

## Effect of forage supplementation on metabolic indicators of Hartón del Valle heifers in the Colombian Amazon

### Efecto de la suplementación con forrajeras en indicadores metabólicos de novillas Hartón del Valle en la amazonía colombiana

A.R. Riascos-Vallejos<sup>1,2</sup>, J.J Reyes-Gonzales<sup>3</sup>, L. Dihigo<sup>4</sup>, Y. Medina-Mesa<sup>1</sup> and J.P. Narvaez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencia Animal, Dpto. de Rumiantes. Apartado Postal 24, San José de Las Lajas. Mayabeque, Cuba

<sup>2</sup>Servicio Nacional de Aprendizaje SENA. Regional Putumayo, Colombia

<sup>3</sup>Instituto de Investigación Pastos y Forrajes. Avenida Independencia km 8½, Boyeros. CP. 10 800. La Habana, Cuba

<sup>4</sup>Centro de Investigación para el Mejoramiento Genético de la Ganadería Tropical (CIMAGT). Ave 101 e/ 100 y 62

No. 62, Cotorro. La Habana, Cuba

Email: rolando.riascos@gmail.com

A.R. Riascos-Vallejos: <https://orcid.org/0000-0001-6627-9372>

J.J Reyes-Gonzales: <https://orcid.org/0000-0002-9681-1187>

L. Dihigo: <https://orcid.org/0000-0003-3843-0375>

Y. Medina-Mesa: <https://orcid.org/0000-0003-0869-2665>

J.P. Narvaez: <https://orcid.org/0000-0003-2766-2939>

To evaluate the effect of supplementation with forage on metabolic indicators of Hartón of Valle heifers, 12 bovine females were used. Animals consumed *Brachiaria decumbens* forage, which was supplemented with 2 kg. Treatments were: T1 Control (conventional supplement), T2 (supplement with 20% of *T. gigantea*) and T3 (supplement with 20% of *P. discolor*). For data processing, the theoretical assumptions of the analysis of variance and of normality of errors were tested. A design with repeated measures over time with four repetitions per treatment was used. A mixed linear model was applied, with the help of Proc MIXED and a mixed generalized linear model, with Proc GLIMMIX of SAS. There was interaction ( $P=0.0009$ ) between treatments and sampling days, for cholesterol. There were no statistical differences among treatments for metabolites of urea, creatinine, triglycerides, glucose, calcium, phosphorus, magnesium, selenium and copper. However, there were differences in the sampling period. Supplementation with 20% of *Piptocoma discolor* and *Trichanthera gigantea* stabilized the values in the metabolic indicators of cholesterol. The substitution of 20% of the conventional supplement for *P. discolor* or *T. gigantea* did not affect the studied blood indicators. However, the increase of supplementation over time improved blood indicators of triglycerides, urea, creatinine and selenium. Thus, supplementation with 20% of inclusion of *P. discolor* maintained stable cholesterol levels and improved glucose levels in the 30 days of supplementation.

Key words: native, *Piptocoma discolor*, blood profile

The existing native nuclei have a high degree of genetic diversity, which indicates their great genetic potential for selection (Borge *et al.* 2019) and, therefore, their ability to survive under very precarious and inhospitable conditions (Valderrama 2003 and Lesage-Padilla *et al.* 2019). These nuclei should be conserved as an alternative for crossbreeding with foreign breeds for meat and milk production (Restrepo *et al.* 2016).

It is expected that as a consequence of climate change,

Para evaluar el efecto de la suplementación con inclusión de forrajeras en los indicadores metabólicos de novillas Hartón del Valle, se utilizaron 12 hembras bovinas. Los animales consumieron forraje de *Brachiaria decumbens*, que se suplementó con 2 kg. Se establecieron tres tratamientos: T1 control (suplemento convencional), T2 (suplemento con 20 % de inclusión de *T. gigantea*) y T3 (suplemento con 20 % de inclusión de *P. discolor*). Para el procesamiento de los datos se probaron los supuestos teóricos del análisis de varianza y de la normalidad de los errores. Se utilizó un diseño con medidas repetidas en el tiempo, con cuatro repeticiones por tratamiento. Se aplicó un modelo lineal mixto con la ayuda del Proc MIXED y un modelo lineal generalizado mixto, con el Proc GLIMMIX del SAS. Hubo interacción ( $P=0.0009$ ) entre tratamientos y días de muestreo para colesterol. No existieron diferencias estadísticas entre tratamientos para los metabolitos de urea, creatinina, triglicéridos, glucosa, calcio, fósforo, magnesio, selenio y cobre. Sin embargo, hubo diferencias en el período de muestreo. La suplementación con forrajeras *Piptocoma discolor* y *Trichanthera gigantea* en 20 %, estabilizó los valores en los indicadores metabólicos de colesterol. La sustitución de 20 % del suplemento convencional por *P. discolor* o *T. gigantea* no afectó los indicadores sanguíneos estudiados. Sin embargo, el incremento en el tiempo de suplementación mejoró los indicadores sanguíneos de triglicéridos, urea, creatinina y selenio. Así, la suplementación con 20 % de inclusión de *P. discolor* mantuvo los niveles de colesterol estables y mejoró los niveles de glucosa durante los 30 días de suplementación.

Palabras clave: criollos, *Piptocoma discolor*, perfil sanguíneo

Los núcleos criollos existentes tienen alto grado de diversidad genética, lo que indica su gran potencial genético para la selección (Borge *et al.* 2019) y por ende, su capacidad para sobrevivir en condiciones muy precarias e inhóspitas (Valderrama 2003 y Lesage-Padilla *et al.* 2019). Estos núcleos se deben conservar como alternativa de cruzamiento con razas foráneas para la producción de carne y leche (Restrepo *et al.* 2016).

Se prevé que como consecuencia del cambio climático se incremente la gran superficie ocupada por ecosistemas

the large area occupied by ecosystems with adverse environments for animal production will increase (Eugenia *et al.* 2018). This constitutes an opportunity to develop food production systems with the use of own zoogenetic resources for the production in the Amazonian piedmont (Vera and Riera 2004). Currently, these systems are based on extensive regimes, with a mean milk production of 3.3 L cow<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>, which can be increased with the implementation of a livestock reconversion model that uses local trees and shrubs. In this way, it would contribute to the conservation of the Amazon and to the subsistence of livestock sector (Fedegán 2016).

The particular conditions of soils in the Colombian Amazon mean that the soil-plant-animal relationship is limited (Forero *et al.* 2018), especially when it is necessary to meet the minimum requirements of bovines to ensure that productive indicators and body condition remain appropriate and do not interfere with the fertility of bovine females (Calderón *et al.* 2017). In the same way, the Amazon has a diverse inventory of local species susceptible of use. In this context, to study the effects of supplementation with the inclusion of these species for feeding creole cattle is an alternative to improve the nutritional status of animals (Kubovičová *et al.* 2013). Nutritional imbalances in terms of energy, protein and minerals have been confirmed in other breeds, caused by irrational management practices of introduced pastures. This has provoked pastures with low yields of dry matter, which can condition forage intake by the animal and favor the nutritional deficit (Gallego-Castro and Mahecha-Ledesma 2017 and Sotelo *et al.* 2017).

One of the practices to evaluate the nutritional status of animals is the implementation of blood metabolic profile. Through this test, it is possible to study and demonstrate the response of each animal to a particular diet, as well as the possible problems of metabolic origin that are or may be present (Sena *et al.* 2018) without the farmer being aware of it. Although the animals may appear to be in good health, the metabolic profile is a useful tool to consider changes that should take place in feeding management (Omidi *et al.* 2018).

From this perspective, the objective of this study was to evaluate the effect of forage supplementation on blood metabolic indicators of Hartón del Valle heifers in the Amazonian piedmont.

### Materials and Methods

*Location and study area.* The research was carried out in Villa Lucero farm, at 0°35'25.6"N and 76°32'05.3"W, Putumayo department, in the southwest of the Republic of Colombia. This region is located at an altitude of 256 m.a.s.l. It has an average temperature of 25.3 °C, with 85% of relative humidity and annual precipitation of 3355 mm (IDEAM 2017). These characteristics correspond to a tropical humid forest life zone

con ambientes adversos para la producción animal (Eugenia *et al.* 2018). Esto constituye una oportunidad para desarrollar sistemas de producción de alimento con la utilización de recursos zoogenéticos propios para la producción en el piedemonte amazónico (Vera y Riera 2004). Actualmente, estos sistemas se sustentan en regímenes extensivos, con una producción promedio de leche de 3.3 L vaca<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>, que se puede incrementar con la implementación de un modelo de reconversión ganadera que emplee arbóreas y arbustivas locales. De este modo se contribuiría a la conservación de la amazonía y a la subsistencia del sector ganadero (Fedegán 2016).

Las condiciones particulares de los suelos de la amazonía colombiana hacen que la relación suelo-planta-animal sea limitada (Forero *et al.* 2018), especialmente cuando se requiere suplir los requerimientos mínimos de los bovinos para asegurar que los indicadores productivos y condición corporal se mantengan apropiados y no interfieran en la fertilidad de la hembra bovina (Calderón *et al.* 2017). De la misma manera, la amazonía cuenta con un inventario florístico de especies locales susceptibles de uso. En este contexto, estudiar los efectos de la suplementación con la inclusión de estas especies en ganado criollo es una alternativa para mejorar el estado nutricional de los animales (Kubovičová *et al.* 2013). Se ha confirmado en otras razas desbalances nutricionales en cuanto a la energía, proteína y minerales, originados por prácticas irracionales de manejo de las praderas introducidas. Esto ha dado lugar a pastos con bajos rendimientos de materia seca, lo que puede condicionar el consumo de forrajes por el animal y favorecer el déficit nutricional (Gallego-Castro y Mahecha-Ledesma 2017 y Sotelo *et al.* 2017).

Una de las prácticas para evaluar el estado nutricional de los animales es la implementación del perfil metabólico sanguíneo. Mediante esta prueba se hace posible estudiar y evidenciar la respuesta de cada animal ante una dieta particular, así como los posibles problemas de origen metabólico que estén o puedan estar presentes (Sena *et al.* 2018) sin que el productor se percate de ello. Aunque en apariencias los animales pueden mostrar un buen estado de salud, el perfil metabólico es una herramienta útil para considerar los cambios que deben tener lugar en el manejo de la alimentación (Omidi *et al.* 2018).

Desde esta perspectiva, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la suplementación con forrajeras en los indicadores metabólicos sanguíneos de novillas Hartón del Valle en el pie de monte amazónico.

### Materiales y Métodos

*Localización y área de estudio.* El trabajo se llevó a cabo en la finca Villa Lucero, a 0°35'25.6"N 76°32'05.3"W del departamento del Putumayo, al suroccidente de la República de Colombia. Esta región se halla a una altitud de 256 m s.n.m. Tiene una temperatura promedio 25.3 °C, con 85 % de humedad relativa y precipitación anual de 3355 mm (IDEAM 2017), características que corresponden a la zona de vida bosque húmedo tropical

(Holdridge 1982). Its soils are clayey-loam and clayey, acid (pH 4.6), low in phosphorus ( $<1.7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) and with high aluminum contents ( $>3.2 \text{ cmol kg}^{-1}$ ) and iron (Landínez-Torres 2017). During the sampling period, in the experimental stage, soil received no irrigation and plants were not fertilized.

*Trichantera gigantea* (Acanthaceae) and *Piptocoma discolor* (Asteraceae) species were used as forage, the latter native to the Amazon. They were harvested from a forage bank established on the farm with one-year-old plants, which underwent agronomic cutting management, and insect and weed control. An establishment cut was carried out and the regrowth of plants was used at 60 d. From each plot, 15 plants were taken in zigzag as a sample. Their leaves and young stems were used from 20 cm from the soil in the summer season, in June (Fick *et al.* 1976). Samples of fresh material were dried in an oven at  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  for 48 hours and ground to reach 1 mm in a hammer mill. Later, three samples of 200 g were taken for analysis. Preparation, drying and weighing was carried out in the biotechnology, soil and water laboratory of SENA, Putumayo regional.

*Animals.* According to their genotypic evaluation, 12 Hartón del Valle pure cattle were selected, with an average weight of  $340 \pm 20 \text{ kg}$  live weight. Body weights were recorded according to those estimated from the measurement of the thoracic perimeter with a tape measure, according to the methodology proposed by Álvarez (1997). For sanitary management, they were dewormed every three months and an annual vaccination plan was carried out to control reproductive diseases (IBR, DVB, and brucellosis), and others of mandatory registration in Colombia (foot-and-mouth disease and rabies).

*Feeding.* For the forage base diet, 6.0 ha of *Brachiaria decumbens* pasture were used, divided into 14 paddocks of  $4.285 \text{ m}^2$ . The pasture was divided with electric fence according to average intake of 15 % of live weight, according to capacity data, with a production of  $0.450 \text{ kg/m}^2$ . Each paddock was divided in a uniform manner, according to the four-day occupation period, so that offered forage had the same regrowth age, of 56 d of rest, typical for this area. They underwent an adaptation period of 15 d. During the study, the animals remained in the assigned paddocks from 11:00 a.m. until 7:00 a.m. of the next day. From 7:00 a.m. to 11:00 a.m., they were taken to individual pens, in which they were offered the supplement in equal parts once a day, at 8:00 a.m.

The animals were fed a *B. decumbens* grass base diet and were supplemented at a rate of  $1.8 \text{ kg animal}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . The proportion of raw materials of the supplement are shown in table 1. The daily diet allowed animals to meet their requirements and obtain a body weight gain in the order of  $0.5 \text{ kg animal day}^{-1}$  (Ruiz and Menchaca 1990).

*Treatments.* T1 control (conventional supplement),

(Holdridge 1982). Sus suelos son arcillo-limoso y arcilloso respectivamente, ácidos (pH 4.6), bajos en fósforo ( $<1.7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y con altos contenidos de aluminio ( $>3.2 \text{ cmol kg}^{-1}$ ) y hierro (Landínez-Torres 2017). Durante el período de muestreo, en la etapa experimental, no se regó el terreno ni se fertilizaron las plantas.

Como forrajeras se utilizaron las especies *Trichantera gigantea* (Acanthaceae) y *Piptocoma discolor* (Asteraceae), esta última nativa de la amazonía. Se cosecharon de un banco forrajero establecido en la finca con plantas de un año de edad, a las que se les realizó un manejo agronómico de poda, control de insectos y arvenses. Se hizo un corte de establecimiento y se usó el rebrote de las plantas a los 60 d. De cada parcela se tomaron en zig-zag 15 plantas como muestra. Se recolectaron, y de cada una se utilizaron las hojas y tallos tiernos a partir de 20 cm del suelo en la época de verano, en junio (Fick *et al.* 1976). Las muestras de material fresco se secaron en estufa a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 48 h y se trituraron hasta alcanzar 1 mm en un molino de martillo. Posteriormente, se tomaron tres muestras de 200 g para los análisis. El alistamiento, secado y pesado se realizó en el laboratorio de biotecnología, suelos y agua del SENA, regional Putumayo.

*Animales.* Se seleccionaron de acuerdo con su valoración genotípica 12 bovinos puros Hartón del Valle, con peso promedio de  $340 \pm 20 \text{ kg}$  peso vivo. Los pesos corporales se consignaron según los estimados a partir de la medición del perímetro torácico con una cinta métrica, según la metodología propuesta por Álvarez (1997). Para el manejo sanitario se desparasitaron cada tres meses y se realizó un plan de vacunación anual para el control de enfermedades reproductivas (IBR, DVB, brucellosis), y otras de registro obligatorio en Colombia (fiebre aftosa y rabia silvestre).

*Alimentación.* Para la dieta base de forraje se utilizaron 6.0 ha en una pradera de pasto *Brachiaria decumbens*, dividida en 14 potreros de  $4.285 \text{ m}^2$ . Se dividió la pradera con cinta eléctrica según el consumo promedio de 15 % de su peso vivo, de acuerdo con los datos del aforo, con una producción de  $0.450 \text{ kg/m}^2$ . Cada potrero se cortó de manera uniforme, de acuerdo con el período de ocupación de cuatro días, a fin de que el forraje ofrecido tuviera la misma edad de rebrote de 56 d de descanso, propio para esta zona. Se sometieron a un período de adaptación de 15 d. Durante el estudio, los animales permanecieron en los potreros asignados desde las 11:00 a.m. hasta las 7:00 a.m. del día siguiente. A partir de las 7:00 a.m. hasta las 11:00 a.m. se llevaron a corrales individuales, donde se les ofreció el suplemento en partes iguales una vez al día, a las 8:00 a.m.

Los animales se alimentaron con una dieta base de pasto *B. decumbens* y se suplementaron a razón de  $1.8 \text{ kg animal}^{-1} \text{ d}^{-1}$ . La proporción de las materias primas del suplemento se exponen en la tabla 1. La dieta suministrada diariamente posibilitó que los animales cubrieran sus requerimientos y obtuvieran una ganancia de peso corporal en el orden de los  $0.5 \text{ kg animal día}^{-1}$

Table 1. Proportion of ingredients in supplements

Ingredients	20 % <i>T. gigantea</i>	20 % <i>P. discolor</i>
<i>T. gigantea</i>	20.00	
<i>P. discolor</i>		20
Corn meal	35.03	43.00
Soy bean cake	0.84	0.20
Wheat bran	37.12	30.30
Palm oil	1.00	0.50
Molasses	5.00	5.00
Microminerals*	1.00	1.00

\*Content micromineral mix: magnesium 10 %, zinc 10 %, iron 10 %, copper 2 %, iodine 0.12 %, selenium 0.06 %, cobalt 0.02 %

T2 (2 kg of supplement with 20% of inclusion of *T. gigantea*) and T3 (2 kg of supplement with 20 % of inclusion of *P. discolor*).

**Chemical analysis.** Samples per species were weighed and subsequently dried in an oven at 60 °C for 48 h and ground in a hammer mill until reaching 1 mm. Later, three samples (200 g sample<sup>-1</sup>) were taken for laboratory analysis. Preparation, drying and weighing of samples was carried out in the biotechnology, soil and water laboratory of SENA, Putumayo regional.

Proximal chemical analyzes were carried out in the laboratory of AGROSAVIA (Cundinamarca). They were calculated according to procedures and recommendations established by AOAC (2016): humidity content (method 930.04), crude protein (CP) according to Kjeldahl (N 6.25) (method 955.04), ashes by calcination at 6000 (method 930.05), ether extract (EE) (method 962.09) and crude fiber (CF) (method 920.39). The metabolizable energy (ME) was determined from the percent of total digestible nutrients (TDN) (Yglesias *et al.* 2015) and NDF and FDA were determined by the method of Goering and van Soest (1970) (table 2).

Food balance was calculated in both treatments

(Ruiz y Menchaca 1990).

**Tratamientos.** T1 control (suplemento convencional), T2 (2 kg suplemento con 20 % de inclusión de *T. gigantea*) y T3 (2 kg suplemento con 20 % de inclusión de *P. discolor*).

**Análisis químicos.** Las muestras por especie se pesaron y posteriormente se secaron en estufa a 60 °C durante 48 h y se trituraron en un molino de martillo hasta alcanzar 1 mm. Posteriormente, se tomaron tres muestras (200 g muestra<sup>-1</sup>) para los análisis de laboratorio. El alistamiento, secado y pesaje de las muestras se realizó en el laboratorio de biotecnología, suelos y agua del SENA, regional Putumayo.

Los análisis químicos proximales de realizaron en el laboratorio de AGROSAVIA (Cundinamarca). Se calcularon de acuerdo con los procedimientos y recomendaciones establecidas por la AOAC (2016): contenido de humedad (método 930.04), proteína bruta (PB) según Kjeldahl (N 6.25) (método 955.04), cenizas por calcinación a 6000 (método 930.05), extracto etéreo (EE) (método 962.09) y fibra bruta (FB) (método 920.39). La energía metabolizable (EM) se determinó a partir del por ciento de nutrientes digestibles totales (NDT) (Yglesias *et al.* 2015) y la FDN y FDA por el método de Goering y van Soest (1970) (tabla 2).

Table 2. Chemical composition of treatments and forage plants

Ingredients	Control	20 % of <i>T. gigantea</i>	20 % of <i>P. discolor</i>	AB*	<i>P. discolor</i>	<i>T. gigantea</i>
Dry matter, %	88.7	89.08	89.81	27.99	28.86	24.23
Ashes %	3.13	3.70	3.80	7.31	8.17	10.03
Ether extract, %	4.96	6.44	6.98	1.95	3.95	2.78
Crude protein, %	11.53	11.50	11.78	6.33	21.51	19.00
Crude fiber, %	3.32	2.95	4.38	33.97	8.63	10.94
Metabolizable energy MJ/kgDM	11.79	11.50	11.76	6.63	10.26	9.63

\* base food with *Brachiaria decumbens* forage

using CALRAC® computer program, version 1.0 of 1996, developed by the Institute of Animal Science (ICA) of the Republic of Cuba. They received an isoenergetic and isoprotein balanced to meet the requirements of heifers according to their weight

El balance alimentario se calculó en ambos tratamientos mediante el programa de computación CALRAC®, versión 1.0 de 1996, desarrollado por el Instituto de Ciencia Animal (ICA) de la República de Cuba. Se balancearon isoenergéticamente e isoproteicamente para

(Trujillo and Pedroso 1989).

*Blood sampling.* Samples were collected by a professional in veterinary medicine from the University of Nariño, from the private laboratory, certified by the Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Scientific and administrative techniques for research in animals were considered for sample collection, management and conservation procedures (Jagos *et al.* 1982). A sample was taken from each animal (four per treatment), at the beginning of supplementation and, later, every 15 d (days 0, 15 and 30) for a total of 36 samples. Sampling was always carried out in the morning, between 6:00 and 7:00 a.m., during fasting. Samples were collected from the coccygeal vein in Vacutainer tubes, without anticoagulant. Once collected, they were taken to the laboratory, where they were centrifuged (3500 rpm) for serum extraction, which was divided into aliquots and frozen (-20°C).

*Response variables and equipment.* The metabolites of urea nitrogen, creatinine, cholesterol, triglycerides, magnesium, calcium and phosphorus were determined for analysis by blood chemistry tests. A BA88A vet MINDRAY® semi-automated equipment was used, and for the Se and Cu tests, one of the Termo Scientific® brand was used. Atomic absorption method was applied. Biochemical tests were carried out immediately after the collection with blood glucose determination using the automated digital Glucometer system (Bayer®, Germany).

*Statistic analysis.* For data processing, the theoretical assumptions of analysis of variance were tested. The normality of errors was determined by Shapiro and Wilk (1965) test. Pearson correlation analysis and Mauchly (1940) sphericity test were applied.

For urea, triglycerides, magnesium, selenium, copper and phosphorus, these assumptions were fulfilled, so a linear mixed model was used, with repeated measures over time, with the help of Proc. MIXED. However, for creatinine, cholesterol, calcium and glucose, these assumptions were not fulfilled and a mixed generalized linear model was applied, with Proc. GLIMMIX. Treatments, samples and the interaction treatment per sampling were considered as fixed effects, and the intercept as random effect. The methodology proposed by Gómez *et al.* (2019) was used for data analysis. Toeplitz (Toep) structure was fitted for all variables. For those that did not meet the assumptions, the distribution of best fit to data was Gamma, with a link function (log). To compare means, Tuckey-Kramer (Kramer 1956) fixed range test was used for  $P < 0.05$ . For data processing, the statistical package SAS (2013), version 9.3, was used.

## Results and Discussion

The analysis of blood metabolites showed interaction ( $P = 0.0009$ ) among treatments and sampling days (table

cumplir con los requerimientos de las novillas de acuerdo con su peso (Trujillo y Pedroso 1989).

*Muestreo de sangre.* Las muestras se recolectaron por un profesional en medicina veterinaria de la Universidad de Nariño, del laboratorio privado, con certificación del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). Para los procedimientos de recolección de muestras, manejo y conservación se tuvieron en cuenta técnicas científicas y administrativas para la investigación en animales (Jagos *et al.* 1982). Se tomó una muestra por cada animal (cuatro por tratamiento), al inicio de la suplementación y después cada 15 d (días 0, 15 y 30) para un total de 36 muestras. El muestreo se llevó a cabo siempre en el horario de la mañana, entre las 6:00 y 7:00 a.m., en ayunas. Las muestras se colectaron de la vena coccígea en tubos Vacutainer, sin anticoagulante. Una vez recogidas, se llevaron al laboratorio, donde se centrifugaron (3500 r.p.m.) para la extracción de suero, que se dividió en alícuotas y se congeló (-20 °C).

*Variables de respuesta y equipos.* Se determinaron los metabolitos nitrógeno ureico, creatinina, colesterol, triglicéridos, magnesio, calcio y fósforo para su análisis mediante pruebas de química sanguínea. Se utilizó un equipo semiautomatizado BA88A vet MINDRAY®, y para las pruebas de Se y Cu se usó uno de la marca Termo Scientific®. Se aplicó el método de absorción atómica. Las pruebas bioquímicas se realizaron inmediatamente después de la colecta con la determinación de glucosa en sangre mediante el sistema digital automatizado Glucometer (Bayer®, Alemania).

*Análisis estadístico.* Para el procesamiento de los datos se probaron los supuestos teóricos del análisis de varianza. La normalidad de los errores se determinó por la dócima de Shapiro y Wilk (1965). Se aplicó el análisis de correlación de Pearson y la prueba de esfericidad de Mauchly (1940).

Para las variables urea, triglicéridos, magnesio, selenio, cobre y fósforo se cumplieron dichos supuestos, por lo que se utilizó un modelo lineal mixto, con medidas repetidas en el tiempo, con ayuda del Proc. MIXED. Sin embargo, para las variables creatinina, colesterol, calcio y glucosa, se incumplieron dichos supuestos y se aplicó un modelo lineal generalizado mixto, con el Proc. GLIMMIX. Se consideraron como efectos fijos los tratamientos, muestreos y la interacción tratamiento por muestreo, y como efecto aleatorio el intercepto. Se utilizó la metodología propuesta por Gómez *et al.* (2019) para el análisis de los datos. Para todas las variables se ajustó la estructura Toeplitz (Toep). Para las que no cumplieron los supuestos, la distribución de mejor ajuste a los datos fue la Gamma, con función de enlace (log). Para comparar las medias, se utilizó la dócima de rango fijo Tuckey-Kramer (Kramer 1956) para  $P < 0.05$ . En el procesamiento de los datos se usó el paquete estadístico SAS (2013), versión 9.3.

## Resultados y Discusión

El análisis de los metabolitos sanguíneos reflejó interacción ( $P = 0.0009$ ) entre tratamientos y días de

3). In the case of cholesterol, values were within the normal range for this species (2.07 to 3.11 mmol L<sup>-1</sup>) (Kaneko *et al.* 2008). Results indicated that, at 30 d of supplementation, values of control and 20 % of *T. gigantea* treatments increased by 1.23 and 1.20 times, respectively, when taking the beginning as a reference. Meanwhile, the treatment with 20% of *P. discolor* did not differ between periods. This treatment decreased its concentration by 19.01 % with respect to control, at 30 d of supplementation.

muestreo (tabla 3). En el caso del colesterol, los valores estuvieron en el rango normal para la especie (2.07 a 3.11 mmol L<sup>-1</sup>) (Kaneko *et al.* 2008). Los resultados indicaron que a los 30 d de suplementación, los valores de los tratamientos control y 20 % de *T. gigantea* se incrementaron en 1.23 y 1.20 veces, respectivamente, al tomar como referencia el inicio. Mientras, el tratamiento con 20 % de *P. discolor* no difirió entre períodos. Este tratamiento disminuyó en 19.01 % su concentración con respecto al control, a los 30 d de suplementación.

Table 3. Cholesterol levels in Hartón del Valle bovines, with different supplements and sampling periods

Variables	Treatments			SE and Sign.	
	Days	Control	20 % of <i>T. gigantea</i>		20 % of <i>P. discolor</i>
Cholesterol	0	1.14 <sup>bcd</sup> (3.13)	1.08 <sup>cd</sup> (2.93)	1.24 <sup>abc</sup> (3.45)	± 0.0374
	15	1.17 <sup>bcd</sup> (3.21)	1.05 <sup>d</sup> (2.85)	1.13 <sup>bcd</sup> (3.10)	P = 0.0009
	30	1.35 <sup>a</sup> (3.84)	1.25 <sup>ab</sup> (3.51)	1.14 <sup>bcd</sup> (3.11)	

<sup>a,b,c,d</sup> Different letters indicate significant differences for P < 0.05

( ) Means adjusted by link function

Results are comparable with the reports of the evaluation of the development of cattle for meat production, in which cholesterol levels of 1.55 - 2.85 mmol L<sup>-1</sup> are indicated (Cordeiro *et al.* 2015) in animals with a mean weight of 405.1 kg, supplemented with glycerol.

Wehrman *et al.* (1991) found that progesterone synthesis (P4) improves in female cattle after supplementing them with fat for 30 d, which is associated with an increase of blood cholesterol concentration. In this regard, results of the present study could be related to the process of supplementation with forage resources, which can keep cholesterol concentrations stable.

For Hawkins *et al.* (1995), cholesterol is a metabolite that is directly related to ovarian function (mandatory precursor of progesterone). Therefore, greater or lesser changes in its concentrations in blood or follicular fluid, could regulate the biosynthesis of this hormone. Similarly, intake decrease influence on the low glucose production and affects cholesterol synthesis and the production of estrogens, since there will be no energy surpluses that can synthesize the precursor of the steroidal hormone (Campos and Hernández 2008).

Hernández *et al.* (2019) reported that higher values can affect homeostasis of the animal, which is explained by an increase of energy. Fatty acids are transformed into acetyl-CoA, and the liver turns them into ketone bodies that some peripheral tissues (brain) use as an energy source. According to Suksombat *et al.* (2017), excessive amounts of ketone bodies produce toxicity, and can undergo condensation in the liver and become  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methyl-glutaryl-CoA, which serves as a source of mevalonate (precursor of cholesterol formed in excess). This explains the results of this research, probably due to the energy imbalance that occurs at the

Los resultados son comparables con los informes de la evaluación del desarrollo de vacunos en producción de carne, donde se señalan niveles de 1.55 - 2.85 mmol L<sup>-1</sup> de colesterol (Cordeiro *et al.* 2015) en animales con peso promedio de 405.1 kg, suplementados con glicerol.

Wehrman *et al.* (1991) encontraron que la síntesis de progesterona (P4) mejora en hembras vacunas después de suplementarlas con grasa durante 30 d, lo que se asocia a un incremento de la concentración de colesterol en sangre. Al respecto, los resultados del presente estudio podrían estar relacionados con el proceso de suplementación con recursos forrajeros, lo que puede mantener estables las concentraciones de colesterol.

Para Hawkins *et al.* (1995), el colesterol es un metabolito que se relaciona directamente con la función ovárica (precursor obligatorio de la progesterona). Por tanto, los cambios en sus concentraciones en sangre o fluido folicular, mayores o menores, podrían regular la biosíntesis de esta hormona. De igual manera, la disminución del consumo incide en la baja producción de glucosa y afecta la síntesis de colesterol y la producción de estrógenos, ya que no habrá excedentes energéticos que puedan sintetizar el precursor de la hormona esteroideal (Campos y Hernández 2008).

Hernández *et al.* (2019) refieren que valores superiores pueden afectar la homeostasis del animal, lo que se explica por un incremento en la energía. Los ácidos grasos se convierten a acetyl-CoA, y el hígado los transforma en cuerpos cetónicos que algunos tejidos periféricos (cerebro) utilizan como fuente de energía. De acuerdo con Suksombat *et al.* (2017), los excesos de cuerpos cetónicos producen toxicidad, y pueden experimentar condensaciones en el hígado y convertirse en  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metil-glutaril-CoA, que sirve como fuente de mevalonato (precursor del colesterol formado en exceso). Esto explica los resultados de

beginning of supplementation.

Results for the rest of metabolites (urea, creatinine, glucose, triglycerides, calcium, phosphorus, copper, selenium and magnesium) showed no interaction. When analyzing the three used supplements, no differences were observed in their concentration (table 4). This is positive, as there are no marked effects on metabolites from the supply of the supplements.

esta investigación, probablemente por el desbalance energético que tiene lugar al inicio de la suplementación.

Los resultados para el resto de los metabolitos (urea, creatinina, glucosa, triglicéridos, calcio, fósforo, cobre, selenio y magnesio) no mostraron interacción. Al analizar los tres suplementos empleados no se observaron diferencias en su concentración (tabla 4). Esto resulta positivo, pues no hay efectos marcados en

Table 4. Metabolic indicators in Hartón del Valle bovines (mmol L<sup>-1</sup>), supplemented with 20 % of *T. gigantea* and *P. discolor*

Variables	Treatments			SE and Sign.
	Control	20 % of <i>T. gigantea</i>	20 % of <i>P. discolor</i>	
Urea	5.76	5.48	5.25	± 0.2378 P = 0.3275
Creatinine	4.90 (133.79)	4.84 (126.74)	4.90 (134.67)	± 0.0425 P = 0.5627
Glucose	1.33 (3.79)	1.32 (3.74)	1.32 (3.75)	± 0.0422 P = 0.9782
Triglycerides	0.70	0.71	0.70	± 0.0272 P = 0.9482
Calcium	1.04 (2.82)	0.99 (2.70)	1.02 (2.78)	± 0.0343 P = 0.6799
Phosphorous	1.66	1.51	1.50	± 0.1058 P = 0.5265
Copper (µmol L <sup>-1</sup> )	8.50	9.41	8.78	± 0.3524 P = 0.1954
Selenium (µmol L <sup>-1</sup> )	0.77	0.75	0.74	± 0.0198 P = 0.5239
Magnesium	0.78	0.81	0.86	± 0.0599 P = 0.5977

( ) Means adjusted by link function

Blood urea values ranged between 5.25 and 5.76 mmol L<sup>-1</sup>, comparable with those reported by Xuan *et al.* (2018), who evaluated different protein contents in the diet and referred 4.46 mmol L<sup>-1</sup> in *Bos indicus* cattle, with a body weight of 178 ± 12.5 kg.

Wang *et al.* (2018), in *B. taurus* cattle, with a conventional diet and weight of 356.4±2.6kg, tested a diet with corn silage that provided 10.66 MJ kg<sup>-1</sup> and 12.2 % of CP. These authors obtained 4.35 mmol L<sup>-1</sup> of urea, inferior value to that achieved in this study, when supplementing with 20% of *P. discolor*.

The creatinine content was among the reference values indicated by Campos *et al.* (2012) for the species (70.80 to 176.99 mmol L<sup>-1</sup>). There was a decrease of 27.17 % at 15 and 30 d with respect to the beginning (P < 0.0001).

Creatinine is an indicator of kidney function and muscle catabolism (Zanferari *et al.* 2015). The found values were similar to those reported by Kim *et al.* (2018), who reported 82.30 mmol L<sup>-1</sup> in *B. taurus* cattle that consumed a diet with 17.2 % of CP. Likewise, they were similar to the 97.35 mmol L<sup>-1</sup> registered in Holstein cows with 256 kg of body weight, which

los metabolitos por el suministro de los suplementos.

Los valores de urea en sangre oscilaron entre 5.25 y 5.76 mmol L<sup>-1</sup>, comparables con los informados por Xuan *et al.* (2018), quienes al evaluar diferentes contenidos de proteína en la dieta refieren 4.46 mmol L<sup>-1</sup> en ganado *Bos indicus*, con peso corporal de 178 ±12.5 kg.

Wang *et al.* (2018) en bovinos *B. taurus*, con dieta convencional y peso de 356.4 ± 2.6 kg, probaron una dieta con ensilaje de maíz que aportó 10.66 MJ kg<sup>-1</sup> y 12.2 % de PB. Estos autores obtuvieron 4.35 mmol L<sup>-1</sup> de urea, valor inferior al que se logró en este estudio, al suplementar con 20 % de *P. discolor*.

El contenido de creatinina estuvo entre los valores de referencia señalados por Campos *et al.* (2012) para la especie (70.80 a 176.99 mmol L<sup>-1</sup>). Hubo disminución de 27.17 % a los 15 y 30 d con respecto al inicio (P < 0.0001).

La creatinina es un indicador de la función renal y del catabolismo muscular (Zanferari *et al.* 2015). Los valores encontrados fueron semejantes a los informados por Kim *et al.* (2018), quienes refirieron 82.30 mmol L<sup>-1</sup> en ganado *B. taurus* que consumió una dieta con 17.2 % de PB. De igual manera, resultaron similares al 97.35 mmol L<sup>-1</sup> registrado en vacas Holstein con

consumed a whole diet of corn silage and ryegrass with 13.4 % of CP.

Regarding glucose, values were between 3.79 and 3.74 mmol L<sup>-1</sup>. This interval is in the range of 2.5-4.16 mmol L<sup>-1</sup> indicated by Campos *et al.* (2004) for *B. taurus* breed. Figures of triglycerides are also in the reference range (from 0 to 1.6 mmol L<sup>-1</sup>), according to Roa *et al.* (2017).

Mean values of studied minerals were within the normal ranges for the species: 2.42 to 3.09 mmol L<sup>-1</sup> for Ca (Kaneko *et al.* 2008), 1.83 ± 0.50 mmol L<sup>-1</sup> for P (Cedeño *et al.* 2011) and 9.45 > µg dL<sup>-1</sup> for Cu (Rosa 2015).

When analyzing the sampling periods (0, 15 and 30 d), differences were registered in the concentration of metabolites urea, creatinine, glucose, triglycerides, calcium, copper, selenium and magnesium (table 5).

256 kg de peso corporal, que consumieron dieta integral de ensilaje de maíz y raigrás con 13.4 % de PB.

Con respecto a la glucosa, los valores estuvieron entre 3.79 y 3.74 mmol L<sup>-1</sup>. Este intervalo se halla en el rango de 2.5-4.16 mmol L<sup>-1</sup> indicado por Campos *et al.* (2004) para la raza *B. taurus*. Las cifras de los triglicéridos se encuentran también en el intervalo de referencia (0 a 1.6 mmol L<sup>-1</sup>), según señalan Roa *et al.* (2017).

Los valores medios de los minerales estudiados estuvieron en los rangos normales para la especie: 2.42 a 3.09 mmol L<sup>-1</sup> para Ca (Kaneko *et al.* 2008), 1.83 ± 0.50 mmol L<sup>-1</sup> para P (Cedeño *et al.* 2011) y 9.45 > µg dL<sup>-1</sup> para Cu (Rosa 2015).

Al analizar los períodos de muestreo (0, 15 y 30 d), se registraron diferencias en la concentración de los metabolitos urea, creatinina, glucosa, triglicéridos, calcio, cobre, selenio y magnesio (tabla 5).

Table 5. Metabolic indicators in Hartón del Valle bovines, according to supplementation time (mmol L<sup>-1</sup>)

Variables	Days			SE and Sign.
	0	15	30	
Urea	7.54 <sup>a</sup>	5.12 <sup>b</sup>	3.83 <sup>c</sup>	± 0.2378 P < 0.0001
Creatinine	5.09 <sup>a</sup> (163.02)	4.77 <sup>b</sup> (118.47)	4.77 <sup>b</sup> (118.23)	± 0.0294 P < 0.0001
Glucose	1.25 <sup>b</sup> (3.48)	1.26 <sup>b</sup> (3.54)	1.46 <sup>a</sup> (4.32)	± 0.0418 P = 0.0025
Triglycerides	0.81 <sup>a</sup>	0.62 <sup>b</sup>	0.69 <sup>b</sup>	± 0.0272 P = 0.0001
Calcium	1.21 <sup>a</sup> (3.37)	0.90 <sup>b</sup> (2.46)	0.94 <sup>b</sup> (2.55)	± 0.0330 P < 0.0001
Phosphorous	1.72	1.51	1.45	± 0.1058 P = 0.2134
Copper (µmol L <sup>-1</sup> )	9.33 <sup>a</sup>	9.53 <sup>a</sup>	7.83 <sup>b</sup>	± 0.3524 P = 0.0038
Selenium (µmol L <sup>-1</sup> )	0.65 <sup>b</sup>	0.82 <sup>a</sup>	0.78 <sup>a</sup>	± 0.0198 P < 0.0001
Magnesium	0.93 <sup>a</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.94 <sup>a</sup>	± 0.0599 P = 0.0032

<sup>a,b,c</sup>Different letters indicate significant differences for P < 0.05

( ) Means adjusted by link function

Regarding the results obtained in the metabolites that were influenced by sampling time, it could be appreciated that, at 30 d, urea concentration decreased (P < 0.0001) by 39.5 % on average, with respect to 0 and 15 d (table 5). The value of urea is within the reference figures (3.83 - 9.66 mmol L<sup>-1</sup>) cited by Guerra *et al.* (2018).

Urea level at the beginning was high in all treatments. However, it began to decrease (P < 0.0001) from day 15 in 32.2 % with respect to the beginning, and the lowest value was shown at 30 d, with 25.2 and 49.2% less compared to the 15 d after the beginning, respectively. It is possible that there was no adequate protein/energy

Con respecto a los resultados obtenidos en los metabolitos que estuvieron influenciados por el tiempo de muestreo, se pudo ver que a los 30 d disminuyó la concentración de urea (P < 0.0001) en 39.5 % como promedio, con respecto a los 0 y 15 d (tabla 5). El valor de la urea se encuentra entre las cifras de referencia (3.83 - 9.66 mmol L<sup>-1</sup>) que citan Guerra *et al.* (2018).

El nivel de urea al inicio fue alto en todos los tratamientos. Sin embargo, comenzó a disminuir (P < 0.0001) a partir del día 15 en 32.2 % con respecto al inicio, y el valor más bajo se mostró a los 30 d, con 25.2 y 49.2 % menos en comparación con los 15 d de inicio, respectivamente. Es posible que no existiera una



relation in the base diet, since animals were grazing with *B. decumbens*, which reported a low energy value (6.36 MJ kg DM<sup>-1</sup>). This causes ammonia levels to increase in the rumen due to low energy availability and, therefore, blood urea levels increase (Portilla *et al.* 2019). Likewise, diets with low levels of non-protein nitrogen and degradable protein in the rumen show reduced digestibility, which decreases the flow of microbial protein (Carrillo *et al.* 2018).

According to Sun *et al.* (2018), the asynchronism in the fermentation of nitrogen and energy sources results in increased absorption of ruminal ammonia in the bloodstream and its conversion to urea in the liver. This probably caused a high biological value at the beginning of this experiment. Hepatic saturation of excess ruminal ammonia requires a caloric expenditure for ruminants of 0.2 Mcal NL/100 g (Blanchard 1990).

When comparing the periods evaluated for glucose (table 5), differences were found with an increase (P=0.0025) in 1.22 times, on day 30 of starting the supplementation, in relation to the 15 days of initiation, which did not differ from each other. On day 30, it was 3.54, superior to the 3.28 mmol L<sup>-1</sup> reported by Akbarian-Tefaghi *et al.* (2018) in cattle with 229.9 kg of body weight, fed with native forages, with 12.0 % of CP and 72.0 % of TDN, which is lower than the 4.75 mmol L<sup>-1</sup> indicated by Amirifard *et al.* (2016). These authors studied essential oil supplements in a diet containing 19.6 % of urea and 23 g kg<sup>-1</sup> of thyme essential oil. Likewise, they are similar to the 3.73 mmol L<sup>-1</sup> obtained in prepartum cows, supplemented in the transition period with a diet with 14.6 % of CP and 1.55 ENL (Mcal kg<sup>-1</sup>) (Kekana *et al.* 2018).

The results found for glucose in this study, favored by the treatment with *P. discolor*, indicate that it is essential for production and release of GnRH at hypothalamic level. It has been demonstrated that with the inhibition of glycolysis at neuronal level, the frequency of LH pulses is lower, due to the inhibition of GnRH synthesis and levels of IGF<sup>-1</sup> (Meléndez and Bartolomé 2017).

The value of triglycerides decreased (P=0.0001) in 19.14 % on average, at 15 and 30 d, compared to the beginning. This could be corroborated in the treatment with *T. gigantea* on day 30. The found results are similar to those reported by Nemati *et al.* (2015), with triglyceride values of 0.21 to 0.30 mmol L<sup>-1</sup>, when measuring the effect of the diet with 19.2% of CP, 2.82 of ME (Mcal kg<sup>-1</sup>) and 12.5% of alfalfa (*Medicago sativa*). They are also similar to those of Roa *et al.* (2017), who indicated 0.68 mmol L<sup>-1</sup> in bovines supplemented with 3.5 kg of *Cratylia argentea*, and the 0.52 mmol L<sup>-1</sup> reported by Galvis *et al.* (2017) in a supplementation with 16.8 % of CP and EE of 5.72 % for cows before parturition.

In this experiment, the values were higher at the beginning of supplementation. It is possible that the

relación proteína/energía adecuada en la dieta base, pues los animales estuvieron en pastoreo con *B. decumbens*, que reportó un valor bajo de energía (6.36 MJ kg MS<sup>-1</sup>). Esto hace que aumenten los niveles de amoníaco en rumen por la baja disponibilidad de energía y, por tanto, se incrementan los niveles de urea en sangre (Portilla *et al.* 2019). De la misma manera, las raciones con bajos niveles de nitrógeno no proteico y proteína degradable en el rumen presentan reducción de la digestibilidad, que disminuye el flujo de proteína microbiana (Carrillo *et al.* 2018).

De acuerdo con Sun *et al.* (2018), el asincronismo en la fermentación de las fuentes de nitrógeno y de energía trae como consecuencia el aumento de la absorción del amoníaco ruminal en el torrente sanguíneo y la conversión a urea en el hígado. Probablemente, esto causó un alto valor biológico al inicio de este experimento. La saturación hepática del exceso de amoníaco ruminal requiere un gasto calórico para los ruminantes de 0.2 Mcal de NL/100 g (Blanchard 1990).

Al comparar los períodos evaluados para glucosa (tabla 5), se encontraron diferencias con incremento (P=0.0025) en 1.22 veces, al día 30 de iniciada la suplementación, con relación a los 15 d de inicio, que no difirieron entre sí. Al día 30 fue de 3.54, valor superior a los 3.28 mmol L<sup>-1</sup> que informaron Akbarian-Tefaghi *et al.* (2018) en bovinos con 229.9 kg de peso corporal, alimentados con forrajes nativos, con 12.0 % de PB y 72.0 % de NDT, lo que resulta inferior a los 4.75 mmol L<sup>-1</sup> que señalan Amirifard *et al.* (2016). Estos autores estudiaron suplementos con aceites esenciales en una dieta que contenía urea al 19.6 % y 23 g kg<sup>-1</sup> de aceite esencial de tomillo. Asimismo, resultan semejantes a los 3.73 mmol L<sup>-1</sup> obtenidos en vacas de parto, suplementadas en el período de transición con una dieta con 14.6 % de PB y 1.55 ENL (Mcal kg<sup>-1</sup>) (Kekana *et al.* 2018).

Los resultados encontrados para la glucosa en este estudio, favorecidos por el tratamiento con *P. discolor*, indican que esta es fundamental para la producción y liberación de GnRH a nivel hipotalámico. Se ha demostrado que al inhibir la glicólisis a nivel neuronal es menor la frecuencia de los pulsos de LH, producto de una inhibición en la síntesis de GnRH y niveles de IGF<sup>-1</sup> (Meléndez y Bartolomé 2017).

El valor de triglicéridos disminuyó (P = 0.0001) en 19.14 % como promedio, a los 15 y 30 d en comparación con el inicio. Esto se pudo corroborar en el tratamiento con *T. gigantea* en el día 30. Los resultados hallados son semejantes a los informados por Nemati *et al.* (2015), con valores de triglicéridos de 0.21 a 0.30 mmol L<sup>-1</sup>, al medir el efecto de la dieta con 19.2 % de PB, 2.82 de EM (Mcal kg<sup>-1</sup>) y 12.5% de alfalfa (*Medicago sativa*). Son también similares a los de Roa *et al.* (2017), quienes señalaron 0.68 mmol L<sup>-1</sup> en bovinos suplementados con 3.5 kg de *Cratylia argentea*, y al de 0.52 mmol L<sup>-1</sup> que reportaron Galvis *et al.* (2017) en una suplementación con 16.8 % de PB y EE de 5.72 % para vacas en parto.

increase of nutrients as energy sources caused the mobilization of triglycerides, due to fat storage in the animal, with a decrease of values (Ntallaris *et al.* 2017).

The values found for the microminerals copper and selenium and magnesium were influenced by the contribution of forage, according to their chemical composition, and by the addition of 1 % of vitamin and mineral premix in the supplement, which could explain the obtained results.

In the case of minerals like phosphorus, no variation was demonstrated with the supplementation time. Calcium decreased 25.7 % ( $P < 0.0001$ ) on average, in days 15 and 30, which did not differ from each other compared to the beginning. Copper did so by 17 %, on days 15 and 30, which did differ. Normocalcemia is related to the adequate entry of the cation and proper functioning of the homeostatic mechanism. In a study carried out with supplementation of 9.7% of CP and 58.2 % of TDN, Ca values of 2.61 mmol L<sup>-1</sup> were announced (Asano *et al.* 2017).

Results for copper were below those reported by Campos *et al.* (2012) in crossbred Taurus heifers, with values of 9.38 mmol L<sup>-1</sup>. Therefore, on days 0 and 15, the values were in the range of normocupremia, which is superior to 9.45 mmol L<sup>-1</sup> (Fazzio 2010). It is important to state that, although no differences were found among treatments, this may indicate that there was a slight copper deficiency.

The previous elements could explain copper insufficiency because the effect of protein in diets accelerates the action of ruminal microorganisms, which originates the formation of sulfates. They are bonded to the iron of soils, which is abundant in this area of the Amazonian piedmont, and forms the iron sulfure, which, according to reports of Arthington and Brown (2005), decreases absorption of copper at ruminal level.

This element has been indicated to be related to synthesis and secretion of gonadotropins, by modulating the ability to release luteinizing hormone (Garrik *et al.* 2003 and Michaluk and Kochman 2007). In this way, nutrition strategies with oligoelements for growing heifers can ultimately determine yield during their productive and reproductive performance (Yatoo *et al.* 2013). This last aspect must be taken into account to include this mineral in supplementation programs and incorporate tree systems to improve soil conditions of the Amazon (Ramírez-Iglesias *et al.* 2020), which justifies the low levels found in this study.

Selenium values increased, on average, by 18.75 %, at 15 and 30 d compared to the beginning. In all cases, they were in the range of reference values reported by Ceballos *et al.* (1999), between 0.06 and 1.24 μmol L<sup>-1</sup>. Regarding magnesium, a decrease of 37.97 % was shown on day 15, in relation to the values of the beginning

En este experimento, los valores fueron superiores al inicio de la suplementación. Es posible que el incremento de nutrientes como fuentes de energía provocara la movilización de triglicéridos, por efecto del almacenamiento de grasa en el animal, con una disminución de los valores (Ntallaris *et al.* 2017).

Los valores encontrados para los microminerales cobre y selenio, y magnesio estuvieron influenciados por el aporte de las forrajeras, de acuerdo con su composición química, y por la adición de 1 % de la premezcla de vitaminas y minerales en el suplemento, lo que pudiera explicar los resultados obtenidos.

En el caso de minerales como el fósforo, no se mostró variación con el tiempo de suplementación. El calcio disminuyó 25.7 % ( $P < 0.0001$ ) como promedio, en los 15 y 30 d, que no difirieron entre sí en comparación con el inicio, y el cobre lo hizo en 17 %, en los días 15 y 30, que sí difirieron. La normocalcemia se relaciona con el ingreso adecuado del catión y el buen funcionamiento del mecanismo homeostático. En un estudio realizado con suplementación de 9.7 % de PC y 58.2 % de NDT se anunciaron valores de Ca de 2.61 mmol L<sup>-1</sup> (Asano *et al.* 2017).

Los resultados para el cobre estuvieron por debajo de los informados por Campos *et al.* (2012) en novillas Taurus mestizas, con valores de 9.38 mmol L<sup>-1</sup>. Por tanto, en los días 0 y 15, los valores estuvieron en el rango de normocupremia, que es mayor a 9.45 mmol L<sup>-1</sup> (Fazzio 2010). Es de destacar que, a pesar de que no se encontraron diferencias entre los tratamientos, esto puede indicar que hubo una leve deficiencia de cobre.

Lo anterior pudiera fundamentar la insuficiencia de cobre, pues el efecto de la proteína en la dieta acelera la acción de los microorganismos del rumen, lo cual origina la formación de sulfatos. Estos se unen al hierro propio de los suelos, que en esta zona del pie de monte amazónico se halla en exceso, y se forma el sulfuro de hierro, el cual según informes de Arthington y Brown (2005) disminuye la absorción del cobre a nivel ruminal.

Se ha señalado que este elemento se relaciona con la síntesis y secreción de las gonadotropinas, al modular la capacidad de liberación de la hormona luteinizante (Garrik *et al.* 2003 y Michaluk y Kochman 2007). De esta manera, las estrategias de nutrición con oligoelementos para novillas en crecimiento pueden determinar, en última instancia, el rendimiento durante su desempeño productivo y reproductivo (Yatoo *et al.* 2013). Este último aspecto se debe tener en cuenta para incluir este mineral en los programas de suplementación e incorporar sistemas arbóreos para mejorar las condiciones de los suelos de la amazonía (Ramírez-Iglesias *et al.* 2020), lo que justifica los niveles bajos encontrados en esta investigación.

Para el selenio, los valores se incrementaron, como promedio, en 18.75 %, a los 15 y 30 d en comparación con el inicio. En todos los casos, estuvieron en el rango de los valores de referencia informados por Ceballos *et al.* (1999), entre 0.06 y 1.24 μmol L<sup>-1</sup>. Con respecto al

and day 30, which did not differ from each other, and are included in the reference values, from 0.74 to 0.95 mmol L<sup>-1</sup> (Kaneko *et al.* 2008).

These results could be compared with those reported by Kang *et al.* (2017), who declared values from 0.82 to 1.03 mmol L<sup>-1</sup> of Mg, when supplementing for 90 days before service, which causes higher pregnancy rates, according to Irabuena *et al.* (2016). Indeed, the values found for this mineral may lead to a decrease of fertility in female bovines due to the effect of embryonic mortality in the first third of gestation (Abbott *et al.* 2019).

### Conclusions

The substitution of 20 % of the conventional supplement for *P. discolor* or *T. gigantea* did not affect the studied blood indicators. However, the increase of supplementation over time improved blood indicators of triglycerides, urea, creatinine and selenium. Thus, supplementation with 20 % of inclusion of *P. discolor* maintained stable cholesterol levels and improved glucose levels in the 30 d of supplementation. It is a viable option to keep a nutritional status in Harton del Valle heifers, under grazing conditions in the Amazon piedemont.

### Acknowledgements

The authors appreciate the support offered by Magaly Herrera, PhD., from the department of Biomathematics, at the Institute of Animal Science, in the processing of statistical data, and the collaboration in the field work of the manager of Villa Lucero Farm, Mrs. Rosa Amelia Quiroz. Gratitude is also expressed to SENA interns, Jenny Riascos and Lina Yurani Quintero, as well as to the SENA National Learning Service and the SENNOVA project biotechnology laboratory, Putumayo region, Colombia.

#### Conflict of interest

The authors declare that there are no conflicts of interests among them

#### Author's contribution

A.R. Riascos-Vallejos: Design and conducting the experiment, data analysis, manuscript writing

J.J Reyes-Gonzales: Design and conducting the experiment, data analysis, manuscript writing

L. Dihigo: Conducting the experiment, manuscript writing

J.P. Narvaez: Design and conducting the experiment, data analysis, manuscript writing

Y. Medina-Mesa: Data analysis, manuscript writing

magnesio, se mostró disminución del 37.97 % en el día 15, con relación a los valores del inicio y día 30, que no difirieron entre sí, y se hallan entre los valores de referencia, de 0.74 a 0.95 mmol L<sup>-1</sup> (Kaneko *et al.* 2008).

Estos resultados se podrían comparar con los informados por Kang *et al.* (2017), quienes declararon valores de 0.82 a 1.03 mmol L<sup>-1</sup> de Mg, al suplementar por 90 d antes del servicio, lo que provoca mayores índices de preñez, según refieren Irabuena *et al.* (2016). En efecto, los valores encontrados para este mineral pueden conducir a la disminución de la fertilidad en la hembra bovina por efecto de la mortalidad embrionaria en el primer tercio de la gestación (Abbott *et al.* 2019).

### Conclusiones

La sustitución de 20 % del suplemento convencional por *P. discolor* o *T. gigantea* no afectó los indicadores sanguíneos estudiados. Sin embargo, el incremento en el tiempo de suplementación mejoró los indicadores sanguíneos de triglicéridos, urea, creatinina y selenio. Así, la suplementación con 20 % de inclusión de *P. discolor* mantuvo los niveles de colesterol estables y mejoró los niveles de glucosa en los 30 d de suplementación. Es una opción viable para mantener un estatus nutricional en novillas Harton del Valle, en las condiciones de alimentación en pastoreo en el pie de monte amazónico.

### Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo ofrecido por la Dra. Magaly Herrera, del grupo de Biomatemática, en el procesamiento de los datos estadísticos, y la colaboración en las labores de campo de la administradora de la Finca Villa Lucero, la Sra. Rosa Amelia Quiroz. Se expresa también gratitud a las pasantes del SENA, Jenny Riascos y Lina Yurani Quintero, así como al Servicio Nacional de Aprendizaje SENA y al laboratorio de biotecnología proyecto SENNOVA, regional Putumayo, Colombia.

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses

#### Contribución de los autores

A.R. Riascos-Vallejos: Diseño y conducción del experimento, análisis de los datos y escritura del manuscrito

J.J Reyes-Gonzales: Diseño y conducción del experimento, análisis de los datos y escritura del manuscrito

L. Dihigo: Conducción del experimento, escritura del manuscrito

J.P. Narvaez: Diseño y conducción del experimento, análisis de los datos y escritura del manuscrito

Y. Medina-Mesa: Análisis de datos y escritura del manuscrito

### References

Abbott, C.R., Payton, R.R., Edwards, J.L., Russell, J.R., Smith, J.K. & Pohler, K.G. 2019. "Effect of complexed trace minerals on cumulus-oocyte complex recovery and in vitro embryo production in beef cattle". *Journal of Animal Science*, 97(4): 1478-1490, ISSN: 1525-3163, DOI: <https://doi.org/10.1093/jas/skz005>.

- Álvarez, J.L. 1997. "La condición corporal en la hembra bovina". *Revista de Salud Animal*, 19(1): 37-45, ISSN: 0253-570X.
- Akbarian-tefaghi, M., Ghasemi, E. & Khorvash, M. 2018. "Performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves fed starter mixtures supplemented with herbal plants, essential oils or monensin". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102: 630-638, ISSN: 1439-0396, DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/jpn.12842>.
- Amirifard, R., Khorvash, M., Forouzmamand, M., Rahmani, H.R., Riasi, A., Malekkhahi, M. & Hosseini-Ghaffari, M. 2016. "Performance and plasma concentration of metabolites in transition dairy cows supplemented with vitamin E and fat". *Journal of Integrative Agriculture*, 15(5): 1076-1084, ISSN: 2095-3119, DOI: [https://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(15\)61090-5](https://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(15)61090-5).
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. 20th Ed. George W. Latimer Jr (ed). Ed. AOAC International, Rockville MD, USA, ISBN: 978-0935-584-875.
- Arthington, J.D. & Brown, W.F. 2005. "Estimation of feeding value of four tropical forage species at two stages of maturity". *Journal of Animal Science*, 83(7): 1726-1731, ISSN: 1525-3163, DOI: <https://doi.org/10.2527/2005.8371726x>.
- Asano, K., Ishida, M. & Ishida, M. 2017. "Effects of inclusion levels of pelleted silvergrass (*Miscanthus sinensis* Andress) in the diet on digestibility, chewing activity, ruminal fermentation and blood metabolites in breeding Japanese Black cows". *Animal Science Journal*, 88(April 2016): 468-475, ISSN: 1740-0929, DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/asj.12665>.
- Blanchard, T., Ferguson, J., Love, L., Takeda, T., Henderson, B., Hasler, J. & Chalupa, W. 1990. "Effect of dietary crude-protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle". *American Journal of Veterinary Research*, 51(6): 905-908, ISSN: 2639-7315.
- Borge, S., Kull, O.H., Krogenæs, A.K. & Oskam, C.I. 2019. Possibilities and Challenges Related to Norwegian Embryo Production in Cattle. Fakultet for Veterinærmedisin, NMBU Veterinærhøgskolen Og Biovitenskap, Institutt for Produksjons Dyr Medisin Ford, Oslo, Norway, pp. 1-53, ISSN: 0104-1169.
- Calderón, P., Fabian, M., Bosa, P., Fernanda, L., Yasnó, C., Diego, J. & Yurany, L. 2017. "Relación nutrición-fertilidad en hembras bovinas en clima tropical". *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(9): 1-19, ISSN: 1695-7504.
- Campos, R., Carreño, E.S. & Gonzales, F.D. 2004. "Perfil metabólico de vacas nativas colombianas". *Revista Orinoquia*, 8(2): 32-41, ISSN: 0121-3709.
- Campos, G.R., García-Alegria, K., Hernández, E.A. & Giraldo-Patiño, L. 2012. "Protein and mineral metabolites for dairy cows during the transition period under tropical conditions". *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(2): 6719-6728, ISSN: 2248-7026.
- Campos, G.R. & Hernández, E.A. 2008. Relación nutrición fertilidad en bovinos. Un Enfoque Bioquímico y Fisiológico. Repositorio Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, pp. 1-57.
- Carrillo, C., Lizandro, G., Cerquera, M., Augusto, C. & Bibiana, O.K. 2018. "Evaluación del parámetro nitrógeno ureico en leche obtenido en un período de siete meses en la Hacienda la Montaña, Antioquia, Colombia". *Revista Electrónica de Veterinaria*, 19(3): 1-10, ISSN: 1695-7504.
- Ceballos A.F., Wittwer, P., Contreras, E., Quiroz, H. & Böhmwald, H.L. 1999. "Actividad de glutatión peroxidasa en bovinos lecheros a pastoreo correlacionada con la concentración sanguínea y plasmática de selenio". *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34(12): 2331-2338, ISSN: 1678-3921, DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X1999001200020>.
- Cedeño-Quevedo, D.A., Ceballos-Marquez, A., Garzón, C. & Daza-Bolaños, C.A. 2011. "A comparative study of metabolic mineral profiles on dairy farms from two regions in Nariño department". *Orinoquia*, 15(2): 160-168, ISSN: 0121-3709.
- Cordeiro, M.B., Peres, M.S., de Souza, J.M., Gaspar, P., Barbieri, F., Sá Filho, M.F. & Membrive, C.M.B. 2015. "Supplementation with sunflower seed increases circulating cholesterol concentrations and potentially impacts on the pregnancy rates in *Bos indicus* beef cattle". *Theriogenology*, 83(9): 1461-1468, ISSN: 0093-691X, DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.01.022>.
- Eugenia, M., Guillen, B., Alejandro, L., Daza, O. & Narváez-Solarte, W. 2018. "Sistemas Silvopastoriles: Alternativa En La Mitigación Y Adaptación de La Producción Bovina Al Cambio Climático". *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 22(1): 31-42, ISSN: 0123-3068, DOI: <https://dx.doi.org/10.17151/bccm.2018.22.1.2>.
- Fazzio, L.E. 2010. Caracterización de terneros de cría con hipocuprosis. PhD Thesis. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Federación Colombiana de Ganaderos (FEDEGAN). 2016. Cifras referenciales del sector ganadero colombiano. Available: <https://estadisticas.fedegan.org.co>.
- Fick, R., Miller, S. & Funk, D. 1976. Métodos de análisis de minerales para tejidos de plantas y animales. Animal Science Department, Center for Tropical Agriculture, University of Florida, Gainesville, Florida, U.S.A., p. 39.
- Forero, L.N.T., Castillo, J.S.B. & Castillo, C.A.B. 2018. "Transformación de las coberturas vegetales y uso del suelo en la llanura amazónica colombiana: el caso de Puerto Leguízamo, Putumayo (Colombia)". *Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía*, 27(2): 286-300, ISSN: 0121-215X.
- Gallego-Castro, L.A. & Mahecha-Ledesma, L. 2017. "Producción, calidad de leche y beneficio: costo de suplementar vacas holstein con *Tithonia diversifolia*". *Agronomía Mesoamericana*, 28(2): 357-370, ISSN: 2215-3608, DOI: <https://dx.doi.org/10.15517/ma.v28i2.25945>.
- Galvis, R.D., Madrid, L.V. & Ramírez-Vásquez, N. 2017. "L-carnitine supplementation decreases hepatic triglyceride 8 accumulation in Holstein cows during the transition period". *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 32(3): 166-174, ISSN: 0120-0690, DOI: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rccp.v32n3a01>.
- Garrik, M.D., Nuñez, M.T., Olivares, M. & Harris, E.D. 2003. "Parallels and contrasts between iron and copper metabolism". *BioMetals*, 16(1): 1-8, ISSN: 1572-8773, DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1020735401734>.
- Goering, H.K. & Van Soest, P.J. 1970. Forage fiber analyses: Apparatus, reagent, procedures and some applications. In: *Agriculture Handbook No. 379*. Ed. U.S.D.A. Agricultural Research Service, Department of Agriculture, United States of

- America, p. 20.
- Gómez, S., Torres, V., García, Y., Herrera, M., Medina, Y. & Rodríguez, R. 2019. "Procedimiento estadístico para el análisis de experimentos con medidas repetidas en el tiempo en la esfera agropecuaria". Cuban Journal of Agricultural Science, 53(4): 353-360, ISSN: 2079-3480.
- Guerra, M.G., Veras, A.S., Santos, V.L., Ferreira, M.A., Novaes, L.P., Barreto, L.M. & Silva, L.R. 2018. "Perfil metabólico proteico de vacas em lactação alimentadas com milho e ureia a pasto". Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 70(4): 1266-1274, ISSN: 1678-4162, DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9677>.
- Hawkins, D.E., Niswender, K.D., Oss, G.M., Moeller, C.L., Odde, K.G., Sawyer, H.R. & Niswender, G.D. 1995. "An increase in serum lipids increases luteal lipid content and alters the disappearance rate of progesterone in cows". Journal of Animal Science, 73(2): 541-545, ISSN: 1525-3163, DOI: <https://doi.org/10.2527/1995.732541x>.
- Hernández, E.A., Gaona, R.C. & Patiño, G. 2019. "Metabolic behaviour in the peripartum period of dairy cows Hartón del Valle creole breed, under tropical conditions". Acta Agronómica, 60(2011): 1-9, ISSN: 0120-2812.
- Holdridge, L.R. 1982. "Determination of world plant formations from simple climatic data". Science, 105(2727): 367-368, ISSN: 1095-9203, DOI: <https://doi.org/10.1126/science.105.2727.367>.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales-IDEAM. 2017. Subdirección de Meteorología. Available: <http://www.ideam.gov.co/web/atencion-y-participacion-ciudadana/publicaciones-ideam>.
- Irabuena, O., Sterla, S., Fernández Abella, D., Betancur, S., Capdevielle, L. & Ferreira, A. 2016. Efecto de la suplementación con selenio sobre el desempeño reproductivo de vacas de segunda cría. 39º Congreso Argentino de Producción Animal, Facultad de Veterinaria UDELAR, Universidad de la República, Salto, Uruguay.
- Jahanian, E., Nanaei, A.H. & Kor, N.M. 2013. "The dietary fatty acids and their effects on reproductive performance of ruminants". European Journal of Experimental Biology, 3(6): 95-97, ISSN: 2248-9215.
- Jagos, P., Bouda, J., Kredl, F. & Pedroso, R. 1982. Los valores bioquímicos y hematológicos de los animales domésticos y las nuevas expresiones de los resultados. CIMA, La Habana, Cuba, p.17.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W. & Bruss, M.L. 2008. Carbohydrate metabolism and its diseases. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Ed. Academic Press. San Diego, California, pp. 46-80.
- Kang, H.J., Lee, I.K., Piao, M.Y., Gu, M.J., Yun, C.H., Kim, H.J., Baik, M. 2016. "Effects of Ambient Temperature on Growth Performance, Blood Metabolites, and Immune Cell Populations in Korean Cattle Steers". Asian Australasian Journal of Animal Science, 29(3): 436-443, ISSN: 1976-5517, DOI: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.15.0937>.
- Kekana, T.W., Nherera-Chokuda, F.V., Muya, M.C. & Manyama, K.M. 2018. "Milk production and blood metabolites of dairy cattle as influenced by thermal-humidity index". Tropical Animal Health and Production, 50(4): 921-924, ISSN: 1573-7438, DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s11250-018-1513>.
- Kim, D.H., Choi, S.H., Park, S.K., Lee, S.S. & Choi, C.W. 2018. "Effect of corn grain particle size on ruminal fermentation and blood metabolites of Holstein steers fed total mixed ration". Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 31(1): 80-85, ISSN: 1976-5517, DOI: <https://dx.doi.org/10.5713/ajas.17.0069>.
- Kramer, C.Y. 1956. "Extension of multiple range tests to group means with unequal numbers of replications". Biometrics, 12(3): 307-310, ISSN: 0006-341X, DOI: <https://doi.org/10.2307/3001469>.
- Kubovičová, E., Makarevič, A., Stádnik, L., Holásek, R. & Hegeđušová, Z. 2013. "Effect of body condition and season on the yield and quality of cattle embryos". Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 2(Special Issue 1): 1426-1435, ISSN: 2299-6818.
- Landínez-Torres, Y.Á. 2017. "Uso y manejo del suelo en la amazonía colombiana". Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia, 12(2): 151-163, ISSN: 1900-9607, DOI: <http://dx.doi.org/10.21615/cesmvz.12.2.6>.
- Lesage-Padilla, A., Forde, N., Poirée, M., Healey, G.D., Giraud-Delville, C., Blanco-Wells, G. & Günther, M.G. 2019. "De crisis, ecologías y transiciones: reflexiones sobre teoría social latinoamericana frente al cambio ambiental global". Revista Colombiana de Sociología, 42(1): 19-40, ISSN: 2256-5485, DOI: <https://doi.org/10.15446/rcs.v42n1.73190>.
- Mauchly, J.W. 1940. "Significance test for sphericity of a normal n-variate distribution". The Annals of Mathematical Statistics, 11(2): 204-209, ISSN: 0003-4851.
- Meléndez, P. & Bartolomé, J. 2017. "Avances sobre nutrición y fertilidad en ganado lechero: Revisión". Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 8(4): 407-417, ISSN: 2448-6698, DOI: <http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v8i4.4160>.
- Michaluk, A. & Kochman, K. 2007. "Involvement of copper in female reproduction". Reproductive Biology, 7(3): 193-205, ISSN: 1642-431X.
- Ntallaris, T., Humblot, P., Båge, R., Sjunnesson, Y., Dupont, J. & Berglund, B. 2017. "Effect of energy balance profiles on metabolic and reproductive response in Holstein and Swedish Red cows". Theriogenology, 90: 276-283, ISSN: 0093-691X, DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.012>.
- Omidi, H., Azarfar, A., Kiani, A., Mirzaei, M. & Ghaffari, M.H. 2018. "Interaction between the physical forms of starter and forage source on growth performance and blood metabolites of Holstein dairy calves". Journal of Dairy Science, 101(7): 6074-6084, ISSN: 1525-3198, DOI: <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-13892>.
- Portilla, D., Barragán, W., Carvajal, C. & Cajas, Y. 2019. "Estimación de la calidad de la dieta en sistemas silvopastoriles mediante la cuantificación del nitrógeno fecal". Revista Colombiana de Ciencia Animal, 11(1), ISSN: 2027-4297, DOI: <https://doi.org/10.24188/recia.v0.n0.2019.691>.
- Ramírez-Iglesias, E., Cuenca, K. & Quizhpe, W. 2020. "Manejo integrado de agroecosistemas en América Latina: Una opción para maximizar la producción resguardando la biodiversidad". Tekhné, 23(1): 1-11, ISSN: 1316 -3930.
- Restrepo, E.M., Rosales, R.B., Xochilt, M., Estrada, F., David, J., Orozco, C. & Rivera, E. 2016. "Es Posible Enfrentar el Cambio Climático y Producir más Leche y Carne con Sistemas Silvopastoriles Intensivos". Ceiba, 54(1): 23-30, ISSN:

- 2225-6687, DOI: <https://dx.doi.org/10.5377/ceiba.v54i1.2774>.
- Roa, V.M.L., Ladino, R.E. & Hernández, M.M. 2017. "Indicadores de bioquímica sanguínea en bovinos suplementados con *Cratylia argentea* y *Saccharomyces cerevisiae*". *Pastos y Forrajes*, 40(2): 144-151, ISSN: 2078-8452.
- Rosa, D.E. 2015. Efecto del cobre durante la maduración de ovocitos bovinos: impacto sobre el desarrollo embrionario preimplantacional. PhD Thesis. Universidad de la Plata, Buenos Aires, Argentina.
- Ruíz, R. & Menchaca, M.A. 1990. "Modelado matemático del consumo voluntario en rumiantes. 2. Principios y método para estimar el consumo potencial de materia seca de los pastos y forrajes tropicales". *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 24(1): 51-59, ISSN: 2079-3472.
- SAS (Statistical Analysis Systems). 2013 *The SAS System for Windows*, Release 9.3. Statistical Analysis Systems Institute, Cary, North Carolina, U.S.A.
- Sena, S., Stéfano, B., Dallago, L., Melgaço, A., Almeida, B. de Zorzan, A. & Bernal, M. 2018. "Hemato-biochemical profile of meat cattle submitted to different types of pre-loading handling and transport times". *Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(1): 90-96, ISSN: 2314-4599, DOI: <https://dx.doi.org/doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.04.002>.
- Shapiro, S. & Wilk, B. 1965. "An analysis of variance test for normality (complete samples)". *Biometrika*, 52(3/4): 591-611, ISSN: 1464-3510, DOI: <https://doi.org/10.2307/2333709>.
- Sotelo, M., Suárez, J.C., Álvarez, F., Castro, A., Calderón, V.H. & Arango, J. 2017. *Sistemas sostenibles de producción ganadera en el contexto amazónico-Sistemas silvopastoriles: ¿una opción viable?* Publicación CIAT No. 448. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia, p. 24, ISBN: 978-958-694-171-6.
- Suksombat, W., Nanon, A., Meeprom, C. & Lounglawan, P. 2017. "Feed degradability, rumen fermentation and blood metabolites in response to essential oil addition to formulated non-lactating dairy cow diets". *Animal Science Journal*, 88(9): 1346-1351, ISSN: 1740-0929, DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/asj.12778>.
- Sun, J., Xu, J., Shen, Y., Wang, M., Yu, L. & Wang, H. 2018. "Effects of different dietary ratio of physically effective neutral detergent fiber and metabolizable glucose on rumen fermentation, blood metabolites and growth performance of 8 to 10-month-old heifers". *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(8): 1230-1237, ISSN: 1011-2367, DOI: <https://dx.doi.org/https://doi.org/10.5713/ajas.17.0885>.
- Trujillo, G.R. & Pedroso, D.M. 1989. *Alimentos para rumiantes. Tablas de valor nutritivo*. Ed. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba.
- Valderrama, R.M. 2003. *Ganado Hartón del Valle. Razas Criollas y Colombianas Puras. Memoria. Convenio 135.01*. Ed. Produmedios. Bogotá, Colombia, pp. 109-118.
- Vann, R., Tucker S., Ray, R. & Baker, F. 2002. "Reproductive efficiency can be influenced through cholesterol profiles in beef heifers fed a high fat cube". *Annual Report. Department of Animal & Dairy Science, University of Georgia, U.S.A.*, pp. 151-156, ISSN: 0022-0302.
- Vera, A. & Riera, L. 2004. *Desarrollo de alternativas silvopastoriles para rehabilitar pastizales en zona norte de la región Amazónica ecuatoriana*. INIAP Estación Experimental Napo-Payamino, El Coca, Ecuador, ISBN:9942-07-114.
- Wang, C.A., Liu, Q.A., Guo, G.A., Huo, W.J.A., Zhang, Y.L.A., Pei, C.X.A. & Wang, H.C. 2018. "Effects of substituting corn with steam-flaked sorghum on growth, digestion and blood metabolites in young cattle fed feedlot diets". *Animal Production Science*, 58(2): 299-306, ISSN: 1836-5787, DOI: <https://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.1071/AN16265>.
- Wehrman, M.E., Welsh, T.H. Jr. & Williams, L.G. 1991. "Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol environment, modulates ovarian follicular dynamics, and hastens the onset of postpartum luteal activity". *Biology of Reproduction*, 45(3): 514-522, ISSN: 0006-3366, DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod45.3.514>.
- Xuan, N.H., Loc, H.T. & Ngu, N.T. 2018. "Blood biochemical profiles of Brahman crossbred cattle supplemented with different protein and energy sources". *Veterinary World*, 11(1): 1021-1024, ISSN: 2231-0916, DOI: <https://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2018.1021-1024>.
- Yatoo, M.I., Saxena, A., Deepa, P.M., Habeab, B.P., Devi, S., Jatav, R.S. & Dimri, U. 2013. "Role of trace elements in animals: a review". *Veterinary World*, 6(12): 963-967, ISSN: 2231-0916.
- Yglesias, A.R., Romero de Armas, R., Ponce de Leon, J.L. 2015. *Nutrición animal*. Ed. Univ. Félix Varela. La Habana, Cuba, ISBN: 978-959-07-1957-8.
- Zanferari, F., del Valle, T.A., Vendramini, T.H.A., Silva, T.H.D., Rentas, M.F., Gardinal, R. & Rennó, F.P. 2015. *Avaliação do uso da creatinina como indicador para estimativas da excreção urinária em vacas leiteiras. Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal*. Ed. 5D. Pirassununga, Sao Paulo, Brasil, ISBN:978-85-60014-36-1.

Received: September 2, 2020

Accepted: November 24, 2020