:00 h, the percentage of heifers lying down in shade was higher ( $P < 0.05$ ) than that of cows (24.24 vs 14.46 %). In the remaining hours, cows and heifers expressed similar episodes ( $P > 0.05$ ). Stone et al. (2017) consigned that when the THI was less than 65 units, multiparous cows lay down longer than primiparous cows; however, when THI was greater than 65 units the opposite was true.

The episode lying in the breeze was greater ( $P < 0.01$ ) in cows (at the different times, i.e., 6:00, 10:00, 14:00 and 18:00 h) than in heifers. The fact that heifers did not prefer to lie down in the breeze may be due to two phenomena. The first is associated with the fact that heifers have less body mass than cows, daily metabolic heat production was lower than that produced by cows and, therefore, they were less affected (Kozłowski et al., 2020; Li et al., 2021); the second is related to the fact that the breeze was located over the watering area and the crowding caused the heifers to refuse to show this behavior. In this context, Damian et al. (2020) observed that crowding during the flow of cattle forced the animals to exhibit different behaviors than those expressed during a flow with greater comfort. In environments with extreme warm temperatures such as those that prevailed in the arid environment of this case, animals prefer to lie down in wide and cold places to favor body heat dissipation during thermoregulation (Li et al., 2021). This may explain the behavior of cows to seek to lie down in the breeze and even more on manure to establish body contact with cold surfaces (moist floor cooled by ventilation) and thus give up body heat by conduction (Angrecka and Herbut, 2017).

### Feeding episodes

A non-significant difference ( $P > 0.05$ ) between cows and heifers corresponds to eating activity. The lowest frequency corresponds to all animals during the hottest hours 14:00 and 18:00 h, when THI was 85 units (Figure 4). Under thermoneutral climatic conditions, primiparous heifers before calving visit feeders more frequently and spend more time eating, although they eat fewer kilograms of feed per day than multiparous cows under the same comfort conditions (Grummer, et al., 2004; Janovick and Drackley 2010; Neave et al., 2017). This study only shows differences in feed intake frequency between hours. The difference in intake frequency between primiparous multiparous wombs

### Episodios de descanso

En animales parados bajo la sombra, las vaquillas tuvieron mayor frecuencia (50.80 y 29.54 %) en los horarios 6:00 ( $P < 0.0057$ ) y 18:00 h ( $P < 0.0510$ ), respectivamente (Figura 3). Sin embargo, esta diferencia se puede atribuir a que, durante los mismos horarios, el mayor porcentaje de vaquillas estuvieron comiendo y bebiendo en áreas provistas con sombra (Figura 4). El porcentaje de vaquillas paradas bajo la sombra mostró una tendencia a ser mayor ( $P < 0.06$ ) que el de vacas (26.86 vs 15.97 %). En el episodio paradas bajo la brisa, la diferencia entre vacas y vaquillas fue no significativa ( $P > 0.05$ ) (Figura 3). En general, tanto las vacas como las vaquillas eligieron permanecer PS y PB con el fin de exponer su masa corporal a la brisa y la ventilación para inducir mayor disipación de calor corporal hacia el medio ambiente; así, los efectos del estrés calórico disminuyeron conforme transcurrieron las horas y se incrementó la temperatura del ambiente (Avendaño-Reyes et al., 2007; Allen et al., 2015; Angrecka y Herbut, 2017). Nordlund et al., (2019) consignaron que el tiempo que los animales permanecen echados disminuye de 9 a 6.2 h·d<sup>-1</sup> al incrementarse el ITH de 68.5 a 79.9 unidades. Neave et al., (2017) señalaron que las vaquillas de primer parto se echan con mayor frecuencia durante el día, sin embargo, las vacas multiparas permanecen en dicha posición durante periodos más largos en condiciones termoneutrales.

El porcentaje de vaquillas echadas bajo la sombra fue mayor ( $P < 0.05$ ) que el de vacas (32.00 vs 19.07 %) a las 6:00 h del día. A las 14:00 horas, el porcentaje de vaquillas echadas bajo la sombra fue mayor ( $P < 0.05$ ) que el de las vacas (24.24 vs 14.46 %). En los horarios restantes, las vacas y las vaquillas expresaron episodios similares ( $P > 0.05$ ). Stone et al. (2017) consignaron que cuando el ITH fue menor a 65 unidades, las vacas multiparas permanecieron echadas más tiempo que las primiparas; sin embargo, cuando el ITH fue mayor a las 65 unidades sucedió lo contrario.

El episodio echadas bajo la brisa fue mayor ( $P < 0.01$ ) en las vacas (en los diferentes horarios, i.e. 6:00, 10:00, 14:00 y 18:00 h) que en las vaquillas. El hecho de que las vaquillas no hayan preferido echarse bajo la brisa puede deberse a dos fenómenos. El primero se asocia a que las vaquillas tienen menos masa corporal que las vacas, la producción de calor metabólico diario fue menor que el producido por las vacas y, por lo tanto, ellas fueron menos afectadas (Kozłowski et al., 2020; Li et al., 2021); el segundo se relaciona a que la brisa estuvo ubicada sobre el área de bebederos y el hacinamiento provocó que las vaquillas se rehusaran a mostrar esta conducta. En este contexto, Damián et al. (2020) observaron que el amontonamiento durante el flujo de bovinos obligó a los animales a presentar conductas diferentes a las expresadas durante un flujo con

in the last 30 days of gestation was non-significant ( $P > 0.05$ ).

When THI reached 68 units, cows decreased their feeding time to seek shade and compensate their feed intake during the night (Andersson, 2009). According to Holter et al. (1997) and Bernabucci et al. (2014), multiparous cows are more affected by heat stress and reduce their dry matter intake to a greater degree than first calving heifers. However, this study omitted to measure dry matter intake; therefore, it is impossible to infer whether heifers ingested more or less feed than cows.

For the ruminating episode, cows had the highest ( $P < 0.0013$ ) frequency with 23.49 % at 6:00 h; differences among the rest of the evaluation schedules are not significant ( $P > 0.05$ ).

However, rumination activity decreased in both cows (8.91 %) and heifers (4.37 %) at 18:00 h (Figure 4).

The percentage of heifers drinking was higher ( $P < 0.0011$ ) than that of cows (18.90 vs 4.25 %) at 18:00 h (Figure 4); while the percentage of heifers drinking at 14:00 h tended to be higher ( $P = 0.0863$ ) than that of cows (10.36 % vs 3.65 %). In the other schedules, the differences were not significant ( $P > 0.05$ ).

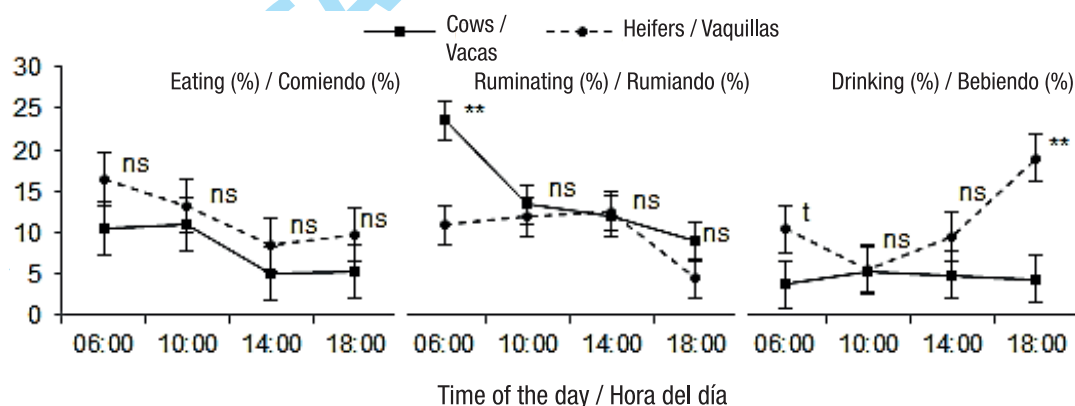
At 18:00 h, 18.90 % of the heifers were drinking when the THI reached 85 units. The intake of fresh water by cows is one of the most effective and quickest ways to reduce their body temperature, so during the summer

mayor confort. En ambientes con temperaturas cálidas extremas como las que predominaron en el ambiente árido de este caso, los animales prefieren acostarse en lugares amplios y fríos para favorecer la disipación de calor corporal durante la termorregulación (Li et al., 2021). Esto puede explicar la conducta de las vacas para buscar echarse bajo la brisa y aún más sobre el estiércol para establecer contacto corporal con superficies frías (piso húmedo enfriado por la ventilación) y de esta manera ceder calor corporal por conducción (Angrecka y Herbut, 2017).

### Episodios de alimentación

A la actividad comiendo corresponde una diferencia no significativa ( $P > 0.05$ ) entre vacas y vaquillas. La frecuencia menor corresponde a todos los animales durante las horas más calurosas 14:00 y 18:00 h, cuando el ITH fue de 85 unidades (Figura 4). En condiciones climáticas termoneutrales, las vaquillas primíparas antes del parto visitan con mayor frecuencia los comederos y pasan mayor tiempo comiendo, aunque comen menos kilogramos de alimento por día que las vacas multíparas en las mismas condiciones de confort (Grummer et al., 2004; Janovick y Drackley 2010; Neave et al., 2017). En el presente estudio, solo se expresaron diferencias de frecuencia de consumo de alimento entre horas. La diferencia de frecuencia de consumo entre vientres multíparas primíparas en los últimos 30 días de gestación fue no significativa ( $P > 0.05$ ).

Cuando el ITH fue de 68 unidades, las vacas disminuyeron su tiempo de alimentación para recurrir a la sombra



**Figure 4. Diurnal variation in drinking, ruminating and eating behaviors of Holstein cows and heifers cooled 30 d before calving. \*\*= Highly significant ( $P < 0.01$ ); ns= Not significant.**

**Figura 4. Variación diurna en las conductas de bebiendo, rumiando y comiendo de vacas y vaquillas Holstein enfriadas 30 d preparto. \*\*= Altamente significativo ( $P < 0.01$ ); ns= No significativo.**



their water consumption increases; also, what is known is that there is a close synchronization between water consumption and feeding session (Silanikove et al., 1997; Arias and Mader 2007; Arias et al., 2008).

### Electrolytes

Constant volume, electrolyte concentration, osmotic pressure and pH of the body fluid are essential references to assess proper cellular functionality. However, some factors such as hot temperatures can compromise the animal's ability to maintain its mineral and homeostatic balances (Horowitz, 2002), as well as the acid-base status (Arias et al., 2008; Nardone et al., 2010). The averages of blood serum electrolytes (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>) from the present study are shown in Table 1. The values are within the established reference ranges for Holstein cows and heifers in dry period (Brscic et al., 2015).

Similar results were reported by Paudel et al. (2018) for the case of Nepalese cows in lactation during the summer season when they were bathed once, twice or three times a day. Barragán-Hernández et al., (2015) found no differences in blood electrolyte levels when comparing different heat stress reduction strategies in cows with Romosinuano (50 %), Holstein (25 %) and Zebu (25 %) crossbreeding. Our results suggest that differences between cows and heifers are not significant in terms of imminent blood electrolyte losses without symptoms of dehydration or homeostatic imbalance under the confinement conditions of the case; although all animals had values within the reference ranges for the species (Collier and Zimbelman, 2007).

y compensa su ingesta de alimento durante la noche (Andersson, 2009). De Acuerdo con Holter et al. (1997) y Bernabucci et al. (2014), las vacas multíparas son más afectadas por el estrés calórico y reducen su consumo de materia seca en mayor grado que las vaquillas de primer parto. Sin embargo, en este estudio se omitió medir el consumo de materia seca, por lo tanto, si las vaquillas ingirieron mayor o menor cantidad de alimento que las vacas es imposible de inferirse.

Para el episodio rumiando, las vacas presentaron la mayor ( $P < 0.0013$ ) frecuencia con 23.49 % a las 6:00 h; las diferencias entre el resto de los horarios de evaluación son no significativas ( $P > 0.05$ ). Sin embargo, la actividad de rumia disminuyó tanto en vacas (8.91 %) como en vaquillas (4.37 %) a las 18:00 h (Figura 4).

El porcentaje de vaquillas bebiendo fue mayor ( $P < 0.0011$ ) que el de vacas (18.90 vs 4.25 %) a las 18:00 h (Figura 4); mientras que el porcentaje de vaquillas bebiendo a las 14:00 horas tiende a ser mayor ( $P = 0.0863$ ) que el de vacas (10.36 % vs 3.65 %). En los otros horarios, las diferencias fueron no significativas ( $P > 0.05$ ).

A las 18:00 h, el 18.90 % de las vaquillas estuvieron bebiendo cuando el ITH fue de 85 unidades. La ingesta de agua fresca realizada por las vacas es una de las vías más efectivas y rápidas que realizan para reducir su temperatura corporal, entonces durante el verano su consumo aumenta; también, lo que se sabe es que existe una estrecha sincronización entre el consumo de agua y las sesiones de alimentación (Silanikove et al., 1997; Arias y Mader, 2007; Arias et al., 2008).

**Table 1. Blood electrolytes of Holstein cows and heifers cooled 30 d before calving.**

**Cuadro 1. Electrolitos sanguíneos de vacas y vaquillas Holstein enfriadas 30 d preparto.**

Electrolytes / Electrolitos	Cows / Vacas	Heifers / Vaquillas	S. E. / E. E.	*P value / *Valor de P
Sodium mmol·L <sup>-1</sup> / Sodio mmol·L <sup>-1</sup>	134.47	139.4	3.80	0.40
Potassium mmol·L <sup>-1</sup> / Potasio mmol·L <sup>-1</sup>	4.82	4.94	0.31	0.81
Chlorine mmol·L <sup>-1</sup> / Cloro mmol·L <sup>-1</sup>	117.13	122.3	2.70	0.22

\*Line means were not different between cows and heifers  $P > 0.05$ ; S.E. = Standard Error.

\*Promedios en fila no fueron diferentes entre vacas y vaquillas  $P > 0.05$ ; E.E.= Error Estándar.

## Conclusions

Some behavioral differences between cows and heifers 30 days before calving were observed. In the mornings, heifers preferred to stand in the shade feeding, while multiparous cows preferred to lie in the breeze and ruminate. Electrolyte concentrations in blood serum of cows and heifers remained constant and within reference limits; this indicates that losses were not significant in both groups of animals. Under confinement conditions in which the animals were found during the study, Holstein cows and heifers expressed very similar episodes in most of the evaluated behaviors.

## Acknowledgments

The authors would like to thank L.A.E. José Luis Nevárez Bórquez, owner of the dairy herd for providing his cows, infrastructure and support for this research. Also, special thanks to the Cuerpo Académico Fisiología y Genética Animal del ICA-UABC for their general support to carry out this study.

End of English version

## References / Referencias

- Allen, J. D., Hall, L. W., Collier, R. J., y Smith, J. F. (2015). Effect of core body temperature, time of day, and climate conditions on behavioral patterns of lactating dairy cows experiencing mild to moderate heat stress. *J. Dairy Sci.*, 98: 118-127. DOI: 10.3168/jds.2013-7704.
- Andersson, M. (2009). The importance of shade for dairy cattle in Sweden. *Second cycle, A2E. Uppsala: SLU, Dept. Animal Nutrition and Management*, 1-39. In line: <http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:slu:epsilon-6-72>.
- Angrecka, S., y Herbut, P. (2017). Eligibility of lying boxes at different THI levels in a freestall barn. *Ann. Anim. Sci.*, 7 (1) 257-269. DOI:10.1515/aoas-2016-0053.
- Anzures-Olvera, F.; Macías-Cruz, U.; Álvarez-Valenzuela, F. D.; Correa-Calderón, A.; Díaz-Molina, R.; Hernández-Rivera, J. A., y Avendaño-Reyes, L. (2015). Efecto de época del año (verano vs invierno) en variables fisiológicas, producción de leche y capacidad antioxidante de vacas Holstein en una zona árida del noroeste de México. *Arch. Med. Vet.*, 47:15-20. DOI:10.4067/S0301-732X2015000100004.
- Arias, R. A., y Mader, T. L. (2007). Environmental factors affecting daily water intake on cattle finished in feedlot. *Master Thesis, University of Nebraska-Lincoln, Nebraska, USA*, 47-49. In line: <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://www.google.com/&httpsredir=1&article=1070&context=animalscinbcr>.

## Electrolitos

Las variables volumen constante, concentración de electrolitos, presión osmótica y pH del líquido del organismo son de referencia esencial para valorar la funcionalidad celular adecuada. No obstante, algunos factores como las temperaturas calientes pueden comprometer la capacidad del animal para mantener sus equilibrios mineral y homeostático (Horowitz, 2002), así como el estatus ácido-básico (Arias et al., 2008; Nardone et al., 2010). Los promedios de electrolitos en suero sanguíneo (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>) del presente estudio se presentan en el Cuadro 1. Los valores se ubican dentro de los rangos de referencia establecidos para vacas y vaquillas Holstein en periodo seco (Brscic et al., 2015).

Resultados similares fueron consignados por Paudel et al. (2018) para el caso de vacas Nepal en lactancia durante la época de verano cuando se les aplicó baño una, dos o tres veces al día. Por su parte, Barragán-Hernández et al., (2015) no encontraron diferencias en niveles de electrolitos sanguíneos al comparar estrategias distintas de reducción de estrés calórico en vacas con cruce Romosinuano (50%), Holstein (25%) y Cebú (25%). Nuestros resultados sugieren que las diferencias entre vacas y vaquillas son no significativas en cuanto a las pérdidas inminentes de electrolitos sanguíneos sin síntomas de deshidratación o desequilibrio homeostático en las condiciones de confinamiento del caso; aunque todos los animales presentaron valores dentro de los rangos de referencia para la especie (Collier y Zimbelman, 2007).

## Conclusiones

Algunas diferencias de conductas entre vacas y vaquillas a los 30 días preparto fueron observadas. En las mañanas, las vaquillas prefirieron permanecer de pie bajo la sombra alimentándose, mientras que las vacas multíparas prefirieron echarse bajo la brisa y rumiar. La concentración de electrolitos en suero sanguíneo de vacas y vaquillas se mantuvieron constantes y dentro de los límites de referencia; ello indica que las pérdidas fueron no importantes en ambos grupos de animales. En las condiciones de confinamiento en que se encontraron los animales durante el estudio, las vacas y vaquillas Holstein expresaron episodios muy similares en la mayoría de las conductas evaluadas.

## Agradecimientos

Los autores agradecen al L.A.E. José Luis Nevárez Bórquez, propietario del hato lechero por facilitar sus vacas, infraestructura y apoyar en esta investigación. Asimismo, un agradecimiento especial al Cuerpo Académico Fisiología y Genética Animal del ICA-UABC por su apoyo general para realizar el presente estudio.

Fin de la versión en español

- Arias, R. A.; Mader, T. L., y Escobar, P. C. (2008). Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. *Arch. Med. Vet.*, 40, 7-22. DOI:10.4067/S0301-732X2008000100002.
- Armstrong, D. V. (1994). Heat Stress Interaction With Shade and Cooling. *J. Dairy Sci.*, 77 (7): 2044-2205. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(94)77149-6.
- Avendaño-Reyes, L.; Álvarez, V. F. D.; Correa, C. A.; Saucedo, Q. J. S.; Rivera, A. F.; Verdugo, Z. F. J.; Aréchiga, F. C. F., y Robinson, P. H. (2007). Evaluación de un sistema de enfriamiento aplicado en el periodo seco de ganado lechero durante el verano. *Tec. Pec. Méx.*, 45(2): 209-225.
- Barragán-Hernández, W. A.; Mahecha-Ledesma, L., y Cajas-Girón, Y. S. (2015). Variables fisiológicas-metabólicas de estrés calórico en vacas bajo silvopastoreo y pradera sin árboles. *Agronomía Mesoamericana* 26: 211-223.
- Baumgard, L. H., y Rhoads, Jr. R. P. (2013). Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, 1 (7):1-27. DOI:10.1146/annurev-animal-031412-103644.
- Bernabucci, U.; Biffani, S.; Buggiotti, L.; Vitali, A.; Lacetera, N., y Nardone, A. (2014). The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 97: 471-486. DOI: 10.3168/jds.2013-6611.
- Brscic, M.; Cozzi, G.; Lora, I.; Stefani, A. L.; Contiero, B.; Ravarotto, L., y Gottardo, F. (2015). Short communication: Reference limits for blood analytes in Holstein late-pregnant heifers and dry cows: Effects of parity, days relative to calving, and season. *J. Dairy Sci.*, 98: 7886-7892. DOI: 10.3168/jds.2015-9345.
- Collier, R. J., y Zimelman R. B. (2007). Heat stress effects on cattle: what we know and what we don't know. In: Proc. of the Southwest Nutrition and Management Conference, The University of Arizona, Tucson, February 23rd. [https://cals.arizona.edu/extension/dairy/az\\_nm\\_newsletter/2007/june.pdf](https://cals.arizona.edu/extension/dairy/az_nm_newsletter/2007/june.pdf) (consultado, 06 octubre de 2020).
- Collier, R. J.; Beede, D. K.; Thatcher, W. W.; Israel, L. A., y Wilcox, C. J. (1982). Influences of environment and its modification on dairy animal health and production. *J. Dairy Sci.* 65: 2213-2227. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82484-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82484-3)
- Damián, M. A.; Aguirre, V.; Orihuela A.; Pedernera, M.; Rojas, S., y Olivares, J. (2020). Tiempo de manejo y algunas conductas relacionadas con el estrés al manejar grupos grandes o reducidos de ganado en mangas rectas. *Rev. Mex. Cienc. Pec.*, 11:3: 905-913. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.5127>
- Do Amaral, B. C.; Connor, E. E., Tao, S.; Hayen, M. J.; Bubolz, J. W., y Dahl, G. E. (2011). Heat stress abatement during the dry period influences metabolic gene expression and improves immune status in the transition period of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 94 :86-96. DOI:10.3168/jds.2009-3004.
- Do Amaral, B. C.; Connor, E. E.; Tao, S.; Hayen, J.; Bubolz, J., y Dahl, G. E. (2009). Heat-stress abatement during the dry period: Does cooling improve transition into lactation? *J. Dairy Sci.*, 92: 5988-5999. DOI: org/10.3168/jds.2009-2343.
- García, E. (2004). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 5° Edición México, D. F. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Grummer, R. R.; Mashek, D. G., y Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Vet Clin. North. Am. Food Anim.*, 20: 447-470. DOI: 10.1016/j.cvfa.2004.06.0
- Hahn, G. L. (1999). Dynamic responses of cattle to thermal heat loads. *Journal of animal science*. American society of animal science. *J. Anim. Sci.* 77:10-20. Doi:10.2527/1997.77suppl\_210x.
- Herbut, P., y Angrecka, S. (2018). Relationship between THI level and dairy cows behaviour during summer period. *Italian J. Anim. Sci.*, 17 (1): 226-233. DOI: 10.1080/1828051X.2017.1333892.
- Hill, W. R.; Wyse, A. G., y Anderson, M. (2006). Relaciones térmicas. Fisiología animal. Madrid. Editorial Médica Panamericana, 221-280.
- Holter, J. B.; West, J. W., y McGilliard, M. L. (1997). Predicting ad libitum dry matter intake and yield of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 80(9): 2188-2199. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(97)76167-8.
- Horowitz, M. (2002). From molecular and cellular to integrative heat defence during exposure to chronic heat. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 131, 475-483.
- Janovick, N. A., y Drackley, J. K. (2010). Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 93: 3086-3102. DOI: 10.3168/jds.2009-265.
- Karimi, M. T.; Ghorbani, G. R.; Kargar, S., y Drackley, J. K. (2015). Late-gestation heat stress abatement on performance and behavior of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* , 98 (10): 6865-6875. DOI: 10.3168/jds.2014-9281.
- Kozłowski, J.; Konarzewski, M., y Czarnoleski, M. (2020). Coevolution of body size and metabolic rate in vertebrates: a life-history perspective. *Biol. Rev.*, 95: 1393-1417. doi: 10.1111/brv.12615
- Li, J.; Narayanan, V.; Kebreab, E.; Dikmen, S., y Fadel, J. G. (2021). A mechanistic thermal balance model of dairy cattle. *Biosystems Engineering*, 209: 256-270. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2021.06.009>
- Nardone, A.; Ronchi, B.; Lacetera, N.; Ranieri, M. S., y Bernabucci, U. (2010). Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Livest. Sci.*, 130: 57-69. DOI:10.1016/j.livsci.2010.02.011.
- Neave, H. W.; Lomb, J.; von Keyserlingk, M. A.G.; Behnam-Shabahang, A., y Weary, D. M. (2017). Parity differences in the behavior of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 100: 548-561. DOI: 10.3168/jds.2016-10987.

- Nordlund, K. V.; Strassburg, P.; Bennett, T. B.; Oetzel, G. R., y Cook, N. B. (2019). Thermodynamics of standing and lying behavior in lactating dairy cows in freestall and parlor holding pens during conditions of heat stress. *J. Dairy Sci.*, 102. DOI 10.3168/jds.2018-15891.
- Paudel, T. P.; Acharya, B. R.; Karki, D. B., y Shrestha, B. S. (2018). Effect of heat stress on crossbred dairy cattle in tropical Nepal: Impact on blood parameters. *J. Agriculture and Natural Resources*, 1(1): 223-230. DOI:10.3126/janr.v1i1.22237.
- Polsky, L., y Von Keyserlingk, M. A.G. (2017). Invited review: Effects of heat stress on dairy cattle welfare. *J. Dairy Sci.*, 100: 8645-8657. DOI:10.3168/jds.2017-12651.
- Robinson, N. E. (2014). Sección IX: Homeostasis. Fisiología Veterinaria 5ª Edición. Cunningham, J. G y Klein, B. G. Barcelona. Editorial Elsevier. 2014., 559-568.
- SAS (2004). SAS/STAT. User's guide statistics released 9.1, 2nd Ed. SAS Institute. Inc. Cary, NC, USA. 5136 p.
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). (2010). Normales Climatológicas por Estado. *Información climatológica. Servicio Meteorológico Nacional (SMN) Mexicali*, En línea: <https://smn.conagua.gob.mx/tools/RECURSOS/Normales5110/NORMAL02034.TXT>.
- Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livest. Prod. Sci.*, 67: 1-18. DOI: 10.1016/S0301-6226(00)00162-7.
- Silanikove, N.; Maltz, E.; Halevi, A., y Shinder, D. (1997). Metabolism of water, sodium, potassium, and chlorine by high yielding dairy cows at the onset of lactation. *J. Dairy Sci.*, 80: 949-956. DOI:10.3168/jds.S0022-0302(97)76019-3.
- Stone, A. E., Jones, B. W., Becker, C. A., y Bewley, J. M. (2017). Influence of breed, milk yield, and temperature-humidity index on dairy cow lying time, neck activity, reticulorumen temperature, and rumination behavior. *J. Dairy Sci.*, 100 (3): 2395-2403. DOI: 10.3168/jds.2016-11607.
- Tao, S., y Dahl, G. E. (2013). Invited review: Heat stress impacts during the dry period on dry cows and their calves. *J. Dairy Sci.*, 96: 4079-4093. DOI: 10.3168/jds.2012-6278.
- Tao, S.; Dahl, G. E.; Laporta, J.; Bernard, J. K.; Orellana, R. R.M., y Marins, T. N. (2019). PHYSIOLOGY SYMPOSIUM: Effects of heat stress during late gestation on the dam and its calf. *J. Anim. Sci.*, 97(5): 2245-2257. DOI: 10.1093/jas/skz061.
- Thompson, I. M.; Tao, S.; Monteiro, A. P.; Jeong, K. C., y Dahl, G. E. (2014). Effect of cooling during the dry period on immune response after *Streptococcus uberis* intramammary infection challenge of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 97 (12): 7426-7436. DOI: 10.3168/jds.2013-7621.
- West, J. C. (2003). Effects of heat stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 86: 2131-2144.