

Indicadores de bioquímica sanguínea y perfil hormonal en vacas suplementadas con Trébol rojo (*Trifolium pratense*)¹

Carlos Eduardo Rodríguez Molano², Laura Estefanía Niño Monroy³, Néstor Julián Pulido Suárez⁴

Resumen

Introducción: el trébol rojo es una leguminosa usada en la nutrición bovina por su aporte de proteína, actualmente se conoce que produce naturalmente metabolitos secundarios que son similares a los estrógenos, ocasionando alteraciones en la capacidad reproductiva de los animales. **Objetivo:** determinar los efectos del consumo de Trébol rojo sobre el perfil sanguíneo en vacas lecheras en la Granja Tunguavita de la UPTC. **Materiales y Métodos:** se seleccionaron 32 animales con características similares, se dividieron aleatoriamente en cuatro tratamientos: G1: 8 vacas con suplemento de trébol rojo según sus requerimientos, G2: 8 vacas con suplemento de trébol rojo 25% adicional, G3: 8 vacas con suplemento de trébol rojo 50% adicional y G4: ningún suplemento, durante 60 días. Antes de la suplementación, a los 30 y 60 días post suplementación se midieron

variables como estradiol (E2), progesterona (P4), hormona luteinizante (LH), Triglicéridos, triyodotironina (T3), Tiroxina (T4), Insulina, hormona estimulante de la tiroides (TSH), glucosa y nitrógeno ureico en sangre (BUN). **Resultados:** entre los grupos suplementados con Trébol rojo no se observaron diferencias estadísticas; pero con relación al grupo control se evidencia que los valores de estradiol, LH, BUN, TSH y progesterona fueron menor que ($P < 0.05$); por otra parte, los niveles de T3 y T4 mostraron un comportamiento similar durante todo el experimento y se observó un aumento en los valores de insulina y triglicéridos **Conclusiones:** la suplementación con trébol rojo influye negativamente en la conducta reproductiva de vacas lecheras, presentándose valores inferiores en las variables evaluadas.

Palabras claves: reproducción animal, estrógenos, hormonas, nutrición animal.

1 Artículo original derivado del proyecto de investigación: Evaluación del efecto de fitoestrógenos del trébol rojo (*trifolium pratense*) sobre perfil Hormonal en vacas, ejecutado entre las fechas 2017 y 2018. Financiado por la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia

2 Zootecnista, Especialista en Bioquímica, Investigación y Docencia, Magíster en Ciencias Biológicas, PhD(C) en Ciencias Biológicas y Ambientales en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC). Docente Asociado de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la UPTC, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0862-3478>
Correo electrónico: carlos.rodriguez@uptc.edu.co

3 Médico Veterinario Zootecnista, Investigador del Grupo de Investigación en Bioquímica y Nutrición Animal, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4056-5351>
Correo electrónico: estefaniamonroy1994@gmail.com

4 Médico Veterinario Zootecnista, Magíster en Ciencias Veterinarias en la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Investigador del Grupo de Investigación en Bioquímica y Nutrición Animal, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5226-7602>, Correo electrónico: nestor.pulido@uptc.edu.co

Autor para Correspondencia: Carlos Eduardo Rodríguez Molano, correo: carlos.rodriguez@uptc.edu.co
Recibido: 10/07/2019 Aceptado: 20/11/2020

Evaluation of the consumption of red clover (*trifolium pratense*) on the blood profile in dairy cows

Abstract

Introduction: red clover is a legume that has been used in bovine nutrition for its contribution of protein, is now known to naturally produce secondary metabolites that are like the estrogens of mammals, causing alterations in the reproductive capacity of animals. **Objective:** determine the effects of red clover consumption on blood profile in dairy cows on the farm Tinguavita of the UPTC. **Materials and Methods:** 32 animals with similar characteristics were selected, they were randomly divided into four treatments: T1: 8 cows with red clover supplement according to their requirements, T2: 8 cows with extra red clover supplement 25%, T3: 8 cows with extra red clover supplement 50% and T4: no supplement, for 60 days. Before supplementation, at 30- and 60-days post-supplementation, variables such as estradiol (E2), progesterone (P4), luteinizing hormone (LH), triglycerides, triiodothyronine (T3), thyroxine (T4), insulin, stimulating hormone were measured the thyroid (TSH), glucose and blood urea nitrogen (BUN). **Results:** among the groups supplemented with Red Clover, no statistical differences were observed; but in relation to the control group it is evident that the values of estradiol, LH, BUN, TSH and progesterone were lower than ($P < 0.05$); On the other hand, the levels of T3 and T4 showed a similar behavior throughout the experiment and an increase in the values of insulin and triglycerides was observed **Conclusions:** the supplementation with red clover has a negative effect on the reproductive behavior of dairy cows, presenting lower values in the variables evaluated.

Keywords: animal reproduction, estrogens, hormones, animal nutrition.

Avaliação do consumo de trevo-vermelho (*trifolium pratense*) no perfil sanguíneo em vacas leiteiras

Resumo

Introdução: o trevo vermelho é uma leguminosa que tem sido utilizada na nutrição bovina por sua contribuição de proteína, atualmente conhecida por produzir naturalmente metabólitos secundários que são similares aos estrogênios dos mamíferos, causando alterações na capacidade reprodutiva dos animais. **Objetivo:** determinar os efeitos do consumo de trevo vermelho no perfil sanguíneo em vacas leiteiras na Fazenda Tinguavita da UPTC. **Materiais e Métodos:** foram selecionados 32 animais com características semelhantes, divididos aleatoriamente em quatro tratamentos: T1: 8 vacas com suplemento de trevo vermelho de acordo com suas necessidades, T2: 8 vacas com suplemento de trevo vermelho, 25% adicionais, T3: 8 vacas com Suplemento adicional de 50% de trevo vermelho e T4: sem suplemento, por 60 dias. Antes da suplementação, aos 30 e 60 dias pós-suplementação, foram medidas variáveis como estradiol (E2), progesterona (P4), hormônio luteinizante (LH), triglicérides, triiodotironina (T3), tiroxina (T4), insulina, hormônio estimulante a tiróide (TSH), glicose e nitrogênio ureico no sangue (BUN). **Resultados:** entre os grupos suplementados com Red Clover, não foram observadas diferenças estatísticas; mas em relação ao grupo controle, é evidente que os valores de estradiol, LH, BUN, TSH e progesterona foram menores que ($P < 0,05$); Por outro lado, os níveis de T3 e T4 apresentaram comportamento semelhante ao longo do experimento e observou-se aumento nos valores de insulina e triglicérides. **Conclusões:** a suplementação com trevo vermelho tem efeito negativo sobre o comportamento reprodutivo de

vacas leiteiras, apresentando valores inferiores nas variáveis avaliadas.

Palavras-chave: reprodução animal, estrogênios, hormônios, nutrição animal.

Introducción

Los índices reproductivos en ganaderías especializadas son deficientes, con tasas de preñez muy bajas, con intervalos entre partos amplios y con mayor presentación de desórdenes fisiológicos, los cuales pueden ser afectados por factores intrínsecos y extrínsecos como son: la raza, problemas sanitarios, el manejo del hato, alimentación, factores climáticos como la temperatura, la humedad y la radiación solar (Verdoljak *et al.* 2017). Hoy en día es de conocimiento general la importancia de la nutrición en el desempeño productivo y reproductivo del hato, debido a que en múltiples ocasiones la presencia de alteraciones fisiológicas a nivel reproductivo, no siempre es encaminado al manejo, sino a la presencia de componentes secundarios en los alimentos suministrados los cuales pueden realizar efectos similares a las de las hormonas esteroides, como es el caso de los fitoestrógenos (Pérez-Rivero *et al.* 2007; Swanepoel *et al.* 2020).

Los fitoestrógenos, son moléculas producidas naturalmente en algunas plantas y forrajes, comprenden: isoflavonas (daidzeína, genisteína, biochanina A, gliciteína), coumestanos (coumestrol), lignanos (enterodiol y enterolactona) y flavonoides (naringenina), siendo las fuentes más abundantes las legumbres, frutas y leguminosas como trébol, alfalfa, soya, cascarilla de semilla de linaza y centeno (Cortés *et al.* 2016; Gur & Sikka, 2018). Considerando que los estrógenos endógenos poseen acción agonista sobre los receptores alfa y antagonista sobre los receptores beta, los fitoestrógenos presentes en las leguminosas usadas para suplementar a los bovinos tienen la capacidad de

unirse a estos receptores estrogénicos, lo pueden generar efectos opuestos o similares según al receptor al cual se unan (Carrillo & Cely, 2016). A raíz de esto, radica la importancia de evaluar y analizar los componentes y efectos de los alimentos consumidos por los animales, ya que algunas legumbres suministradas normalmente como es el caso del trébol rojo, contienen altas cantidades de estos componentes generando problemas reproductivos subclínicos (Sanin, Gómez & Morales, 2010). Este estudio, se realizó con el fin de determinar los efectos del consumo de Trébol rojo (*Trifolium pratense*) sobre los niveles séricos de Estradiol (E2), Hormona Luteinizante (LH), Triglicéridos, Triyodotironina (T3), Tiroxina (T4), Insulina, Hormona Estimulante de la tiroides (TSH), Glucosa, Nitrógeno Ureico en Sangre (BUN) en vacas productoras de leche.

Materiales y métodos

Localización geográfica: el estudio se realizó en La Granja Experimental Tanguavita de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia (UPTC), situada en el Municipio de Paipa (Boyacá), vereda El Salitre, a una Altura de 2480 m.s.n.m., temperatura promedio de 14°C, precipitación media de 966 mm y con humedad relativa media de 74,9% (Ideam estación No. 2403517).

Población y Muestra: se seleccionaron 32 vacas raza Holsteín, con una condición corporal 3,5-3,75 y que se encontraran en el primer tercio de la lactancia garantizando la homogeneidad del grupo, además con esquema de vacunación completa y libres de enfermedades reproductivas.

Los animales durante el estudio recibieron una dieta en pastoreo a base de Kikuyo (*Cenchrus clandestinus*, Hochst. ex Chiov.) con una edad de 45 días aproximadamente y un porcentaje de proteína del 9% acompañado de un suministro permanente de sal mineralizada (Somex® 11%), y agua a voluntad.

Material Vegetal: el trébol rojo (*Trifolium pratense*), se obtuvo de la Granja Tunguavita recolectada de forma manual y secado en un invernadero, el cual se acondiciono previamente para este proceso. Al tener el material completamente seco, se procedió a triturar en un molino eléctrico (Cre-Masco®, São Paulo), para obtener la harina, la cual fue empacada en bultos de 50 kg, para ser suministrada a los animales.

Se realizó análisis bromatológico en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, mediante el método descrito por (Church & Pond, 2002) en “Fundamentos de Nutrición y Alimentación de animales”, previo a la realización del estudio y sin posteriores repeticiones, evaluándose variables como: proteína cruda (%PC), humedad, cenizas (%CZ), extracto etéreo (%E.E.), fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA).

Tratamientos y Suplementación de los Animales: los animales objeto de estudio

se seleccionaron y distribuyeron al azar en cuatro grupos:

Grupo 1: 8 vacas a las cuales se les suministró suplemento de Trébol Rojo de acuerdo al peso y requerimientos de proteína.

Grupo 2: 8 vacas a las cuales se les suministró 25% adicional de suplemento de trébol rojo de acuerdo a sus requerimientos.

Grupo 3: 8 vacas a las cuales se les suministró 50% adicional de suplemento de trébol rojo de acuerdo a sus requerimientos.

Grupo 4: 8 vacas a las cuales no se les suministró ningún suplemento.

Todos los días se realizaron preparaciones del suplemento, adicionando agua-melaza con el fin de aumentar la palatabilidad y sobre todo homogeneizar la mezcla, favoreciendo así su consumo total. La dieta suplemento se suministró por un periodo de 60 días, en recipientes individuales en cantidad suficiente para llenar los requerimientos del animal de acuerdo a los valores obtenidos al aplicar los parámetros establecidos para tal fin por el National Research Council (NRC) de 1989, según lo reportado (Elizondo, 2002).

Tabla N°1. Cantidades promedio de suplemento de Trébol Rojo para cada tratamiento

Unidad Experimental	Peso Promedio	Consumo Ms Promedio (kg)	Requerimientos de Proteína Promedio (g)	Aporte Proteína pastoreo (g)	Déficit de Proteína Promedio (g)	Cantidad de Suplemento día Promedio (g)
Grupo 1	497,50	13,93	1760,58	1295,49	465,09	2397,37
Grupo 2	500,00	14,00	1761,63	1302,00	459,63	2961,56
Grupo 3	503,75	14,11	1763,21	1311,77	451,45	3490,59
Grupo 4	495,00	13,86	1759,53	1288,98	470,55	0,00

Fuente: elaborado por autores

Toma de muestras

Se tomaron muestras de sangre mediante venopunción en tubos de vacío que contenían anticoagulante (EDTA) de la vena yugular, antes de suplementar a los animales, a los 30 y 60 días post suplementación con el objetivo de analizar las siguientes variables:

- **Hormona Estimulante de la tiroides (TSH):** la sangre obtenida se centrifugó durante 10 minutos a 1500 rpm y posteriormente fue extraído el suero. Para la determinación de los niveles de TSH se utilizó la técnica automática TSH (ADVIA Centaur), inmunoensayo tipo sándwich de dos puntos que utiliza tecnología quimioluminométrica directa, y cantidades constantes de dos anticuerpos (Bayer, 2005).
- **Tiroxina (T4):** Se realizó la técnica automática T4 (ADVIA Centaur) que es un inmunoensayo competitivo que utiliza una tecnología de quimioluminiscencia directa; la T4 de la muestra compete con la T4 que está acoplada de forma covalente a partículas paramagnéticas en la fase sólida. (Bayer, 2005).
- **Triyodotironina (T3):** El método de medición de T3 fue similar al de T4, en donde la T3 de la muestra compete con una T3 análoga (Bayer, 2005).
- **Glucosa** se determinó mediante el método Spinreact®, donde La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H₂O₂), producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-ampirona en presencia de peroxidasa (POD). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada (Spinreact, 2015)
- **Nitrógeno ureico en la sangre (BUN):** La metodología empleada está basada en la reacción descrita por primera vez por Talke y Schubert, en donde la urea es hidrolizada por ureasa para producir amonio y dióxido de carbono. El amonio liberado reacciona con Ketoglutarato en la presencia de NADH para producir glutamato. En este proceso, una cantidad equimolar de NADH, pasa por oxidación durante la reacción resultando en una disminución en absorbancia, la cual es directamente proporcional a la concentración de nitrógeno de urea en la muestra.
- **Insulina** se determinó por el método ELISA de monobind, ensayo monoenzimométrico, que incluye anticuerpos de alta afinidad y especificidad, con diferentes y distintos reconocimientos de epitopes diferentes y antígeno nativo (Monobind Inc, 2010).
- **Triglicéridos:** Se analizaron por métodos calorimétricos tanto químicos como enzimáticos mediante un auto analizador. Todos los métodos empleados implicaron dos procesos: Hidrólisis de los triglicéridos para formar glicerol y ácidos grasos.
- **Hormona luteinizante, Estradiol y Progesterona:** se realizó la técnica de Inmunoensayo enzimático, utilizando kits de específicos para cada hormona. Este método comprende una fase de incubación de una mezcla de la muestra, y una parte sólida acoplada a un anticuerpo específico para dicho esteroide; separación de la parte sólida y la mezcla; medición de la cantidad de marcador presente en la mezcla y en la parte sólida y determinación de la cantidad de esteroide en la muestra a partir de la cantidad de marcador. La concentración de cada hormona se determinó mediante un

espectrofotocolorímetro y los resultados de las hormonas esteroideas en el suero se reportan pg/ml.

con trébol rojo tienden a permanecer entre 2,37 y 3,75 pg/ml a lo largo del tiempo, mientras el control aumenta de 1,8 a 2,8 y final a 4,2 pg/ml.

Análisis estadístico

En este experimento se utilizó un diseño completamente al azar, con la aplicación de un análisis de varianza (ANOVA), para comprobar si existen diferencias estadísticas en los promedios de las variables. Se utilizó la prueba de comparación de promedios de Tukey con un nivel de significancia del 5%, para analizar las diferencias estadísticas. El paquete estadístico usado fue SPSS.

Resultados

En el análisis bromatológico del trébol rojo (*Trifolium pratense*), se observó: 63,8% de humedad, 19,4% PC, 2,5% E.E, 51,3% FDN, 42,2% FDA y 10,4% de CZ.

Estradiol: En la Figura 1, se presentan los valores promedios de estradiol obtenidos en cada uno de los tratamientos, y en los diferentes tiempos de medición: 0 días, 30 días y 60 días; donde se aprecia que por lo menos hay un promedio diferente. Los valores de estradiol

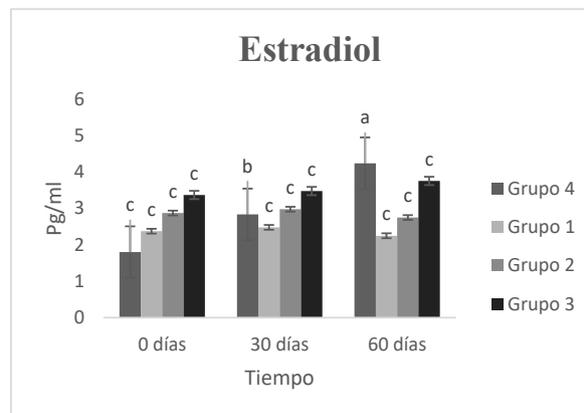


Figura 1. Valores promedio de estradiol en el tiempo de estudio

*Letras diferentes, representan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$); \pm error estándar ($n=8$).

Hormona Luteinizante: En la Tabla N°2, se observan los valores de la LH, en donde se evidencia que por lo menos hay un promedio diferente. Los valores de LH con trébol rojo tienden a permanecer constantes entre 2,6 y 4,6 UI/ml a lo largo del tiempo, mientras el control aumenta de 2,87 a 5,46 y final a 6,65 UI/ml.

Tabla N°2. Valores promedio de la Hormona Luteinizante e insulina en el tiempo de estudio

HORMONA LUTEINIZANTE (UI/ml)				
Tiempo	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
0 días	2,67 \pm 0,19 c	3,17 \pm 0,11 c	3,70 \pm 0,20 c	2,87 \pm 0,30 c
30 días	3,65 \pm 0,22 b	4,15 \pm 0,28 b	4,65 \pm 0,24 b	5,46 \pm 0,34 b
60 días	3,70 \pm 0,20 b	4,65 \pm 0,41 b	4,74 \pm 0,11 b	6,66 \pm 0,27 a
INSULINA (UI/ml)				
0 días	24,27 \pm 1,19 c	24,78 \pm 1,83 c	25,30 \pm 1,25 c	21,93 \pm 1,27 c
30 días	26,09 \pm 0,73 c	26,59 \pm 0,42 c	27,09 \pm 0,67 c	24,06 \pm 1,42 c
60 días	26,47 \pm 0,92 c	26,97 \pm 1,42 c	27,50 \pm 1,11 c	24,05 \pm 0,90 c

*Letras diferentes, representan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$); \pm error estándar ($n=8$).

Con relación a la insulina, se observa que los valores son estadísticamente iguales en los tres tiempos tanto para el grupo control como para los tres tratamientos con trébol rojo (Tabla N°2).

Glucosa: La figura 2, muestra los valores promedio en relación con la glucosa e indica que no se presentan diferencias significativas entre los diferentes tiempos y tratamientos.

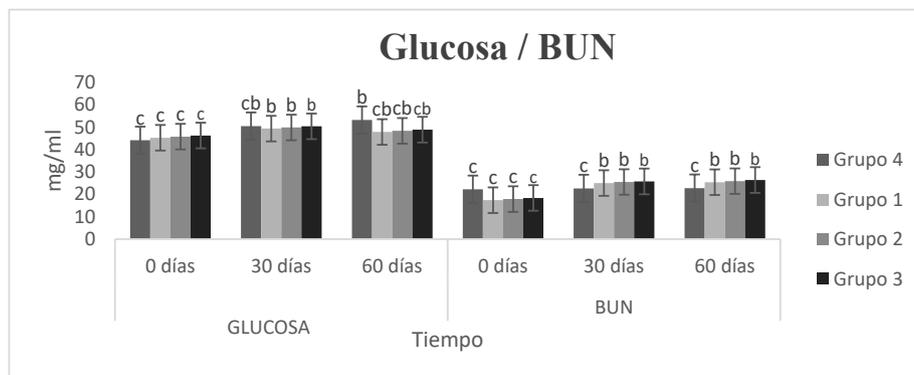


Figura 2. Valores promedio de Glucosa (a) y BUN (b) en el tiempo de estudio

*Letras diferentes, representan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$); \pm error estándar ($n=8$).

BUN: el análisis de varianza realizado se evidencia la presencia de diferencias estadísticas en los promedios. En el tiempo inicial el valor de BUN es menor con los grupos con trébol rojo y el control es más alto, (Figura 2).

Triglicéridos: no se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos, pero se evidencio que las vacas que recibieron la suplementación con trébol rojo mostraron niveles más bajos de triglicéridos, que las vacas que no recibieron suplementación (Tabla N°3)

Tabla N°3. Valores promedio de Triglicéridos, T4 y T3 en el tiempo de estudio

TRIGLICERIDOS (mmol/L)				
Tiempo	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
0 días	0,25 \pm 0,03 c	0,27 \pm 0,03 c	0,30 \pm 0,02 c	0,32 \pm 0,04 c
30 días	0,3 \pm 0,04 c	0,32 \pm 0,04 c	0,33 \pm 0,03 c	0,39 \pm 0,03 c
60 días	0,32 \pm 0,87 c	0,34 \pm 0,03 c	0,36 \pm 0,03 c	0,39 \pm 0,02 c
T4 (mmol/L)				
0 días	88,75 \pm 8,31 c	89,25 \pm 8,51 c	89,75 \pm 8,37 c	68,63 \pm 10,68 c
30 días	89,75 \pm 6,76 c	90,25 \pm 5,36 c	90,75 \pm 5,89 c	88,63 \pm 8,36 c
60 días	97,75 \pm 3,26 c	98,25 \pm 4,47 c	98,75 \pm 3,92 c	85,25 \pm 2,42 c
T3 (mmol/L)				
0 días	1,30 \pm 0,10 c	1,31 \pm 0,12 c	1,30 \pm 0,09 c	1,30 \pm 0,09 c
30 días	1,14 \pm 0,09 c	1,05 \pm 0,08 c	1,31 \pm 0,09 c	1,36 \pm 0,09 c
60 días	1,30 \pm 0,07 c	1,29 \pm 0,08 c	1,33 \pm 0,06 c	1,36 \pm 0,05 c

*Letras diferentes, representan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$); \pm error estándar ($n=8$).

Los valores de T4 y T3 en los tres tiempos son estadísticamente iguales, pero, con respecto con la T4 se evidencio que en el tiempo inicial los grupos de trébol rojo son más altos en relación con el grupo control (Tabla N°3).

TSH: Se indica que por lo menos hay un promedio diferente. Los valores promedio de TSH con trébol rojo tienden a permanecer constantes entre 2,33 y 3,76 a lo largo del tiempo, mientras que el grupo control inicia con el nivel más bajo de 1,91 a 2,50 y final a 5,32.

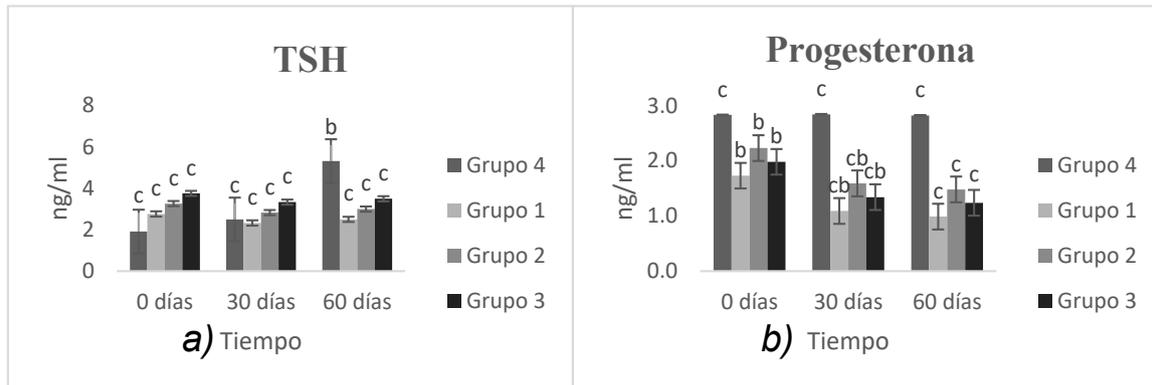


Figura 3. Valores promedios de TSH (a) y progesterona (b) en el tiempo de estudio

*Letras diferentes en la misma fila, representan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ($p < 0,05$); \pm error estándar ($n=8$).

Progesterona: se observa que en relación con el grupo control este mantiene constante en los tres tiempos, mientras que los grupos que fueron suplementados con trébol rojo se evidencia el descenso de los niveles en el tiempo siendo menor su concentración con respecto al grupo control (Figura 3).

Discusión

Los contenidos de proteína cruda para trébol rojo obtenida en esta investigación, no concuerda con los obtenidos por Martínez et al. (2018), realizado en los municipios de tuta (Boyacá) y Mosquera, donde se evidencia que los valores para PC oscilan en un rango entre 24,10 a 29,67 %, el bajo nivel de PC pudo deberse al nivel de fertilización que tenía las

pasturas y una baja disponibilidad de nutrientes en el suelo (Apraez, Gálvez & Jojoa 2014).

Con respecto a los niveles séricos de estradiol, se evidencio que las vacas que recibieron suplementación adicional con trébol mostraron niveles más bajos en relación con las que no fueron suplementadas, una posible causa de esto es la presentación del síndrome hiperestrogénico por el consumo de grandes cantidades de fitoestrógenos del tipo cumarinas e isoflavinas provenientes de materiales vegetales como tréboles, alfalfa, soya entre otros (Romero et al. 1997; Sanin et al. 2010).

Los valores de LH reportados en el estudio se encuentran dentro de los rangos normales, no obstante, las vacas que recibieron suplementación adicional con trébol mostraron niveles más bajos de LH, que las vacas que no

recibieron suplementación; estos bajos niveles pueden presentarse cuando las vacas poseen un déficit de energía al inicio de la lactancia (Campos & Hernández, 2008). Por otro lado, McGarvey *et al.* (2001), en un estudio realizado en ratas afirma que la supresión de los picos de la hormona luteinizante es debido a la presencia de fitoestrógenos.

Los valores de la insulina plasmática no presentaron diferencias significativas lo que contrasta con los resultados de otro estudio (Galvis *et al.* 2003;), del mismo modo, otro estudio evaluó la ingesta de genisteína, dando como resultado la disminución de glucosa e insulina sérica (Atteritano *et al.* 2007).

Los niveles de glucosa en las vacas suplementadas con trébol mostraron niveles similares de glucosa a las no suplementadas, resultados que no concuerdan con lo expresado por Campos & Hernández (2008), quienes manifiestan que, al tener un consumo bajo de energía, también disminuye la producción de glucosa, conllevando así a una baja en la producción de estrógenos.

Por otro lado, se evidencia como los niveles de BUN en los animales suplementados se encuentran más altos en relación con las no suplementadas. En otros estudios realizados se relacionó que las concentraciones del BUN superiores a 19 mg / dL se asociaron con tasas de fertilidad disminuidas (Butler *et al.* 1996; López & Bacallao, 2010). Además, altos niveles del BUN pueden derivar hacia las secreciones naturales de los oviductos y endometrio produciendo problemas en la fertilidad o la presentación de muerte embrionaria debido a su toxicidad (Calderón *et al.* 2017).

Los triglicéridos, son muy buenos indicadores del consumo energético del animal y por ende de su balance energético (Osorio & Vinazco, 2010), tal así que los resultados

obtenidos demuestran que al inicio de la lactancia cuando los niveles de producción de leche son más altos, la concentración tanto de triglicéridos presenta valores bajos y se incrementa con el avance de la lactancia.

Las concentraciones sanguíneas de T3 y T4 en bovinos se encuentran entre los rangos de 0.8–1.9 mmol/L y de 57 – 119 mmol/L (Matamoros *et al.*, 2003), por lo cual se puede concluir que los valores obtenidos en este estudio se encuentran entre rangos normales, además de la actividad adecuada de la glándula tiroideas que es importante para el buen funcionamiento de las vías metabólicas, cumpliendo funciones fundamentales en el crecimiento y desarrollo del sistema nervioso, la termorregulación, la hematopoyesis y la circulación, la reproducción y el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos (Osorio *et al.* 2014).

Conclusiones

El trébol rojo posee metabolitos secundarios como es el caso de los fitoestrógenos, los cuales tienen la posibilidad de ser agonistas o antagonistas estrogénicos, y sus efectos varían desde la infertilidad hasta una sobre respuesta estrogénica, en cualquier especie animal. En la actualidad el consumo de fitoestrógenos en los animales de producción representa una problemática ya que se asocia a la presencia de alteraciones reproductivas en los animales de manera subclínica, generando dificultad en el diagnóstico y por ende la perpetuación del problema en las producciones. A raíz de esto se vio la necesidad de revisar y analizar cada uno de los alimentos consumidos por los animales como posibles factores que afectan la reproducción. En este estudio se evidenció que los animales a los cuales se les suministro suplementos de trébol rojo en diferentes concentraciones presentaron alteraciones a nivel de los valores hormonales.

Agradecimientos

A la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Granja Experimental Tinguavita, Dirección de Investigaciones, Laboratorio de Nutrición Animal y Grupo de Investigación de Bioquímica y Nutrición Animal.

Referencias

- Apraez, J. E., Gálvez, A., & Jojoa, C. (2014). Valoración nutricional y emisión de gases de algunos recursos forrajeros del trópico de altura. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 31(2), 122-134.
- Atteritano, M., Marini, H., Minutoli, L., Polito, F., Bitto, A., Altavilla, D. & Frisina, A. (2007). Effects of the phytoestrogen genistein on some predictors of cardiovascular risk in osteopenic, postmenopausal women: a two-year randomized, double-blind, placebo-controlled study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(8), 3068-3075.
- Bayer, H. C. (2005). *Manuales de ensayos de ADVIA centaur*. Mumbai: Bayer Cropscience.
- Butler, W. R., Calaman, J. J., & Beam, S. W. (1996). Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of animal science*, 74(4), 858-865.
- Calderón, M. F. P., Bosa, L. F. P., Yasnó, J. D. C., & Saldaña, L. Y. M. (2017). Relación nutrición-fertilidad en hembras bovinas en clima tropical. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(9), 1-19.
- Campos, G. R. & Hernández, E. (2008). Relación Nutrición fertilidad en bovinos, un enfoque Bioquímico y fisiológico. *Un enfoque hacia el entendimiento de los mecanismos fisiológicos, nutricionales y bioquímicos de las limitantes reproductivas de origen nutricional*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 57.
- Carrillo, A. C., & Cely, C. S. L. (2016). Efectos de la inclusión de dietas ricas en flavonoides en la calidad de la leche bovina. *Revista de Medicina Veterinaria*, (31), 137-150.
- Church, D., & Pond, W. (2002). *Fundamentos de Nutrición Animal*. Wiley.
- Cortés, A., León, J., Jiménez, F., Díaz, M., Villanueva, A., & Guzmán, C. (2016). Alimentos funcionales, alfalfa y fitoestrógenos. *Revista Mutis*, 6(1), 28-40.
- Elizondo, J. (2002). Estimación lineal de los requerimientos nutricionales del NRC para ganado de leche. *Agronomía Mesoamericana*, 13(1), 41-44.
- Galvis, R. D., Correa, H. J., & Ramírez, N. (2003). Interacciones entre el balance nutricional, los indicadores del metabolismo energético y proteico y las concentraciones plasmáticas de Insulina, e IGF-1 en vacas en lactancia temprana. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 16(3), 237-248.
- Gur, S., & Sikka, S. C. (2018). Environmental Risk Factors Related to Male Reproductive Health in Turkish Society. In *Bioenvironmental Issues Affecting Men's Reproductive and Sexual Health*, 41-52.
- López, R. G., & Bacallao, Y. (2010). Influencia de la concentración de urea en plasma en la gestación y componentes lácteos para las condiciones del trópico. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 44(1), 19-21.
- Martínez, J. D. J. V., Alarcón, A. M. S., Cruz, J. B., Avellaneda, Y. A., Mogollón, O. M.,

- & Nieto, C. J. A. (2018). Establecimiento y producción de raigrás y tréboles en dos regiones del trópico alto colombiano. *Agronomía Mesoamericana*, 29(1), 177-191.
- Matamoros, R., Contreras, P. A., Wittwer, F., & Mayorga, M. I. (2003). Hipotiroidismo en rumiantes. *Archivos de medicina veterinaria*, 35(1), 1-11.
- McGarvey, C., Cates, P. S., Brooks, A. N., Swanson, I. A., Milligan, S. R., Coen, C. W., & O'Byrne, K. T. (2001). Phytoestrogens and gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity and pituitary luteinizing hormone release in the rat. *Endocrinology*, 142(3), 1202-1208.
- Monobind Inc (2010). Insulina. Accu Bind. ELISA Microwells.
- Osorio, J. H., & Vinazco, J. (2010). El metabolismo lipídico bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas. *Biosalud*, 9(2), 56-66.
- Osorio, J. H., Rodríguez, J. V., & Suárez, Y. J. (2014). Hormonas Tiroideas En Bovinos: Artículo De Revisión. *Normas Editoriales*, 76.
- Pérez-Rivero, J. J., Aguilar-Setién, A., Martínez-Maya, J. J., Pérez-Martínez, M., & Serrano, H. (2007). Los fitoestrógenos y el efecto de su consumo en diferentes órganos y sistemas de animales domésticos. *Agricultura Técnica*, 67(3), 325-331.
- Romero, C., Tarrago, R., Muñoz, R., Arista, R., & Rosado, A. (1997). Síndrome estrogénico en vacas lecheras por consumo de alfalfas con grandes cantidades de coumestrol. *Vet. Mex*, 28, 25-30.
- Sanin, Y. Y. L., Gómez, M. T. G., & Morales, A. M. T. (2010). Efectos de los fitoestrógenos en la Reproducción Animal. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 63(2), 5555-5565.
- Spinreact (2015). Glucose-HK_R1. Safety Data Sheet.
- Swanepoel, N., Robinson, P. H., & Conley, A. (2020). Impacts of substitution of canola meal with soybean meal, with and without ruminally protected methionine, on production, reproduction and health of early lactation multiparous Holstein cows through 160 days in milk. *Animal Feed Science and Technology*, 264, 114494.
- Verdoljak, J., María, P., Gándara, L., Acosta, F., Fernández-López, C., & Martínez-González, J. (2017). Reproducción y mortalidad de razas bovinas en clima subtropical de Argentina. *Abanico veterinario*, 8(1), 28-35.