



Dirección de Investigación
Subdirección de Programación y Evaluación



Proyecto de Investigación 2018

Formulario de registro de proyecto de investigación con campos para Unidad, Tema, Línea de investigación, Título, Presupuesto, Tipo de investigación, Vinculación, Cooperante(s), Entidad(es), Localidades, Participantes, Tesista, y firmas de autorización.

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

1.-Título del proyecto

Presupuesto solicitado:

Efecto del estrés por calor en el útero sobre la eficiencia reproductiva y producción de leche de vaquillas Holstein	\$75,000.00
--	-------------

2.- Introducción

Un factor ambiental bien reconocido que limita la producción del ganado lechero es la elevada temperatura. En las vacas lactantes el estrés térmico está relacionado con la disminución de la ingesta, alteración del metabolismo, reducción de la producción de leche, aumento de la incidencia de enfermedades y rendimiento reproductivo (Tao *et al.*, 2013).

El estrés térmico puede definirse como una condición que ocurre cuando un animal no puede disipar una cantidad de calor, si se produce o se absorbe por el cuerpo, para mantener el equilibrio térmico. Éste puede provocar respuestas fisiológicas y de comportamiento, conduciendo a trastornos fisiológicos que afectan negativamente el rendimiento productivo y reproductivo de los animales (Bernabucci *et al.*, 2014). Sin embargo, Guo *et al.* (2016) menciona que el estrés por calor que sufre la vaca durante el período seco afecta también a los fetos en desarrollo en la parte final de la gestación.

Tao *et al.* (2012) observaron que los becerros nacidos de vacas secas que sufrieron estrés calórico tenían una menor concentración plasmática de cortisol inmediatamente después del nacimiento, comparado con los terneros nacidos de vacas en condiciones climáticas frías, lo que indica que el estrés térmico materno altera el desarrollo del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal del feto; así también, Monteiro *et al.* (2013) informaron que el estrés térmico materno durante el período seco (final de la gestación) redujo la producción de leche de la cría durante la primera lactancia.

Considerando que La Comarca Lagunera cuenta con un clima extremadamente cálido durante la mayor parte del año y se sigue consolidando como la primer cuenca lechera a nivel nacional con una producción diaria de casi 9 millones de litros de leche (SAGARPA, 2015) es importante determinar el efecto que tiene el estrés por calor en útero sobre la reproducción y la producción de leche en las vaquillas que padecieron estrés térmico en el útero en su última etapa de desarrollo.

Objetivos

1. Determinar el efecto del estrés por calor en el último tercio de la gestación sobre el desempeño reproductivo de vaquillas Holstein.
2. Determinar el efecto del estrés por calor en el útero sobre el comportamiento en la producción de leche de vaquillas Holstein.
3. Determinar el efecto del estrés por calor en el útero sobre la ocurrencia de algunas enfermedades derivadas del parto.

Determinar el impacto del estrés por calor al final de la gestación sobre la tasa de eliminación de vaquillas durante la primera lactancia.

Hipótesis

Las vaquillas Holstein que sufren estrés por calor en útero durante el último tercio de la gestación, presentan una eficiencia reproductiva disminuida y producción de leche menor en su primera lactancia, en comparación con vaquillas Holstein que no experimentaron estrés por calor en útero al final de la gestación.

3.-Revisión de Literatura

Un factor ambiental bien reconocido que limita la producción del ganado lechero es la elevada temperatura ambiental. Está bien descrito en las vacas lactantes que el estrés térmico está relacionado con la disminución de la ingesta, alteración del metabolismo, compromiso de la lactancia, aumento de la incidencia de enfermedades y rendimiento reproductivo (Tao *et al.*, 2013).

El estrés térmico puede definirse simplemente como una condición que ocurre cuando un animal no puede disipar una cantidad de calor, si se produce o se absorbe por el cuerpo, para mantener el equilibrio térmico. Éste puede provocar respuestas fisiológicas y de comportamiento, conduciendo a trastornos fisiológicos que afectan

negativamente el rendimiento productivo y reproductivo de los animales (Bernabucci et al., 2014). Las vacas lactantes que experimentan estrés por calor habrán reducido el consumo de materia seca y el rendimiento de la leche y cambiarán el metabolismo, lo que en última instancia reducirá la eficiencia de la producción de leche (Dahl et al., 2016).

Guo et al. (2016) menciona que el estrés por calor que sufre la vaca durante el período seco afecta también a las crías. Tao et al. (2012) observaron que los terneros nacidos de vacas secas que sufrieron estrés calórico tenían una menor concentración plasmática de cortisol inmediatamente después del nacimiento comparado con los terneros nacidos de vacas en condiciones climáticas frías, lo que indica que el estrés térmico materno altera el desarrollo del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal del feto; así también Monteiro et al. (2013) informaron que el estrés térmico materno durante el período seco redujo la producción de leche de la cría durante la primera lactancia.

El objetivo de un estudio Ahmed et al. (2017) fue evaluar si los terneros que experimentan estrés por calor en el útero tienen respuestas termorreguladoras alteradas cuando son expuestos al estrés por calor agudo más adelante en la vida. Las becerras nacieron de madres expuestas al estrés por calor o de vacas que se enfriaron durante la última etapa de la gestación. Se utilizaron doce vacas Holstein lactantes que estuvieron expuestas al estrés térmico in útero (ET) y 12 que no estuvieron expuestas al estrés térmico in útero (CON).

Se realizó un desafío de estrés calórico en 3 bloques utilizando 4 vacas ET y 4 vacas emparejadas de acuerdo con la producción de leche, la etapa de lactancia y el número de parto. Cada desafío consistió en la transferencia de un establo con sombra y enfriamiento por evaporación a otro con sombra pero sin enfriamiento adicional durante 48 horas. El desafío se repitió dos veces para cada bloque. La tasa de sudoración, la tasa de respiración, la temperatura rectal (TR) y la temperatura de la piel se midieron en cada vaca. La temperatura ambiente media durante 6 días de prueba fue de $26.15 \pm 4.75^\circ \text{C}$. Se observaron tendencias de diferencias a las 1700 h entre tratamientos para TR (ET: 39.5 ± 0.1 ; CON: $39.6 \pm 0.1^\circ \text{C}$), sin embargo, no hubo diferencia en la tasa de respiración (ET: 77.6 ± 1.6 ; CON: 79.5 ± 1.6 bpm). La tasa de sudoración para la piel afeitada (ET: 29.4 ± 2.0 ; CON: 36.0 ± 2.0 g / m²h) y para la piel no afeitada (ET: 22.5 ± 1.5 ; CON: 29.2 ± 1.2 g / m²h) difirió entre los grupos. Sin embargo, no hubo efecto sobre la temperatura de la piel en la ubicación afeitada (ET: 36.2 ± 0.2 ; CON: $36.0 \pm 0.2^\circ \text{C}$; $P = 0.81$), pero hubo una tendencia a diferir para el área no afeitada (ET: 35.4 ± 0.2 ; CON: $34.9 \pm 0.2^\circ \text{C}$). Las vacas que sufrieron estrés por calor en el útero tuvieron una mayor temperatura de la piel a las 1700 h comparadas con las vacas sin estrés intrauterino, lo que puede deberse a que las vacas ET aumentaron la perfusión de la piel y, por consiguiente, tuvieron un mayor enfriamiento por conducción. Las vacas HT en el útero tuvieron una mayor pérdida de calor y una temperatura corporal central reducida, lo que da como resultado una temperatura rectal más baja y una tasa de sudoración más baja cuando se exponen al estrés por calor. Estos resultados indican que el estrés calórico en el útero a fines de la gestación aumenta la tolerancia al calor en la madurez al aumentar la capacidad de disipar el calor para mantener la temperatura corporal central.

El objetivo de un estudio de Monteiro et al. (2016) fue evaluar el efecto del estrés por calor (EC) o enfriamiento (E) en vacas lecheras al final de la gestación sobre la supervivencia, el crecimiento, la fertilidad y la producción de leche en la primera lactancia de sus terneros. Los datos de los animales obtenidos provenían de experimentos previos realizados durante 5 veranos consecutivos en Florida. Las vacas se secaron 46 d antes del parto y se asignaron aleatoriamente a 1 de 2 tratamientos, EC o E. Las vacas con acceso a un ambiente sin estrés se alojaron con aspersores, ventiladores y sombra, mientras que solo se proporcionó sombra a las vacas EC. Dentro de las 4 h del nacimiento, se alimentaron 3.8 L de calostro a los terneros de ambos grupos de vacas. Todos los terneros fueron manejados de la misma manera y fueron destetados a los 49 d de edad. Se analizaron el peso al nacer y la supervivencia de 146 terneros (EC = 74; E = 72). Además, se analizaron el peso corporal, la tasa de crecimiento, la fertilidad y la producción de leche en la primera lactación de 72 vaquillas (EC = 34; E = 38). Como era de esperarse, los terneros EC fueron más livianos (medias \pm SEM: 39.1 ± 0.7 vs. 44.8 ± 0.7 kg) al nacer que los terneros E. Las novillas enfriadas tenían un aumento de peso total similar (medias \pm SEM: 305.8 ± 6.3 vs. 299.1 ± 6.3 kg, respectivamente) en comparación con las novillas EC.

No se observó efecto del tratamiento en la edad a la primera inseminación (IA) y la edad en el primer parto. En comparación con las novillas E, las vaquillas EC tuvieron un mayor número de servicios por preñez confirmada a los 30 d después de la IA, pero no se observó ningún efecto del tratamiento sobre el número de servicios por preñez confirmados a los 50 d después de la IA. Un mayor porcentaje de vaquillas E alcanzaron la primera lactancia en comparación con vaquillas EC (85.4 vs. 65.9%). Además, las novillas EC produjeron menos leche hasta 35 semanas de la primera lactancia en comparación con vaquillas E (medias \pm SEM: 26.8 ± 1.7 vs. 31.9 ± 1.7 kg / d), y no se observaron diferencias en el peso corporal durante la lactancia (medias \pm SEM; EC: 568.4 ± 14.3 kg; E: 566.5 ± 14.3 kg). Estos investigadores concluyeron que el estrés por calor durante las últimas 6 semanas de gestación induce un fenotipo que afecta negativamente la supervivencia y la producción de leche hasta la primera lactación de la descendencia.

El estrés por calor también puede afectar el estado inmune del feto en desarrollo, con efectos significativos aún después del nacimiento. Los becerros nacidos de vacas estresadas durante el último periodo de gestación son más livianos al nacimiento y típicamente nacen 4 a 5 días antes que aquellos provenientes de vacas sin estrés por calor (Tao et al., 2012). El estrés por calor en el útero reduce las concentraciones de inmunoglobulina circulante de terneros durante el primer mes de vida, que está negativamente asociado con la salud y la supervivencia (Tao et al., 2012). Una serie de estudios indican que la reducción observada en las concentraciones sanguíneas de IgG es el resultado de una absorción más pobre de IgG del calostro, independientemente de la fuente y la calidad de éste (Monteiro et al., 2014).

Por lo tanto, parece que el estrés térmico en el útero altera la capacidad del ternero de absorber IgG. Un trabajo reciente respalda el concepto de que el cierre del intestino es acelerado en terneros estresados por calor, de modo que la absorción de IgG se reduce (Ahmed et al, 2015). A medida que el ternero madura, el estrés térmico en el útero se asocia con un mayor número de animales que son eliminados del hato antes de completar la primera lactancia en comparación con las terneras de las vacas enfriadas durante el periodo seco, lo cual es consistente con un estado inmune más pobre en la vida temprana que compromete la salud posterior del animal (Monteiro et al., 2016).

En un estudio de Laporta et al. (2017), se evaluó la salud, el crecimiento y los patrones de actividad de los terneros nacidos de vacas expuestas al estrés por calor (EC, provisto solo de sombra, n = 31) o sin estrés (SE, ventiladores, remojos y sombra, n = 29) durante la última parte de la gestación (~46 d, periodo seco materno). El peso corporal de los terneros, la temperatura rectal, el reflejo de succión y los valores de movimiento se registraron al nacer, y los terneros fueron alimentados con 6,6 l de calostro materno en 2 comidas. Se tomaron muestras de sangre al nacer (antes de la alimentación), 24 h después del nacimiento, y a los 10 y 28 años de edad. Los terneros se alojaron en corrales individuales, se les alimentó con leche pasteurizada (6 L / d) y tuvieron acceso ad libitum al grano y al agua hasta el destete (49 d).

La actividad se evaluó durante la primera semana de vida (semana 1), al destete (semana 7) y en la primera semana después del destete (semana 8). La salud y el peso corporal se registraron semanalmente. Al nacer, los terneros nacidos de vacas no estresadas eran más pesados (41.9 vs. 39.1 ± 0.8 kg), su temperatura rectal era más baja (38.9 vs. 39.3 ± 0.08 ° C), y eran más eficientes en la absorción de IgG que los terneros EC. El reflejo de la lactancia y el puntaje de movimiento al nacer no fueron diferentes entre los grupos, pero los terneros nacidos de vacas SE pasaron más tiempo (50 min / d) de pie en la primera semana de vida como resultado de los ataques de pie más largos. En la semana 7 y 8, los becerros nacidos de vacas SE tuvieron periodos de estar paradas menos frecuentes que las vaquillas EC, pero las vaquillas SE mantuvieron un mayor tiempo de permanencia paradas diaria total (36 min / d). Todos los terneros estuvieron sanos, pero las novillas EC tendieron a tener valores fecales más altos (heces más líquidas) el día 10. Las vaquillas nacidas de vacas SE ganaron 0.2 kg / d más desde el nacimiento hasta el destete, pesaron 4 kg más al destete y tuvieron mayores concentraciones de IGF -1 que los terneros EC, particularmente el día 28 de vida. Estos autores concluyeron que el estrés por calor en el útero durante la última parte de la gestación tuvo efectos inmediatos y prolongados en la inmunidad pasiva, el crecimiento y los patrones de actividad en los terneros lecheros.

El objetivo de un estudio de Tao et al. (2014) fue examinar los efectos del estrés térmico materno durante el periodo seco en la respuesta a la insulina terneros después del destete. Los terneros (10 / tratamiento) nacieron de vacas expuestas al estrés por calor (EC) o al enfriamiento (CL) cuando estaban secas. Los becerros se separaron inmediatamente de sus madres y se alimentaron con 3.8 L de calostro de alta calidad en 1 h después del nacimiento y luego 1.9 L 12 h más tarde. Todos los terneros fueron alimentados con 1.9 a 3.8 L de leche pasteurizada por la mañana y por la tarde de 2 a 42 d de edad y luego solo por la mañana hasta el destete a los 49 d. El alimento para el becerro y el agua se ofrecieron ad libitum a partir de los 2 días de edad. Todos los terneros fueron manejados de la misma manera a lo largo del estudio.

Todos los terneros fueron sometidos a una prueba de tolerancia a la glucosa (TG) y una prueba de insulina (IC) a los 55 d de edad. Los terneros estresados por calor en el útero nacieron más ligeros (40 ± 1.4 vs. 45 ± 1.4 kg) en comparación con los terneros CL. Ambos grupos de terneros tuvieron pesos al destete similares (EC: 68 ± 3,2 kg, CL: 71 ± 3,3 kg) y ganancia de peso corporal desde el nacimiento hasta el destete (EC: 28 ± 2,2 kg, CL: 26 ± 2,3 kg). En comparación con aquellos que no presentaron estrés térmico en el útero. Los terneros EC tuvieron una respuesta a la insulina similar a la TG y el desvanecimiento de insulina durante la IC, pero un desvanecimiento de glucosa más rápido durante TG e IC. Estos autores concluyeron que además de la disminución del crecimiento fetal, el estrés térmico materno durante el periodo seco aumenta la respuesta de insulina en todo el cuerpo de los terneros después del destete, lo que sugiere la posibilidad de una acelerada lipogénesis y deposición de grasa en los primeros años de vida del animal.

4.- Procedimiento Experimental

Este estudio se llevará a cabo en el establo lechero "El lucero" ubicado en la carretera Matamoros-La Cuchilla Km 2 S/N con unas coordenadas 25°30' Norte, 103°11' Oeste. La altura es de 1,110 m sobre el nivel del mar y el promedio de la temperatura media anual es de 23.4°C. La precipitación pluvial anual es de 230 mm. Las temperaturas máximas pueden alcanzar los 42° C en verano y la temperatura mínima pueden ser de -3° C en invierno. Se presenta una humedad relativa promedio de 58%, con una máxima de 83% y una mínima de 29%.

Este estudio seguirá un diseño observacional prospectivo. Se utilizarán un total de 1,500 registros de partos de vacas primerizas a término entre enero de 2018 a junio de 2019. El personal de la granja registrará cada evento de parto, ocurrencia de enfermedades relacionadas con el parto, aspectos reproductivos y producción de leche en un formulario utilizado en esta operación lechera. Los datos se transfieren al software AfiFarm (SAE, Hazafa m, Afikim, Israel).

La información registrada incluirá fecha de parto, fecha al primer servicio, días en leche, número de servicios por preñez, temperatura y humedad al día del nacimiento, temperatura y humedad 30 y 60 días antes de la fecha de parto, edad al parto, fecha de parto, tipo de parto, ocurrencia de cetosis (β -hidroxibutirato >1.4 mmol/L en sangre), metritis, retención de placenta, producción de leche al pico de lactancia, leche a 305 días, total de producción de leche, total de días en lactancia, eliminación de la vaquilla del hato y causa de la eliminación.

La fecha de parto se utilizará para asignar la estación de parto. Las estaciones serán categorizadas como invierno (diciembre a febrero), primavera (marzo a mayo), verano (junio a agosto) y otoño (septiembre a noviembre).

Los datos climáticos se obtendrán de una estación meteorológica ubicada a 2.5 km al norte del establo lechero durante la duración del estudio; por lo tanto, estos datos reflejan con precisión las condiciones meteorológicas en la granja lechera. La información consistirá en temperaturas máximas diarias en °C y humedad relativa máxima. Esta información se utilizará para calcular el índice de temperatura-humedad diario (THI) utilizando la siguiente ecuación (Mader et al., 2006):

$THI = (0,8 \times Temperatura) + (\% HR / 100) \times (Temperatura - 14,4) + 46,4$. Esta fórmula utiliza la temperatura máxima del aire (°C) y la humedad relativa (HR). La HR se divide por 100 para expresar el porcentaje en decimales.

Se utilizará un modelo de regresión logística multivariante (PROC LOGISTIC) de la SAS (SAS Institute, Cary, NC), aplicando un procedimiento "stepwise" para eliminar aquellas variables incluidas en el modelo que no resulten significativas ($P < 0.05$). El modelo completo preliminar incluirá las siguientes variables potencialmente explicativas de interés: THI al parto y en los 7° y 8° meses de gestación, estación de parto, tipo de parto (no asistido o asistido). Se seleccionará el punto de corte superior a las 83 unidades para THI porque a este valor las vacas Holstein experimentan estrés severo por calor. Este índice de THI corresponde a 40 ° C a 20% de humedad, 36 ° C a 38% de humedad, o 32 ° C a 65% de humedad.

La tasa de concepción a primer servicio. La tasa de abortos y la tasa de preñez incluyendo todos los servicios (sólo vacas gestantes) serán analizadas con el procedimiento GENMOD de SAS, incluyendo en el modelo el año como covariable. Los servicios por concepción serán analizados por el procedimiento NONPAR1WAY (prueba no paramétrica de Wilcoxon) de SAS. La sobrevivencia de las vaquillas en el hato y su tiempo de eliminación será analizada con una prueba de sobrevivencia (procedimiento LIFETEST de SAS). La asociación entre THI pre-nacimiento y la ocurrencia de enfermedades derivadas del parto será analizada con el procedimiento PROC LOGISTIC de SAS, con lo cual se obtendrán índices de riesgo (odds ratio) y sus coeficientes de confianza a 95%. Se utilizarán modelos no lineales para determinar los modelos matemáticos que mejor describan la asociación entre THI durante la gestación y la edad de las vaquillas a la primera inseminación y al primer parto (programa CurveExpert). También se determinarán los modelos matemáticos que mejor describan la asociación entre THI y servicios por concepción a primer servicio, y tasas de gestación al primer servicio. Regresiones no lineales se llevarán a cabo para modelar la asociación entre el largo de la lactancia y la producción de leche de las vaquillas (proc NONLIN de SAS). La prevalencia de enfermedades asociadas con el parto se determinará con el procedimiento Proc Freq/binomial de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Los intervalos de confianza para las frecuencias se determinarán con el procedimiento UNIVARIATE de SAS.

Cronograma de Actividades para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Selección de las vacas para el estudio	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Colección de sangre de vacas recién paridas		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Detección de la gestación		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Registro de la producción de leche			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Registro de condiciones climáticas			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Registro de variables reproductivas				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Ordenación de los datos reproductivos y productivos												X	X
Análisis estadísticos												X	
Preparación de manuscrito para I.J. Biometerology													X

Cronograma de distribución de presupuesto para el 2018.

Actividad por realizar	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Combustible visita al establo		2500	2500	2500	2500	2500		3000	3000	3000	3000	
Pago laborat (análisis hormonas)		42500										
Viáticos			1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000		

Duración total del proyecto

Año de Inicio	2018	Año estimado de conclusión	2019
---------------	------	----------------------------	------

5.-Productos Esperados

Una tesis de maestría
Un artículo para la revista Pesquisa Agropecuaria Brasileira
Un reporte para presentarse en un congreso internacional

6.-Literatura Citada

Abdela Nejash, (2016). Sub-acute Ruminant Acidosis (SARA) and its Consequence in Dairy Cattle: A Review of Past and Recent Research at Global Prospective, *Achievements in the Life Sciences*. 10:187-196.

Barker Z. E., Amory J. R., Wright J. L., Mason S. A., Blowey R. W., Green L. E. (2009). Risk factors for increased rates of sole ulcers, white line disease, and digital dermatitis in dairy cattle from twenty-seven farms in England and Wales, *J. Dairy Sci.* 92:1971-1978.

Barker Z. E., Amory J. R., Wright J. L., Blowey R. W. and Green L. E. (2007). Management Factors Associated with Impaired Locomotion in Dairy Cows in England and Wales, *J. Dairy Sci.* 90:3270-3277.

Buch L. H., Sørensen H.C., Lassen j., Berg P., Eriksson J. A., Jakobsen J. H., and Sørensen M. K. (2011). Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. *J. Dairy Sci.* 94:1540-1551.

Charfeddine N. and Pérez-Cabal M. A. (2016). Effect of claw disorders on milk production, fertility, and longevity, and their economic impact in Spanish Holstein cows, *J. Dairy Sci.*, 100:1-13.

Clegg S. R., Bell J., Ainsworth S., Blowey R. W., Bell N. J., Stuart D. Carter S. D., and Evans N. J. (2016) Isolation of digital dermatitis treponemes from cattle hock skin lesions. *Vet. Dermatol.* 27:106-130.

Compiani R., Sgoifo Rossi C.A., Baldi G., Desrochers A. (2014). Dealing with lameness in Italian beef cattle rearing, *Large Anim. Rev.* 20:239-247.

Cook N. B., Hess J. P., Foy M. R., Bennett T.B., and Brotzman R. L. (2016). Management characteristics, lameness, and body injuries of dairy cattle housed in high-performance dairy herds in Wisconsin, *J. Dairy Sci.*, 99:5879-5891.

Dong Shu-Wei, Zhang Shi-Dong, Wang Dong-Sheng, Wang Hui, Shang Xiao-Fei, Yan Ping, Yan Zuo-Ting and Yang Zhi-Qiang (2015). Comparative proteomics analysis provide novel insight in to laminitis in Chinese Holstein cows. *Vet. Res.* 11:161-166.

Espejo L. A., Endres M. I., and Salfer J. A. (2006). Prevalence of Lameness in High-Producing Holstein Cows Housed in Freestall Barns in Minnesota, *J. Dairy Sci.* 89:3052-3058.

Green L. E., Hedges V.J., Schukken Y. H., Blowey R.W., and Packington A.J. (2002). The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85:2250-2256

Giuliana G. Miguel-Pacheco, Heather J. T., Jonathan N. Huxley, Newsome R. F., Kaler J. (2017). Effect of claw horn lesion type and severity at the time of treatment on outcome of lameness in dairy cows. *Vet. Journal.* 225: 16-22.

Gómez A, Cook N. B., Socha M. T., and Döpfer D., (2015). First-lactation performance in cows affected by digital dermatitis during the rearing period, *J. Dairy Sci.* 98:1-12.

Häggman J., Junni R., Simojoki H., Juga J., Soveri T. (2015). The costs of interdigital phlegmon in four loose-housed Finnish dairy herds, *Acta Vet. Scand.* 57:90-97.

Knappe-Poindecker, M., Gilhuus, M., Jensen, T. K., Klitgaard, K., Larssen, R. B., Fjeldaas, T. (2013). Interdigital dermatitis, heel horn erosion, and digital dermatitis in 14 Norwegian dairy herds. *J Dairy Sci* 96:7617-7629

Lean I.J., Westwood C.T., Golder H.M., Vermunt J.J. (2013). Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle.

- Livest. Sci. 156:71–87.
- Newcomer Benjamin W., Chamorro Manuel F. (2016). Distribution of lameness lesions in beef cattle: A retrospective analysis of 745 cases. *Can. Vet. J.* 57:401–406.
- Nielsen B. H., Thomsen, P. T. Sørensen J. T. (2011). Identifying risk factors for poor hind limb cleanliness in Danish loose-housed dairy cows. *Animal* 5:1613–1619
- Shearer Jan K., Plummer Paul J., Schleining Jennifer A., (2015), Perspectives on the treatment of claw lesions in cattle. *Vet. Med. Res. Rep.* 6:273–292.
- Solano L., Barkema H. W., Mason S., Pajor E. A., LeBlanc S. J., Orsel K. (2016), Prevalence and distribution of foot lesions in dairy cattle in Alberta, Canada, *J. Dairy Sci.* 99:6828–6841.
- Swalve H. H., Floren C., Wensch-Dorendorf M., Schöpke K., Wimmers R. K., Brenig B. (2014) A study based on records taken at time of hoof trimming reveals a strong association between the IQ motif-containing GTPase-activating protein 1 (IQGAP1) gene and sole hemorrhage in Hastien cattle. *J. Dairy Sci.* 97:507–519.
- Thomas H. J., Miguel-Pacheco G. G., Bollard N. J., Archer S. C., Bell N. J., Mason C., Maxwell J. R.O., Remnant J. G., Sleeman P., Whay H. R. Huxley J. N. (2014), Evaluation of treatments for claw horn lesions in dairy cows in a randomized controlled trial, *J. Dairy Sci.* 98:4477–4486.
- Zhang G., Hailemariam D., Elda Dervishi E., Deng Q., Goldansaz S. A., Dunn S. M., Ametaj B. N. (2015). Alterations of innate immunity reactants in transition dairy cows before clinical signs of lameness. *Animal* 5:717-747.