Tre fattori in ballo: riconoscere il problema a carico degli animali, rinfrescare la stalla, prevenire. Le indicazioni degli studiosi americani, australiani e tedeschi

Climatizzazione

Per gestire lo stress da caldo delle bovine

di **Roberta Sguerrini**

Luglio e agosto sono i due mesi più temibili per lo stress da caldo delle bovine: non sono infrequenti i decessi da caldo, come emerge da uno studio condotto in Italia, in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Emilia Romagna, nell'arco di 6 anni (2002-2007) su oltre 320.00 bovine macellate d'urgenza o non ammesse al consumo, a causa di patologie accertate nell'ispezione ante-mortem. L'estate del 2003 è stata la più critica, dato che si è verificato un incremento dei decessi umani e di altre specie animali in tutta Europa, in associazione alle elevate temperature registrate(Andrea Vitali e coll., 2009, Seasonal pattern of mortality and relationships between mortality and temperature-humidity index in dairy cow, J. Dairy Sci. 92:3781-3790).

Nulla di strano, considerate le temperature medie e l'alto tasso di umidità dei mesi estivi, ma l'indagine statistica ha permesso di individuare alcuni parametri di riferimento per valutare nella pratica il rischio effettivo di mortalità, in modo da fornire agli allevatori un campanello d'allarme ed intervenire per limitare i danni.

Temperatura e umidità

Un parametro utilizzato per stimare il malessere dovuto ad un clima eccessivamente caldo è l'Indice di Temperatura e Umidità

DUE FORMULE

Ecco due formule di calcolo utili per stimare le condizioni ambientali rischiose per le bovine.

Indice di Umidità e Temperatura (THI):

THI = T°a – (0.55 - 0.55 x RH) x (T°a – 58)

Ta° = Temperatura dell'aria in gradi Celsius [(1,8 x T°) + 32]

RH = Umidità Relativa

Indice della Temperatura Globo Nero (BGHI= Black Globe Heat Index):

BGHI = t_{bg} + (0,36 x t_{dp})+ 41,5

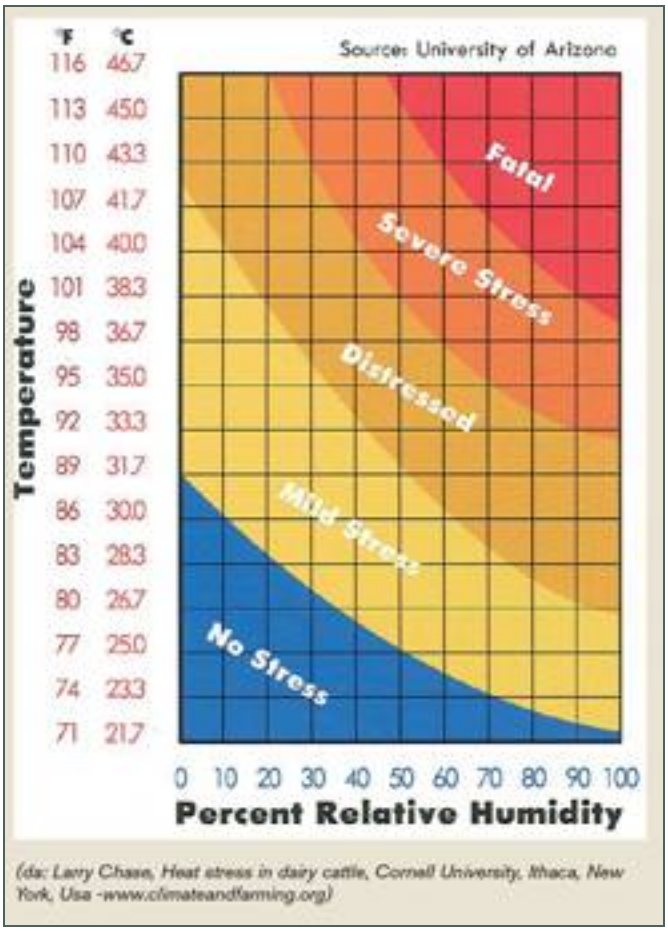
t_{bg} = temperatura del Globo Nero in gradi Celsius

t_{dp} = temperatura di rugiada in gradi Celsius

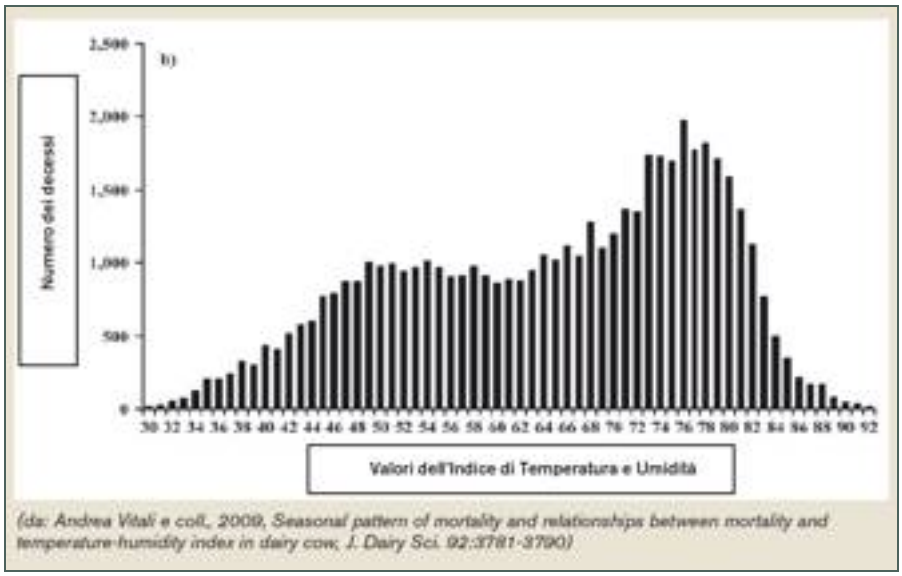
(THI, o Temperature Humidity Index), che valuta gli effetti combinati della temperatura ambientale e dell'umidità relativa.
Esistono diverse formule di calcolo di tale Indice, applicato fin dal 1964 ai bovini, per stimarne la necessità di raffrescamento ed evitare lo stress da caldo.
E' stata anche redatta una tabella di riferimento (Figura 1), dove sono riportati i vari livelli di rischio di morte (da nullo a molto elevato).
Secondo i ricercatori italiani, i livelli di THI rischiosi per le bovine sono compresi tra 70 e 80 (aumento significativo del numero di decessi, Figura 2). In condizioni di allevamento intensivo, un THI compreso tra 77 e 87 è correlato al massimo rischio di mortalità.
Un valore di THI di 72 è correntemente riconosciuto come il limite minimo al quale occorre iniziare a rinfrescare le bovine, per evitare i primi segnali di stress da caldo. Alcuni ricercatori sono tuttavia ora in disaccordo sull'attendibilità dei limiti fissati.

Potenziale produttivo e intolleranza al caldo

Robert J. Collier, Professore presso il Dipartimento di Scienze Animali dell'Università dell'Arizona (Usa) è intervenuto al 23° Annual Meeting del Florida Ruminant Nutrition Symposium (Gainesville, Florida, 2012) per presentare nuovi dati sui livelli critici di THI per le bovine.
Vi sono alcuni fattori da considerare, quando si stima il potenziale rischio del THI: lo stato fisiologico della bovina, il livello produttivo e la durata dell'esposizione al caldo.
La parziale revisione dei valori critici di THI, suggerita da Collier, si fonda sugli elevati livelli produttivi delle moderne bovine in lattazione. Poiché il metabolismo, in lattazione, genera molto calore, a maggior produzione lattea corrisponde maggior sensibilità allo stress da caldo.



● **Figura 1 - Interazione tra Temperatura ambientale e Umidità relativa, per stimare il potenziale rischio di stress da caldo nelle bovine.**



● **Figura 2 - Frequenza dei massimi valori di THI (Indice Temperatura e umidità) registrati in Italia in 6 anni da 73 stazioni metereologiche e numero di decessi correlati.**

Ad esempio, bovine che producono, rispettivamente, 18,5 o 31,6 kg di latte al giorno generano il 27,3% o il 48,5% di calore in più, rispetto a bovine in asciutta.
Quando il livello produttivo passa da 35 a 45 kg di latte al giorno, il livello di tolleranza al caldo diminuisce di 5°C.
Gli effetti negativi del caldo sulla produttività giornaliera si manifestano in massima parte entro 24-48 ore dall'evento. Se i livelli elevati di THI persistono oltre le 72 ore, si hanno forti ripercussioni negative sul resto della lattazione.
Intervenendo entro le prime 48 ore di un periodo molto caldo e umido, si può tuttavia limitare il decremento produttivo che si verifica nelle due settimane successive.
Purtroppo non esistono ancora dati ➔

LE RISPOSTE FISIOLOGICHE DELLE BOVINE AL CALDO

Frequenza respiratoria normale (a 22°C): 25-30 atti/minuto.
Respirazione in stress da caldo: da 50-60 atti/min (a 25°C) a > 100 (T° superiori). Respiro superficiale, a bocca aperta.
Stress intenso: quando il 70-80% degli animali ha una frequenza respiratoria >80 atti/min.
Temperatura corporea fisiologica: 38,5 °C.
Stress da caldo: fino a 41°C (con fluttuazioni circadiane anche di 5°C).
Stress intenso: se il 70% delle bovine supera i 39,4°C, o se l'80% supera i 39°C.
Frequenza cardiaca: aumentata se l'ondata di caldo è intensa e sopraggiunge in modo rapido; diminuita se lo stress è prolungato.
Bilancio energetico: aumentano i fabbisogni (+ 20-30%), per mettere in atto le risposte fisiologiche allo stress.

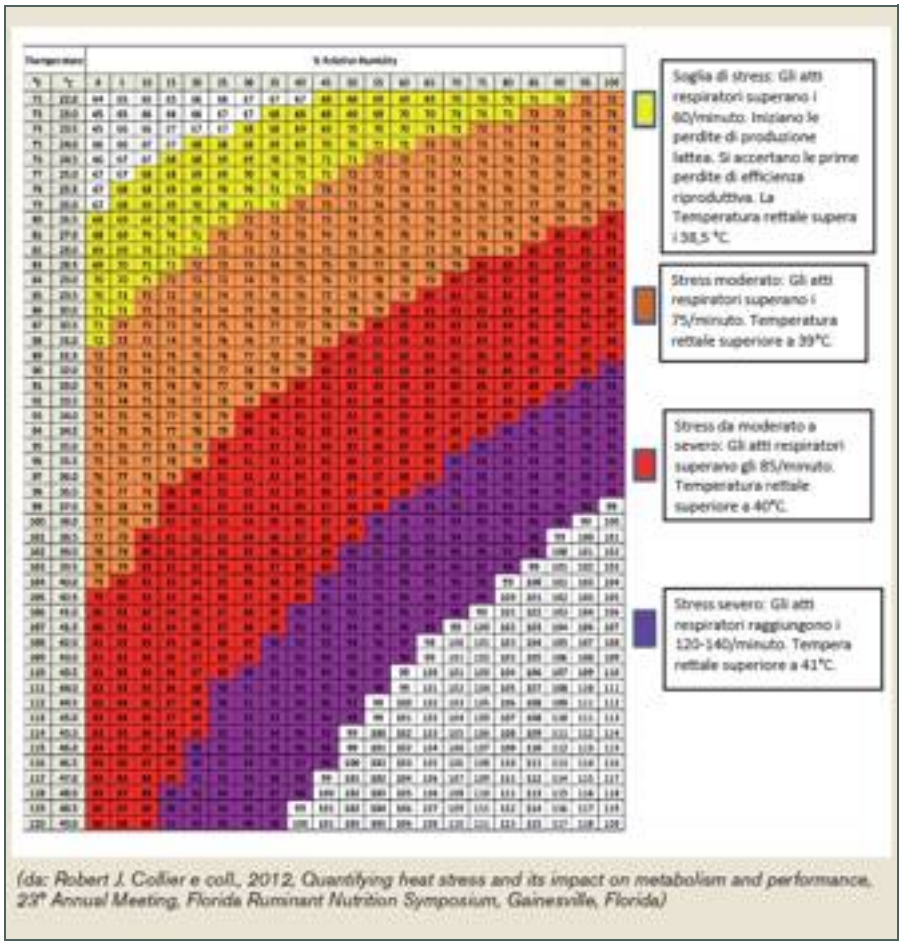


Figura 3 - Revisione dell'Indice di Temperatura e Umidità per le Bovine in lattazione.

completi sull'effetto del THI secondo il ritmo circadiano, poiché le simulazioni effettuate durante le sperimentazioni non tenevano conto delle fluttuazioni giornaliere di temperatura ed umidità.

Nuovi riferimenti di THI

Collier ed i suoi colleghi ritengono che gli effetti del THI siano attualmente sottostimati. Secondo le loro ricerche, il valore minimo di THI che determina un decremento produttivo significativo è di 65 (Tabella 1).
Con valori di THI compresi tra 65 e 73, il decremento produttivo è, in media, di 2,2 kg di latte al giorno.
Tale decremento è stato osservato anche a seguito di un'esposizione di 17 ore in ambiente con un THI pari a 68.
I ricercatori hanno pertanto revisionato la tabella di riferimento su THI e stress da caldo (Figura 3).
La loro raccomandazione è di iniziare a raffescare la bovina in lattazione (che abbia una produzione di 35 kg di latte al dì) appena il THI raggiunge un valore di 65 o superiore, o se la media giornaliera di THI è di 68 ed oltre, per più di 17 ore al giorno.
Un altro elemento da non trascurare, secondo Collier, è l'effetto del calore radiante. Il calore radiante, misurabile con un globotermometro e quantificabile attraverso il BGHI (Black Globe Heat Index), è strettamente correlato alla temperatura rettale ed al decremento produttivo, e l'effetto è molto pronunciato quando vi è un'intensa irradiazione solare, in assenza di sistemi di raffrescamento.

Stagioni e ambiente

Gli effetti stagionali influiscono in modo naturale sulla lattazione: le lattazioni più produttive, infatti, si verificano quando il parto avviene in gennaio o febbraio, mentre le più scarse si hanno a seguito di parti in agosto/settembre (Figura 4).
Nelle aree temperate, si osserva una discrepanza fisiologica tra le percentuali di grasso e di proteine, nel latte prodotto in periodi estivi (rispettivamente 0,4% e 0,2% in meno).
Ciò è dovuto in parte all'effetto diretto

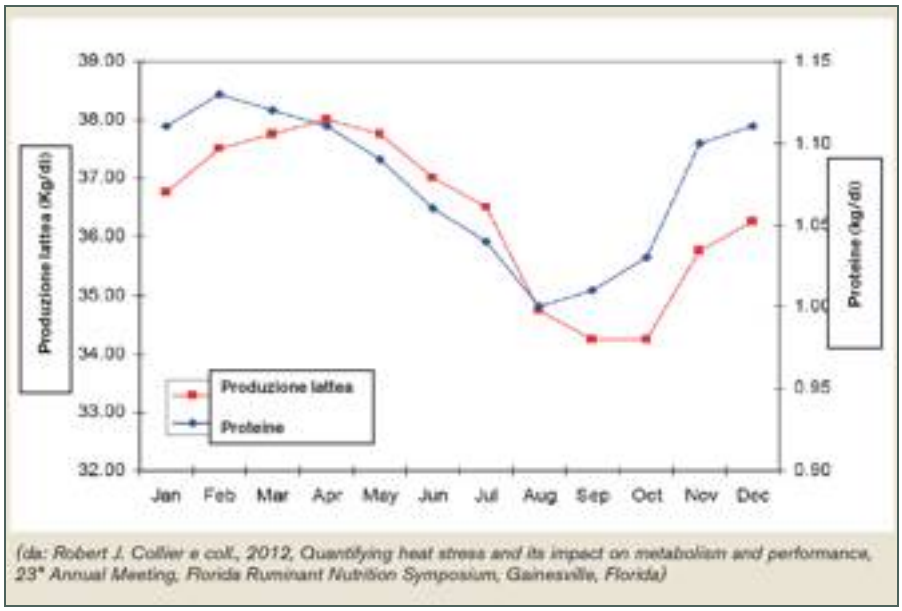
FATTORI CHE DETERMINANO LA GRAVITÀ DELLO STRESS DA CALDO

- Temperatura ambientale e umidità relativa.
- Durata del periodo di stress da caldo.
- Entità del raffrescamento naturale che avviene nel periodo notturno.
- Ventilazione e circolazione dell'aria.
- Fattori individuali (taglia della bovina, stato fisiologico, livello produttivo).
- Disponibilità di acqua.
- Lunghezza e del mantello.
- Grado di irraggiamento solare.
- Ombreggiatura.
- Colore del mantello.
- Razza.

delle temperature ambientali, ed in parte all'effetto indiretto del fotoperiodo e dello stress da caldo subito in gravidanza.
Le caratteristiche ambientali della regione di allevamento, come la vicinanza al mare (brezze marine che rinfrescano), o la possibilità di soggiornare all'aperto durante il periodo caldo hanno anch'esse influenza sulla curva di lattazione (Figura 5).
Le fonti esterne di calore sono la radiazione solare e la temperatura dell'aria.
La stabulazione in luoghi poco ventilati e sovraffollati, la mancanza di una copertura di protezione dai raggi solari, l'elevato tenore di umidità sono ulteriori fattori che aggravano lo stress da caldo.

Caldo, benessere, produttività

La zona di "termoneutralità", per una bovina in lattazione, è compresa tra -5 e 23,9°C. Al di sopra del valore massimo, si iniziano ad osservare le prime ripercussioni sulla produzione: diminuiscono sia la quantità di latte, sia le percentuali di solidi non grassi, delle proteine, del lattosio e del grasso nel latte.
Nei periodi più caldi, la percentuale di proteine nel latte diminuisce a causa del ridotto tasso di sintesi proteica da parte delle cellule epiteliali mammarie (effetto diretto dello stress da caldo).
La curva di lattazione, invece, risente anche degli effetti combinati dello stress provato durante la gravidanza e dello stato metabolico alterato (Figura 6).
Al di sopra del range di temperatura ottimale, fissata, a seconda degli autori, tra i 23,9 e i 25°C, la bovina inizia a soffrire il caldo e mette in atto una serie di meccanismi di compensazione. ➔



● **Figura 4 - Effetti del mese in cui avviene il parto sulla produzione lattea e sul contenuto proteico delle bovine in lattazione.**

Fattori individuali e stress da caldo

La produzione totale di calore corporeo dipende dalla quantità prodotta dal metabolismo (calore corporeo interno) e dal calore generato dalle fonti ambientali.

Il calore interno deriva dalle attività di digestione (è elevato se nella dieta sono presenti molti concentrati), dall'attività fisica, dallo stato fisiologico (lattazione, gestazione).

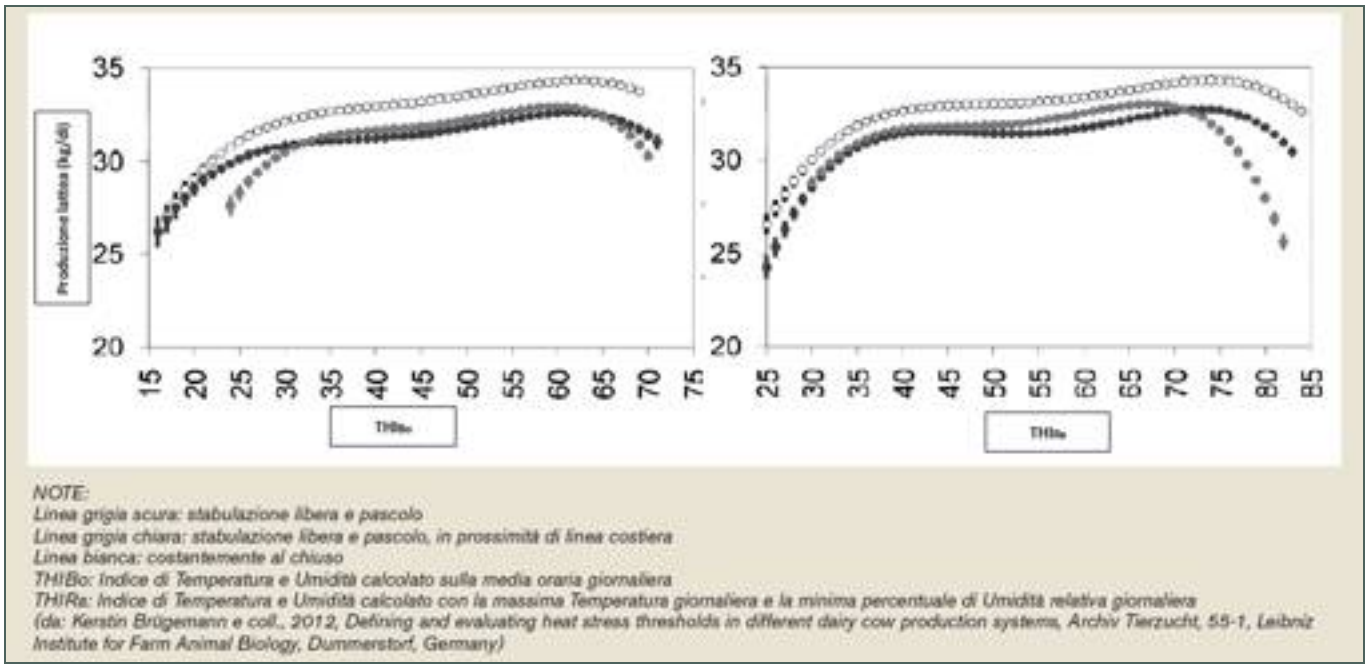
Anche il colore del mantello può influire sul calore accumulato: bovine scure assorbono il doppio del calore emanato dal sole rispetto a bovine dal mantello chiaro (Figura 7). Inoltre, il rapporto tra superficie e massa corporea fa sì che bovini di maggiori dimensioni (adulti di grossa taglia) siano più vulnerabili allo stress da caldo, poiché possiedono, in proporzione, una minor possibilità di dispersione del calore.

Riguardo alla razza, sembra che le bovine Jersey siano più resistenti al caldo rispetto alle Brown Swiss, mentre le Holstein e le Frisone sono piuttosto vulnerabili.

Le Holstein tedesche si adattano al caldo meno facilmente delle Holstein del Nord America, probabilmente a causa di una selezione in atto già da tempo in Stati come Florida e Arizona (Kerstin Brügemann e coll., 2012, Defining and evaluating heat stress thresholds in different dairy cow production systems, Archiv Tierzucht, 55-1, Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany).

Quando sudare non basta

I bovini si difendono dal caldo tramite la traspirazione (possibile con umidità relativa < 100%) e la sudorazione, che permette di dissipare il calore in eccesso grazie all'evaporazione dell'acqua dalla cute. Quando ciò non è sufficiente, i mec-



● **Figura 5 - Relazione tra la produzione lattea (tra le 11 e le 22 settimane di lattazione) e i valori di THI, in diverse condizioni di allevamento.**

I TIMORI DELL'UNIVERSITÀ DI GÖTTINGEN PER VERMI E FASCIOLE

Il futuro climatico dell'Europa preoccupa i ricercatori dell'Università di Göttingen (Germania), che hanno stilato un rapporto sulle conseguenze del riscaldamento globale nei confronti dei tradizionali sistemi di allevamento.

Matthias Gauly (professore presso il Department of Animal Sciences, Division of Livestock Production) e i suoi colleghi hanno analizzato i probabili adeguamenti che dovranno essere adottati dalle aziende zootecniche, per far fronte ai cambiamenti climatici.

I ricercatori ipotizzano che vi sarà un cambiamento nel tipo e nella qualità delle colture, poiché saranno privilegiate specie botaniche più adattabili (come l'erba medica o il ginestrino – Lotus corniculatus). Cambierebbe dunque anche la composizione del foraggio, con un evidente impatto sulla dieta e sulla fisiologia ruminale.

Le strategie per consentire alle bovine di adattarsi al nuovo regime nutrizionale ed alle condizioni climatiche più disagevoli saranno di tipo dietetico (con particolare riguardo agli additivi alimentari ed all'acqua da bere) e di tipo ambientale (sistemi efficienti di climatizzazione).

Anche la genetica sarà chiamata a selezionare soggetti resistenti agli effetti dello stress da caldo. Dal punto di vista sanitario, si ipotizza che il clima possa maggiormente favorire il proliferare di alcuni parassiti (vermi gastrointestinali e fasciole epatiche), costringendo la filiera ad una revisione dell'epidemiologia e della sorveglianza sanitaria.

Per saperne di più ecco I riferimenti bibliografici: *Gauly Matthias e coll., 2012, Future consequences and challenges for dairy cow production systems arising from climate change in Central Europe - a review, Animal. , Dec. 20.* **R.S.**

canismi fisiologici messi in atto consistono in una riduzione delle attività che generano calore interno (alimentarsi, produrre latte, muoversi) e in un incremento delle attività di dispersione del calore (sudorazione, aumento degli atti respiratori

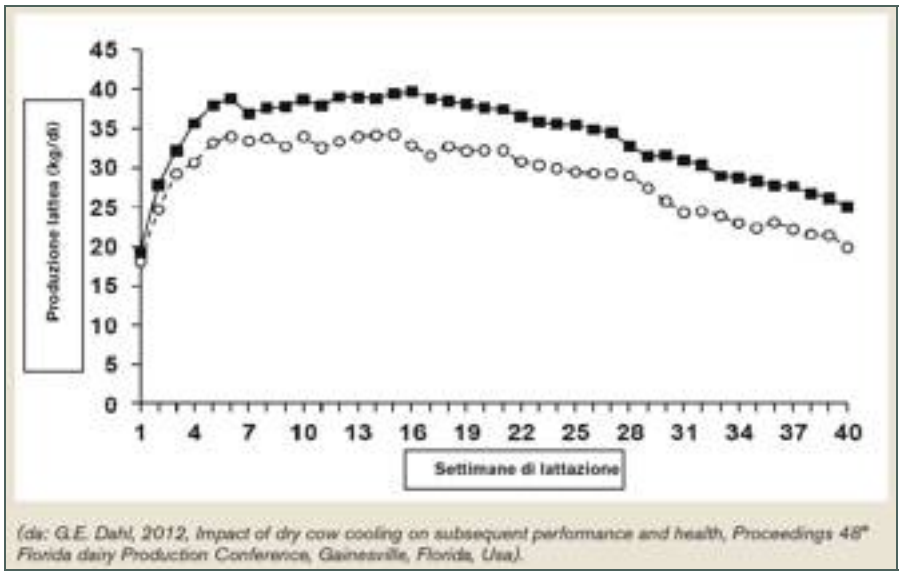
TAB. 1 - EFFETTI DEL THI (INDICE TEMPERATURA E UMIDITÀ) MINIMO SULLA PRODUZIONE LATTEA DI BOVINE HOLSTEIN

THI minimo	Diminuzione (in kg di latte al giorno)	Significatività
49	- 1,01	-
50	0,55	-
51	0,21	-
55	- 0,28	-
63	- 0,09	-
64	- 0,04	-
65	- 2,63	p 0,0007
66	- 2,04	p <0,0001
70	- 3,25	-
73	- 1,08	-

Le bovine Holstein esaminate producono più di 35 kg / giorno di latte.

Da: Robert J. Collier e coll., 2012, Quantifying heat stress and its impact on metabolism and performance, 23° Annual Meeting, Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, Florida (Usa).

e della salivazione).
I segni clinici di stress da caldo iniziano con un cambiamento di comportamento: le bovine sono agitate, sudano abbondantemente. Uno stress medio porta le bovine ad aumentare la frequenza degli atti respiratori, aumenta la temperatura rettale, cercano zone in ombra, non si sdraiano, aumentano l'assunzione di acqua e riducono la quantità di cibo ingerito. Con temperature più elevate, si affollano attorno agli abbeveratoi, tendono a sdraiarsi nelle zone umide o bagnate e nel fango, divengono sempre più agitate ed irrequiete, tengono la bocca aperta ed hanno scialorrea.
Nei casi più gravi, può insorgere edema polmonare, che si manifesta con scoli dalle narici o dalla bocca, la temperatura rettale raggiunge i 41°C. Nello stadio finale, le bovine sono atassiche, non si muovono, possono avere collasso con convulsioni, entrare in coma e morire.



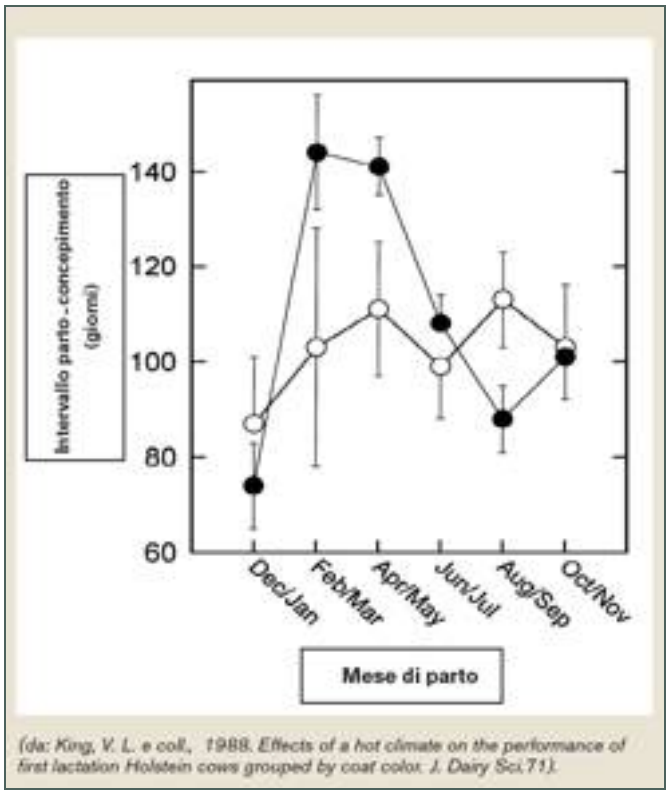
● **Figura 6 - Curve di lattazione in bovine esposte a stress da caldo (durante la precedente asciutta), senza raffrescamento (linea bianca) o con raffrescamento (linea nera).**

Meno latte, qualità scarsa

Le ripercussioni sulla produzione lattea (-10/20% o più) sono in massima parte dovute alla mancanza di appetito. Ne risente anche la qualità del latte, in cui si osserva un calo di grasso e proteine ed un aumento delle cellule somatiche e dei batteri.
Il metabolismo dell'acqua viene deviato verso la termoregolazione, e l'afflusso di sangue alla mammella diminuisce (si verifica vasodilatazione periferica).
I più colpiti sono i soggetti ad alta produzione, specialmente se colpiti nei primi 60 giorni di lattazione, con possibilità di un recupero lento e spesso solo parziale.
Uno studio condotto in Olanda tra il 2003 e il 2006 riporta che la temperatura media in cui iniziavano a manifestarsi i primi effetti di stress da caldo era di 17,8 ± 0,56 °C. Quando la durata del periodo caldo raggiungeva, in media, 5,5 ± 1,03 giorni, la perdita stimata di latte ammontava a 31,4 ± 12,2 kg/bovina/anno (André G. e coll., 2011, Quantifying the effect of heat stress on daily milk yeld and monitoring dynamic changes using an adaptative dynamic model, J. Dairy Sci., sep. 94-9).

Meno parti, vitelli gracili

Le ripercussioni dello stress da caldo sulle performances riproduttive consistono in una riduzione del tasso di concepimento (-20/30%), perdita degli embrioni ad uno stadio precoce (< 7 giorni), aumento del rischio di aborti entro il terzo mese di gravidanza.
Ciò si deve sia al minor consumo volontario di sostanza secca (e conseguente bilancio energetico negativo) sia, in alcuni casi, alla riduzione della qualità del pascolo, come accade in zone calde, come



● **Figura 7 - Variazione stagionale dell'intervallo parto-concepimento, in bovine Holstein dell'Arizona che hanno mantello dal colore prevalentemente bianco (o) o nero (●).**

l'Australia, nella stagione calda. (Jos J. Vermunt e coll., 2011, Heat stress in Dairy Cattle, Annual Conference of the Australian Veterinary Association – Queensland, Australia).

Con lo stress da caldo, ne risentono anche le bovine in estro: diminuiscono le manifestazioni estrali, e la durata e l'intensità dell'estro hanno un calo .

Uno studio condotto in Florida ha mostrato che nei mesi estivi la percentuale di estri non rilevati oscillava tra il 76 e l'82%, mentre nel periodo compreso tra ottobre e maggio tali percentuali si aggiravano sul 44-65% (Thatcher, W. W. e R. J. Collier. 1986. Effects of climate on bovine reproduction. In: D. A. Morrow (Ed.) Current Therapy in Theriogenology 2).

Se la bovina sperimenta stress da caldo nel corso dell'ultimo trimestre di gravidanza, partorisce un vitello con peso alla nascita inferiore del 6-8% rispetto alla norma e poco vitale. Inoltre il colostro non sarà di buona qualità.

Uno stress provato nelle ultime 3-4 settimane di gravidanza ha anche un effetto diretto sulla bovina, che, a causa del bilancio energetico negativo, arriva al parto in una scarsa condizione corporea.

Se l'ondata di caldo avviene in prossimità del parto, la bovina va incontro ad ipertermia ed ipocalcemia. Tutto questo ha naturalmente influenza negativa sulla lattazione.

Le manze che sperimentano stress da caldo crescono meno (- 16% in peso vivo) e la loro prima lattazione ne sarà influenzata.

Asciutta e calura

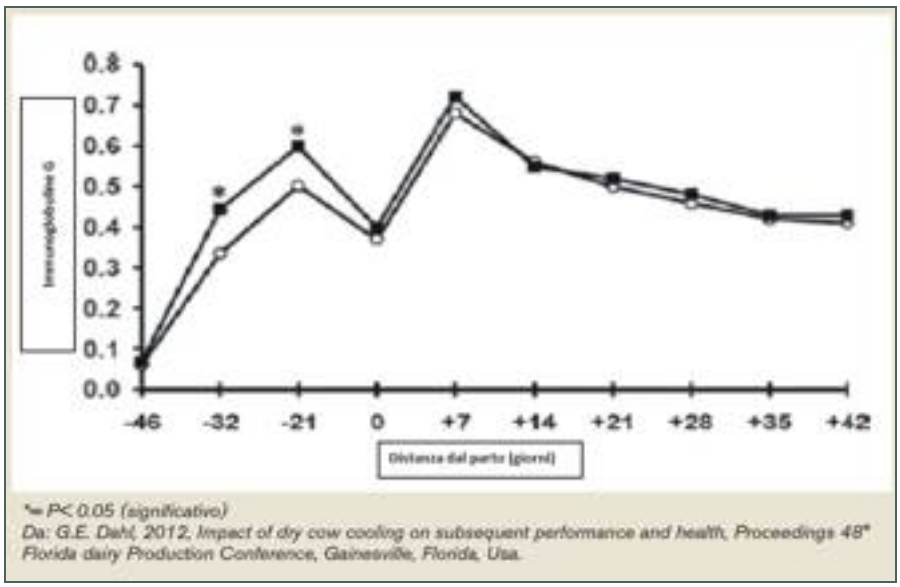
Proteggere le bovine in asciutta con l'ombra e con sistemi di raffrescamento (nebulizzatori e ventilatori) permette di limitare le perdite da stress da caldo nella lattazione successiva (+ 3,5 kg di latte/giorno, nell'intera lattazione, rispetto a bovine che dispongono solo di ombreggiamento).

Il raffrescamento ha effetti positivi anche sul sistema immunitario delle bovine in asciutta (in particolare le difese acquisite, Figura 8), cosa che le rende più resistenti alle infezioni mammarie durante il primo stadio della lattazione (G.E.Dahl, 2012, Impact of dry cow cooling on subsequent performance and health, 23° Annual Meeting del Florida Ruminant Nutrition Symposium, Gainesville, Florida).

Il caldo non giova alla salute

Sul piano sanitario, il caldo umido favorisce l'insorgenza di mastiti ambientali, poiché le bovine tendono a sdraiarsi su superfici umide, imbrattate da feci, o nel fango, favorendo la contaminazione batterica della mammella e la colonizzazione del canale del capezzolo.

La sudorazione intensa porta alla perdita



● **Figura 8 - Concentrazione di Immunoglobuline G nel sangue, in bovine esposte a stress da caldo (durante la gravidanza), senza raffrescamento (linea con pallini bianchi) o con raffrescamento (linea con quadrati neri).*= P> 0.05 (significativo)**

di elettroliti (Sodio, Potassio), non reintegrati con l'alimento, e la tachipnea causa l'eliminazione di anidride carbonica, diminuzione del pH ematico e alcalosi respiratoria.
La riduzione dell'appetito porta ad uno squilibrio metabolico, dovuto al minor consumo di fibra (le bovine preferiscono i concentrati), alla minor masticazione, con riduzione dell'effetto tampone della saliva sul contenuto ruminale (la saliva viene dispersa dalla bocca aperta, per favorire la ventilazione polmonare). Ecco che così insorge l'acidosi ruminale sub-acuta ("sara"), che predispone alla laminite ed alle lesioni podali.
I parametri ematici risultano alterati, con calo degli ormoni della crescita, della prolattina e degli ormoni tiroidei, riduzione della calcemia (conseguenza dell'alcalosi), aumento dell'urea ematica, ipoglicemia ed ipercolesterolemia (a causa della lipomobilizzazione da deficit alimentare).

Strategie per prevenire

Prevenire lo stress da caldo, anziché combatterlo quando ormai è in atto, è la raccomandazione fornita da tutti i ricercatori. Le strategie più efficaci riguardano la stabulazione, il management della mungitura, i sistemi di raffrescamento, l'alimentazione (oggetto quest'ultima di un prossimo articolo, sul n.11.2013 dell'Informatore Zootecnico). La genetica e la selezione di nuove colture foraggere sono le frontiere su cui si stanno concentrando gli studi attuali per adeguare le esigenze fisiologiche e produttive delle moderne bovine ad un clima in continua evoluzione.
A livello pratico, gli accorgimenti strutturali per prevenire o mitigare lo stress da caldo sono vari, con soluzioni per tutte le tasche.
L'acqua fresca deve essere sempre a disposizione degli animali (il suo consumo può aumentare del 50%), in zone di facile accesso, preferibilmente ombreggiate, vicine alla zona di alimentazione, riposo o mungitura. Gli erogatori devono fornire un flusso sufficiente a soddisfare le accresciute esigenze delle bovine. L'acqua deve essere pulita, fresca, di buona qualità e priva di impurità e microrganismi (incluse muffe ed alghe).
Alcune caratteristiche possono essere applicate solo in fase di progettazione degli edifici (esposizione, ventilazione, ampiezza, materiali impiegati).
La presenza di pozze o stagni permettono alle bovine di rinfrescarsi adeguatamente , e non sono stati osservati effetti negativi apparenti sulla qualità del latte e sulla salute della mammella, tuttavia rappresentano un metodo controverso e comunque sono una possibile fonte di parassiti (leptospire) e germi.

Ombra, pulizia, docce fresche

Sono tutti concordi, invece, sulla necessità dell'ombreggiamento, naturale o artificiale. Se l'edificio è piccolo e con il colmo del tetto chiuso, si può provvedere raffrescando il tetto con acqua, o dipingendolo con vernici riflettenti, anche se la soluzione migliore è rinfrescare direttamente le bovine.
Sono molto diffusi gli spruzzatori ed i ventilatori, specialmente quando sono combinati, in modo da favorire l'evaporazione dell'acqua dalla cute, purché l'umidità relativa non sia già elevata e l'edificio sia ben areato.
Nebulizzatori e doccette possono essere collocati all'uscita dell'area di mungitura o lungo le corsie di alimentazione.
I sistemi presenti in sala d'attesa possono avere alcune controindicazioni, specialmente se bagnano eccessivamente le bovine, favorendo il gocciolio sulla mammella (contaminazione) o il ristagno di acqua sporca a terra (proliferazione di microrganismi).
In alcune aziende, si preferisce mungere le bovine al mattino presto e nel tardo pomeriggio, in modo da evitare la movimentazione delle bovine nelle ore più calde. In altre aziende, le bovine vengono trattenute in un'area vicina alla sala mungitura, dotata di sistemi di raffrescamento, fino a pomeriggio inoltrato, e dopo la mungitura pomeridiano vengono condotte al pascolo solo quando la calura del giorno volge al termine.
Sia all'aperto che all'interno degli edifici, è utile ridurre la densità degli animali, in particolare creando piccoli gruppi nella sala d'attesa pre-mungitura. La pulizia e la sanitizzazione degli ambienti e dei pavimenti deve essere particolarmente accurata, poiché con il caldo aumenta il rischio di mastiti ambientali. ●