

Ganancia de peso y cambios lipídicos en suero de vacas “de invernada” suplementadas con pulpa de cítricos en Argentina

Weight gain and serum lipidic changes in citrus pulp supplemented wintering cows in Argentina

José Antonio Coppo*
Norma Beatriz Mussart*
María Antonia Revidatti**
Adriana Capellari**
Juan Marcelo Navamuel*
Santiago Alejo Fioranelli*

Abstract

In order to corroborate the effect of a citrus by-product on weight and serum lipids, 80 wintering half-bred zebu cows maintained on native grassland were used. For two consecutive years, 20 animals operated as controls (C) and another 20 were supplemented (S) with fresh citrus pulp (15 ± 3 kg/animal, during 4 months). Periodic controls were carried out at 0, 30, 60, 90 and 120 days. The obtained values were statistically processed using a repeated measures design with mean comparisons by orthogonal contrasts. When comparing with C, final statistics for every year indicated that S registered higher levels ($P < 0.05$) of total cholesterol (3.46 vs 2.70 and 3.32 vs 2.15 mmol/l), lipoprotein α (89.2 vs 82.7 and 90.0 vs 85.1%), HDL-C (2.31 vs 1.79 and 2.41 vs 1.58 mmol/l), and triglycerides (0.55 vs 0.42 and 0.45 vs 0.35 mmol/l), as well as major weight gains (492 vs 304 and 352 vs loss of 73 g/animal/day). Differences between C and S began to be significant by days 60-90 of the study. Citrus pulp energetic supply did not cause undesirable secondary effects, but the physiological lipid profile was modified in supplemented cows.

Key words: NUTRITION, “WINTERING” COWS, CITRUS PULP SUPPLEMENTATION, WEIGHT GAINS, SERUM LIPIDS.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue verificar el efecto de la suplementación con pulpa de cítricos sobre el peso y los lípidos séricos de vacas de invernada cruce cebú ($n = 80$) mantenidas sobre pastura natural. En dos años consecutivos 20 animales operaron como testigos (C) y otros 20 fueron suplementados (S) con pulpa fresca de cítricos (15 ± 3 kg/animal, durante cuatro meses); el control se llevó a cabo a los 0, 30, 60, 90 y 120 días. Los valores obtenidos fueron procesados estadísticamente usando un diseño de medidas repetidas con comparación de medias por contrastes octagonales. Al hacer la comparación con c, las estadísticas finales para cada año indicaron que en S se registraron más altos niveles ($P < 0.05$) de colesterol total (3.46 vs 2.70 y 3.32 vs 2.15 mmol/l), lipoproteína α (89.2 vs 82.7 y 90.0 vs 85.1%), HDL-C (2.31 vs 1.79 y 2.41 vs 1.58 mmol/l) y triglicéridos (0.55 vs 0.42 y 0.45 vs 0.35 mmol/l), así como mayores ganancias de peso (492 vs 304 y 352 vs pérdida de 73 g/animal/día).

Recibido el 12 de abril de 2003 y aceptado el 3 de septiembre de 2003.

* Departamento de Ciencias Básicas, Cátedra de Fisiología.

** Departamento de Producción Animal, Cátedra de Zootecnia General, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel. 03783-425753. E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

Las diferencias entre C y S empezaron a ser significativas en los días 60-90 del estudio. El aporte energético de la pulpa de citrus no causó efectos secundarios indeseables, pero modificó el perfil lipídico fisiológico en las vacas suplementadas.

Palabras clave: NUTRICIÓN, VACAS “DE INVERNADA”, SUPLEMENTACIÓN, PULPA DE CITRUS, GANANCIAS DE PESO, LÍPIDOS SÉRICOS.

Introduction

Energy-protein supplementation using inexpensive regional by-products was identified as one of the main demands of the cattle sector in a survey conducted by a national institution linked to agricultural technology (INTA) in northeastern Argentina.¹

The area has plenty of citrus plantations, as well as fruit juice factories. Citrus pulp is a by-product of citric juice industries. It has high energy value as ruminant food,² with approximately 80% of total digestible nutrients in dry matter.³ However, due to limited protein concentration, it is necessary to add nitrogen from another source when the diet is being balanced for growing animals.^{4,5}

Currently, that region has about 10 million cattle, half of which are bred in the Corrientes province. The seasonal growth of native grassland is the main obstacle for regional livestock development, and average meat production is about 30 kg/ha/year. Most of the year, native grasses have low nutritive value, with dry matter digestibility lower than 50% and significant energy-protein deficiencies in winter, with protein levels of 4% and metabolizable energy rates of 1.8 to 2 Mcal/kg DM.⁶

Half-bred zebu cattle are the most abundant in the area; they are a rustic cross-breed which are more efficient using nutrients than other bovine breeds.⁷ “Wintering” cows are culled and sold after fattening. Since it is necessary to reduce stocking rates on native grassland in late autumn, these animals are sold, after they have weaned the last calf, for canned meat, which has a lower price on the market. In order to optimize economic yield, the current strategy consists of improving the animals winter feed through supplementation, thus obtaining a fattened cow in early spring, when the price of this type of cattle increases.⁸

Fattening implies an increase in corporal fat.⁹ Frequently, the corporal lipid increase is accompanied by increased triglycerides and cholesterol in blood, as well as by plasmatic lipoprotein modifications.¹⁰ Both from absorption, through the intestine, as well as through biosynthesis in some organs, like the liver, lipids are

Introducción

La suplementación energético-proteínica con subproductos regionales de bajo costo fue identificada como una de las principales demandas del sector ganadero del nordeste argentino, en un estudio llevado a cabo por una institución nacional vinculada con la tecnología agropecuaria (INTA).¹

En la zona existen numerosas plantaciones de citrus, así como industrias que elaboran jugos de frutas. La pulpa de cítricos es un residuo de la manufactura de jugos. Posee alto valor energético para la alimentación de rumiantes,² con aproximadamente 80% de nutrimentos digeribles totales en la materia seca.³ Sin embargo, debido a su limitada concentración proteínica, requiere la adición nitrogenada de otra fuente cuando la dieta está siendo balanceada para animales en crecimiento.^{4,5}

Actualmente en la región existen unos diez millones de bovinos, la mitad son criados en la provincia de Corrientes. El crecimiento estacional de las pasturas naturales constituye el principal obstáculo para el desarrollo de la ganadería regional, y el promedio de producción de carne es de aproximadamente 30 kg/ha/año. Durante la mayor parte del año, la pastura natural registra bajos valores nutritivos, con digestibilidad de materia seca menor a 50% y pronunciada deficiencia energético-proteínica en invierno, con niveles proteínicos de 4% y tasas de energía metabolizable entre 1.8 y 2 Mcal/kg MS.⁶

El ganado cruza cebú es abundante en la zona; comparado con otras razas, se caracteriza por su rusticidad y mayor eficiencia en la utilización de nutrimentos.⁷ Las vacas “de invernada” son ejemplares de descarte que serán vendidos después de la engorda. Debido a la necesidad de reducir el rodeo mantenido sobre pastura natural a finales de otoño, estos animales son vendidos después de destetar su último ternero, como carne para conserva, de menor precio en el mercado. Con el propósito de optimizar el rendimiento económico, la estrategia actual consiste en mejorar la alimentación invernal suplementando a los animales para obtener vacas engordadas al inicio de la primavera, cuando aumenta el precio de este tipo de ganado.⁸

Engordar implica aumentar la cantidad de grasa corporal.⁹ Frecuentemente el aumento de lípidos corporales es acompañado por incremento de triglicéridos

transported towards peripheral tissues by plasma and lymph joined to lipoproteins. These allow the transport of lipids in a watery environment solubilized by means of proteins.¹¹

Lipoproteins are spherical particles with a neutral lipid core, composed of triglycerides and cholesterol esters, and a surface made up of apoproteins in association with cholesterol and phospholipids. Lipoproteins are the protein-lipid complexes that carry triglycerides, cholesterol, cholesterol esters and phospholipids in plasma. Major classes isolated by electrophoresis have been designated, by a system which is analogous to that used for other plasma proteins, as *a*, *b*, and pre-*b* lipoprotein, the latter being very scarce in adult ruminants. When separated on the basis of density by ultracentrifugation, the classes have been named on the basis of their relative densities: high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL) and very low density lipoprotein (VLDL).¹²⁻¹⁴

Lipoproteic metabolism reveals similar characteristics between animal species, but it is not exactly the same in any of them. Ruminants, as well as equines, canines, felines and rats, possess an "HDL pattern", characterized by the prevalence of lipoprotein *a* in plasma. When these animals are fed fatty diets, the cholesterol is captured by HDL (instead of LDL), thus avoiding noxious effects due to the protective action attributable to HDL. Humans, pigs, rabbits, hamsters, and several species of monkeys, respond to an "LDL pattern", characterized by an increase in lipoprotein *b*, and greater atherogenic risk, when excessively fatty diets are consumed.¹⁴ Data on cattle lipid and lipoprotein behavior during fattening with a high energy feed, as in the case of citrus pulp, is incomplete.

The purpose of this study was to investigate eventual plasma lipidic and body liveweight modifications in half-bred zebu "wintering" cows grazing on native grassland and supplemented exclusively with citrus by-products (without addition of nitrogen), in a subtropical area characterized by scarce quality and quantity of grass.

Material and methods

The assays were carried out in the Bella Vista Department of the Corrientes province in Argentina. A total of 80 "wintering" cows (British x Zebu cross-breed), maintained in parcels with a homogeneous quantity and quality of native grassland, were used. The animals were clinically healthy and their body condition score (BCS, scale 1-9) was, on average, 3.7 ± 0.9 in the first year and 3.6 ± 0.7 in the second year. Twenty cull-type cows were supplemented for four months (au-

dos y colesterol en sangre, así como por modificaciones de lipoproteínas plasmáticas.¹⁰ Tanto a partir del sitio de absorción intestinal como de los órganos que efectúan su biosíntesis, como el hígado, los lípidos son transportados hacia los tejidos periféricos por el plasma y la linfa, unidos a lipoproteínas. Éstas permiten el transporte de lípidos a través de un medio acuoso, los hacen solubles por medio de las proteínas.¹¹

Las lipoproteínas son partículas esféricas que poseen un núcleo de lípidos neutros, compuesto por triglicéridos y ésteres de colesterol, y una superficie donde las apoproteínas se asocian con colesterol y fosfolípidos; asimismo, son complejos proteínico-lipídicos que acarrean triglicéridos, colesterol, ésteres de colesterol y fosfolípidos en el plasma. Las principales clases de lipoproteínas aisladas por electroforesis han sido denominadas mediante un sistema análogo al utilizado para otras proteínas plasmáticas, como *a*, *b* y pre-*ab* lipoproteínas, la última de las cuales es muy escasa en rumiantes adultos. Cuando son separadas con base en la densidad de ultracentrifugación, las clases se denominan por sus densidades relativas: lipoproteínas de alta densidad (HDL), de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL).¹²⁻¹⁴

El metabolismo lipoproteínico revela características similares entre especies animales, pero no es exactamente igual en todas ellas. Los rumiantes, equinos, caninos, felinos y ratas, poseen "patrón HDL", caracterizado por el predominio de lipoproteína *a* en el plasma. Cuando estos animales son alimentados con dietas grasas, el colesterol es captado por HDL (en lugar de LDL), evitándose efectos nocivos debido a la acción protectora atribuible a HDL. Seres humanos, cerdos, conejos, marmotas y varias especies de monos, responden al "patrón LDL", caracterizado por el aumento de lipoproteína *b* y mayor riesgo aterogénico, cuando se consumen dietas excesivamente grasas.¹⁴ Escasos datos abordan la modificación de lípidos y lipoproteínas séricas durante el engorde del ganado con suplementos altamente energéticos, como la pulpa de cítricos.

El propósito de este estudio fue investigar eventuales modificaciones de los lípidos plasmáticos y el peso de vacas "de invernada" cruce cebú alimentadas con pastura natural y suplementadas exclusivamente con pulpa de cítricos (sin adición de nitrógeno), en una zona subtropical caracterizada por la escasa cantidad y calidad de pastos.

Material y métodos

Los ensayos se llevaron a cabo en el Departamento Bella Vista, provincia de Corrientes, Argentina. Se utilizaron 80 vacas "de invernada" (cruce Cebú x Británico), mantenidas en parcelas con homogénea cantidad y calidad de pastura natural. Los animales estaban clínicamente sanos y su condición corporal (CC, escala 1-9) fue, en promedio, 3.7 ± 0.9 en el primer año y 3.6 ± 0.7 en el

tumn-winter) with 15 ± 3 kg/animal/day of fresh citrus pulp (supplemented group, S), while the remaining 20 (control group, C) did not receive any supplementation. The same procedure was carried out the following year, with other animals of similar characteristics.

In both the first and second year, studies began in late autumn (month of June). Both groups stayed on native pasture, with a stocking rate of 0.6 animal/ha in a continuous grassing system, where the predominant species were *Paspalum notatum*, *Paspalum dilatatum*, *Desmodium* sp, *Trifolium* sp, *Andropogon lateralis*, *Sorghastrum agrostoides*, *Schizachirium spicatum*, *Aristida* sp, *Vicia* sp, *Acacia coven*, *Celtis spinosa*, and *Geofroea decorticans*. Native pastures had an average of 2 200 kg of DM/ha during the first year, and 1 800 kg of DM/ha in the second year,¹⁵ with 48% DM in vitro digestibility, and levels of crude protein ranging from 4% to 6% and with 1.7 to 1.8 Mcal of ME/kg of DM. Daily quantity of consumed pasture,¹⁶ on average, was 11 kg MS/animal during the first year and 9 kg MS/animal during the second year.

The citrus pulp offered contained 7.6% of crude protein, 17.7% of crude fiber, 4.5% of ether extract, 4.5% of ash, 65.7% of nitrogen-free extract, 0.17% of phosphorous, 0.54% of calcium, 0.03% of sodium, 0.50% of potassium, 725 mg/kg of magnesium, 15 mg/kg of manganese, 78 mg/kg of zinc, 83 mg/kg of iron and 15 mg/kg of copper, and 3.62 Mcal/kg DM (15.5% of gross energy).

Both groups were weighed, and blood samples by jugular venepuncture were collected at days 0, 30, 60, 90 and 120. Clotted blood was centrifuged (700 g, 10 min) in order to obtain serum, which was kept at 4°C until assayed. Measures of total cholesterol (oxidase-peroxidase technique, 505 nm),* triglycerides (lipase-peroxidase method, 546 nm),** and cholesterol bound to high and low density lipoproteins, HDL-C and LDL-C (precipitation of selective lipoprotein and cholesterol enzymatic determination by the previously described method),*** were performed in a Gilford-Beckman photometer.† Lipoproteins _a and _b were separated by electrophoresis in a Chemar CHF-I-3 apparatus,† on support of agarose gel,‡ with veronal buffer.° The fractions were stained with Fat-Red 7B°° and valued in a Citocon 440 densitometer.°°°

Statistically, initial homogeneity was corroborated by the overlapping of confidence intervals (CI \pm 95%) and distributive normality was verified by a Wilk-Shapiro test (WS). Parametric descriptive statistics included indicators of central tendency (arithmetic mean, \bar{x}) and dispersion (standard deviation, SD). The analysis of variance for repeated

segundo. Veinte vacas de descarte fueron suplementadas durante cuatro meses (otoño-invierno) con pulpa fresca de cítricos a razón de 15 ± 3 kg/animal/día (grupo suplementado, S), mientras que las 20 restantes no recibieron suplementación (grupo testigo, C). El mismo procedimiento se llevó a cabo al año siguiente, con otros animales de similares características.

En sendos años, los estudios comenzaron al final del otoño (junio). Ambos grupos permanecieron sobre pastura natural, con una carga media de 0.6 animal/ha, en un sistema de pastoreo continuo donde las especies predominantes fueron *Paspalum notatum*, *Paspalum dilatatum*, *Desmodium* sp, *Trifolium* sp, *Andropogon lateralis*, *Sorghastrum agrostoides*, *Schizachirium spicatum*, *Aristida* sp, *Vicia* sp, *Acacia coven*, *Celtis spinosa* y *Geofroea decorticans*. Las pasturas nativas registraron un promedio de 2 200 kg/MS/ha durante el primer año y 1 800 kg/MS/ha en el segundo,¹⁵ con 48% de digestibilidad in vitro de MS y niveles de proteína cruda que oscilaron entre 4% y 6%, así como EM de 1.7 a 1.8 Mcal/kg MS. La cantidad diaria de pasto consumido¹⁶ fue, en promedio, de 11 kg MS/animal durante el primer año y 9 kg MS/animal durante el segundo.

La pulpa de cítricos ofrecida contenía 7.6% de proteína cruda, 17.7% de fibra cruda, 4.5% de extracto etéreo, 4.5% de cenizas, 65.7% de extracto no nitrogenado, 0.17% de fósforo, 0.54% de calcio, 0.03% de sodio, 0.50% de potasio, 725 mg/kg de magnesio, 15 mg/kg de manganeso, 78 mg/kg de cinc, 83 mg/kg de hierro y 15 mg/kg de cobre, con 3.62 Mcal/kg MS (15.5% de energía bruta).

Ambos grupos fueron sometidos a pesajes y extracciones de sangre por venopunción yugular, a los 0, 30, 60, 90 y 120 días. El coágulo sanguíneo fue centrifugado (700 g, 10 min) para obtener suero, el cual se preservó a 4°C hasta ser analizado. Las determinaciones de colesterol total (técnica de la oxidasa-peroxidasa, 505 nm),* triglicéridos (método de la lipasa-peroxidasa, 546 nm),** y colesterol ligado a lipoproteínas de alta y baja densidad, HDL-C y LDL-C (precipitación selectiva de la lipoproteína y determinación enzimática de colesterol por el método previamente descrito),*** se realizaron en un fotómetro Gilford-Beckman.† Las lipoproteínas _a y _b fueron separadas por electroforesis en un aparato Chemar CHF-I-3,† en soporte de gel de agarosa,‡ con amortiguador de veronal.° Las fracciones fueron coloreadas con Fat-Red 7B°° y valoradas en un densitómetro Citocon 440.°°°

Estadísticamente la homogeneidad inicial fue corroborada por superposición de intervalos de confianza (IC \pm

* Wiener Lab, Riobamba 2944, Rosario, Argentina.

** GT-Lab, Necochea 3274, Rosario, Argentina.

*** Gilford Instruments, Oberlin, Ohio, 44074, USA.

† Chemar S.A., Irala 1509, Buenos Aires, Argentina.

‡ Sigma, P.O. Box 14508, St. Louis, MO 63178, USA.

° Merck, 64271 Darmstadt, Alemania.

°° Biopur SRL, Riccheri 195, Rosario, Argentina.

°°° Citocon, Solís 1127, Buenos Aires, Argentina.

Cuadro 1
VARIACIONES DEL PESO Y PARÁMETROS LÍPIDICOS DEL SUERO EN VACAS SUPLEMENTADAS (S) Y TESTIGOS (C)
VARIATION OF WEIGHT AND SERUM LIPID PARAMETERS IN SUPPLEMENTED (S) AND CONTROL (C) COWS

Parameter	Lot	Year 1		Year 2	
		Initial (n = 20)	Final (n = 20)	Initial (n = 20)	Final (n = 20)
Weight (kg)	C	406.5 ± 33.2	443.0 ± 28.5	383.8 ± 37.6	375.0 ± 35.3
	S	428.0 ± 39.3	487.1 ± 31.8	390.5 ± 30.8	432.8 ± 25.9
Tot.cholesterol (mmol/L)	C	2.91 ± 0.54	2.70 ± 0.31	2.52 ± 0.44	2.15 ± 0.28
	S	2.99 ± 0.49	3.46 ± 0.65	2.62 ± 0.36	3.32 ± 0.62
Lipoprotein α (%)	C	86.4 ± 3.7	82.7 ± 2.9	87.7 ± 3.5	85.1 ± 3.0
	S	85.8 ± 3.3	89.2 ± 4.1	86.2 ± 3.3	90.0 ± 4.3
Lipoprotein β (%)	C	13.6 ± 1.9	17.3 ± 2.8	12.3 ± 1.8	14.9 ± 2.4
	S	14.2 ± 2.3	10.8 ± 1.7	13.8 ± 2.1	10.0 ± 1.6
HDL-C (mmol/L)	C	1.89 ± 0.33	1.79 ± 0.31	1.79 ± 0.26	1.58 ± 0.33
	S	1.82 ± 0.31	2.31 ± 0.36	1.69 ± 0.31	2.41 ± 0.83
LDL-C (mmol/L)	C	0.49 ± 0.08	0.41 ± 0.13	0.39 ± 0.05	0.31 ± 0.05
	S	0.59 ± 0.15	0.52 ± 0.10	0.36 ± 0.11	0.33 ± 0.07
Triglycerides (mmol/L)	C	0.45 ± 0.10	0.42 ± 0.12	0.41 ± 0.11	0.35 ± 0.10
	S	0.51 ± 0.13	0.55 ± 0.15	0.38 ± 0.16	0.45 ± 0.13

Values expressed in arithmetic mean ± standard deviation.

Initial: day 0; Final: day 120 of supplementation.

measures (ANOVA), included the statistical significance for the effects of treatment (supplementation) and time (assay lapse), as well as the interaction between them. With the aim of determining the time at which the differences between C and S began to be significant (P), post-ANOVA means comparison by orthogonal contrasts were carried out. An $\alpha = 5\%$ ($P < 0.05$), was fixed for all inferences, below which the null hypothesis of equality was rejected.

Results

Values obtained coincide with the reference interval for this cross-breed, age of the animals, feeding type and geographical area. For each parameter, initial values were statistically homogeneous ($CI \pm 95\%$) and distribution was approximately normal (WS). Descriptive statistics for each parameter studied in supplemented and control groups in the two consecutive years are shown in Table 1. Final weights, in both assays, were significantly superior in the supplemented group than in control animals. In the first year, liveweight gains were 36.5 kg in C (304 g/animal/day) and 59.1 kg in S (492 g/animal/day). In the second year, control cows lost weight (-8.8 kg) while supplemented

95%) y la normalidad distributiva fue verificada por la prueba de Wilk-Shapiro (WS). Las estadísticas descriptivas paramétricas incluyeron indicadores de tendencia central (media aritmética, \bar{x}) y dispersión (desvío estándar, SD). El análisis de la varianza para medidas repetidas (ANOVA) incluyó la significación estadística para los efectos tratamiento (suplementación) y tiempo (lapso de ensayo), así como la interacción entre ambos. Con el objeto de determinar el momento en que las diferencias entre C y S comenzaron a ser significativas (P), la comparación de medias post-ANOVA se realizó mediante contrastes ortogonales. Para todas las inferencias fue fijado $\alpha = 5\%$ ($P < 0.05$), por debajo del cual se rechazó la hipótesis nula de igualdad.

Resultados

Los valores obtenidos encuadran en el intervalo de referencia para esta craza, edad de los animales, tipo de alimentación y zona geográfica. Para cada parámetro, los valores iniciales fueron estadísticamente homogéneos ($IC \pm 95\%$) y la distribución fue aproximadamente normal (WS). Las estadísticas descriptivas para cada parámetro estudiado en los grupos suplementados y testigos, en los dos años consecutivos, se observan en el Cuadro 1. Los pesos finales, en ambos ensayos, fueron significativamente más altos en el grupo suplementado que en los

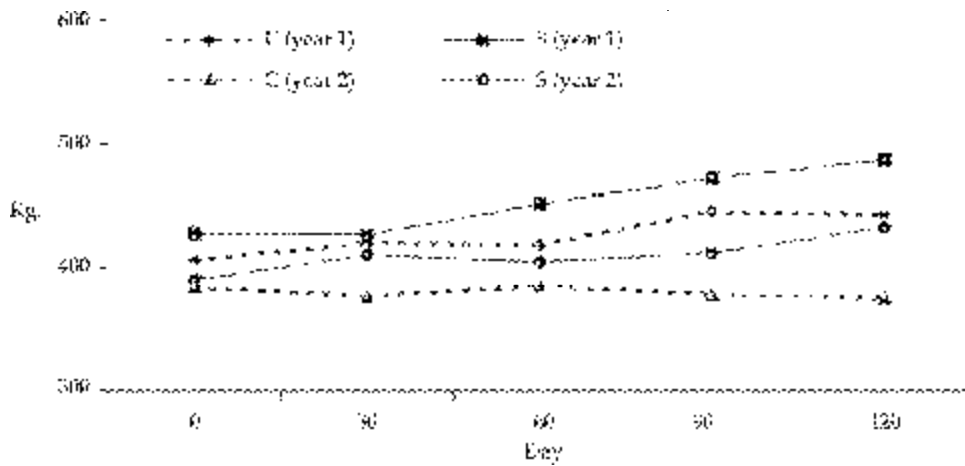


Figura 1. Cambios del peso en vacas suplementadas (S) y testigos (C).
Weight changes in supplemented (S) and control (C) animals.

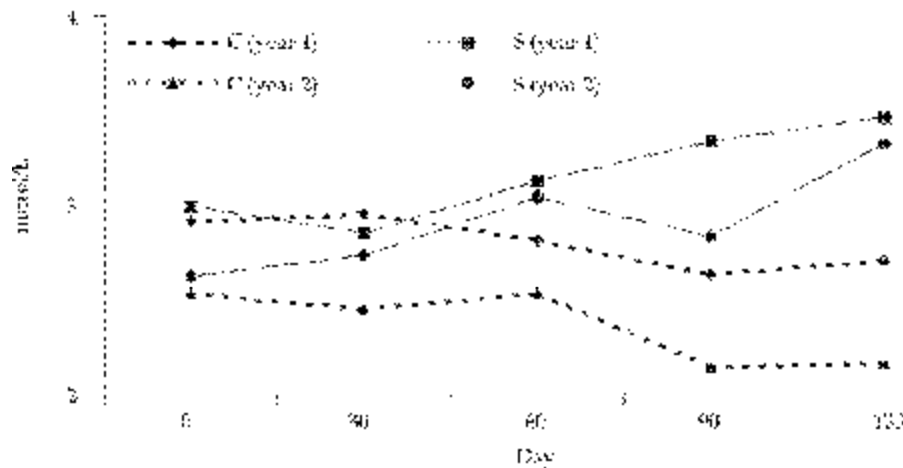


Figura 2. Modificaciones del colesterol en animales suplementados (S) y testigos (C).
Cholesterol changes in supplemented (S) and control (C) animals.

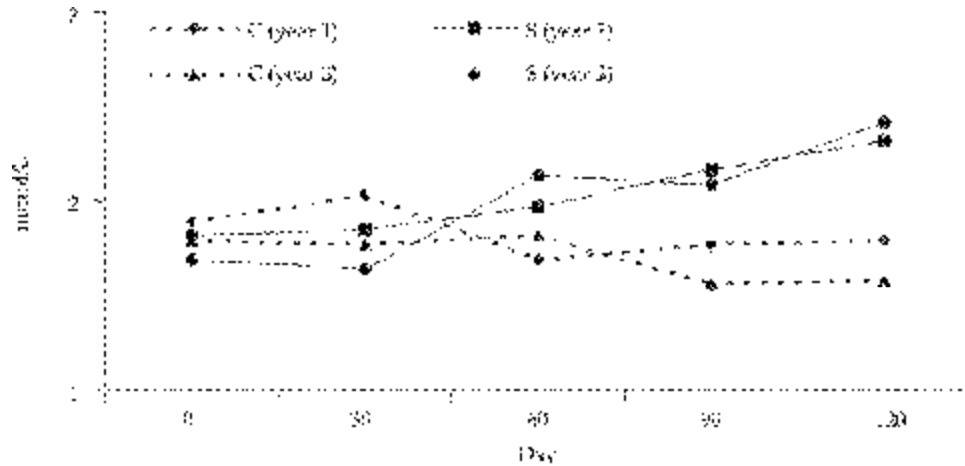


Figura 3. Modificaciones de HDL-C en animales suplementados (S) y testigos (C).
HDL-C changes in supplemented (S) and control (C) animals.

animals showed body weight gains of 42.3 kg (352 g/animal/day). Treatment and time effects were also significant in both assays (Figure 1), while the interaction treatment by time was not significant. Means comparisons by orthogonal contrasts revealed that

animales testigos. Durante el primer año las ganancias de peso fueron de 36.5 kg en C (304 g/animal/día) y 59.1 kg en S (492 g/animal/día). En el segundo año, las vacas testigos perdieron peso (-8.8 kg) mientras que los animales suplementados mostraron ganancias de 42.3 kg (352 g/animal/

body weight differences between C and S began to be significant from day 30 in both the first ($P = 0.04$) and second year ($P = 0.01$).

Figure 1 shows the average body weight registered at every sampling date, showing weight gain in S, in both the first and second year, as well as weight loss in C during the second year. At the end of the first year, the BCS was 4.0 ± 0.9 in control cows and 5.8 ± 1.1 in supplemented cows. This parameter was 3.5 ± 0.6 in control cows and 5.4 ± 0.9 in supplemented cows, when finishing the second year.

Total serum cholesterol decreased in C and increased in S (Figure 2) in all cases. Treatment and time effects were significant in both the 1st and 2nd year. A means comparison test detected that differences between C and S were significant at 60 days in both the first and second year.

For lipoprotein a (Table 1), repeated measures ANOVA found significant treatment and time effects in both the first and second year (increases in S and decreases in C). Significant differences between S and C began on day 60 for both years. Lipoprotein b showed initial homogeneity ($CI \pm 95\%$) and normal distribution (WS), but fluctuation of its levels was irregular though not statistical significant to treatment and time effects.

In both the first and second year, HDL-C diminished in control animals and increased in supplemented cows (Figure 3). In the S group, HDL-C increase positively correlated with lipoprotein a and total cholesterol elevations ($r = 0.95$, $P = 0.01$ in first year, and $r = 0.93$, $P = 0.02$ in second year). Repeated measures ANOVA found significance in treatment and time effects in both years. Orthogonal contrasts revealed that differences between C and S began to be significant from day 60 in both years. LDL-C values slightly decreased in C and S, in both the first and second year; treatment and time effects were not significant. None of the repeated measures variance analysis effects were significant for triglycerides.

Discussion

The higher weight gains in S were attributed to the citrus pulp supplement. Such gains were greater in the first year, which was characterized by a moderate winter. In the second year, gains were smaller, because the harsh winter caused the pasture to decrease in quantity and quality. In S, the low initial weight gain in both years perhaps should be attributed to the diet change (adaptation to supplement, changes in ruminal microorganisms).¹⁷

Previous studies had shown that when supplementing wintering half-bred zebu cows with brewery residues, there were weight gains in experimental

día). Los efectos tratamiento y tiempo fueron significativos en ambos ensayos, mientras que la interacción tratamiento por tiempo fue no significativa. Las comparaciones de medias por contrastes ortogonales revelaron que las diferencias de peso entre C y S comenzaron a ser significativas a partir del día 30, tanto en el primer año ($P = 0.04$) como en el segundo ($P = 0.01$).

La Figura 1 detalla los promedios de peso registrados en cada fecha de muestreo, mostrando las ganancias de peso en S, tanto en el primero como en el segundo años, así como la pérdida de peso en C durante el segundo año. Al terminar el primer año de estudio, la CC fue 4.0 ± 0.9 en las vacas testigos y 5.8 ± 1.1 en las suplementadas. En el segundo año este parámetro fue de 3.5 ± 0.6 en las vacas testigos y 5.4 ± 0.9 en las suplementadas.

El colesterol sérico total disminuyó en C y aumentó en S (Figura 2) en todos los casos. Los efectos tratamiento y tiempo fueron significativos tanto en el primero como en el segundo años. La prueba de comparación de medias detectó que las diferencias entre C y S comenzaron a ser significativas hacia el día 60, en ambos años.

Para la lipoproteína a (Cuadro 1), el ANOVA de medidas repetidas detectó significación para los efectos tratamiento y tiempo, en ambos años (aumentos en S y disminuciones en C). Las diferencias significativas entre S y C comenzaron hacia el día 60, tanto en el primero como en el segundo años. La lipoproteína b mostró homogeneidad inicial ($IC \pm 95\%$) y distribución normal (WS), pero la fluctuación de sus niveles fue irregular, resultando no significativos los efectos tratamiento y tiempo.

En ambos años, HDL-C disminuyó en los animales testigos y aumentó en las vacas suplementadas (Figura 3). En el grupo S, el aumento de HDL-C correlacionó positivamente con los incrementos de lipoproteína a y colesterol total ($r = 0.95$; $P = 0.01$ en el primer año, y $r = 0.93$; $P = 0.02$ en el segundo). El ANOVA de medidas repetidas encontró, para ambos años, significación estadística en los efectos tratamiento y tiempo. Los contrastes ortogonales revelaron que las diferencias entre C y S comenzaron a ser significativas desde el día 60, en ambos años. Los valores de LDL-C disminuyeron ligeramente en C y S, en ambos años; los efectos tratamiento y tiempo no fueron significativos. Para triglicéridos, ninguno de los efectos del análisis de la variancia de medidas repetidas fue significativo.

Discusión

Las mayores ganancias de peso en S se atribuyen al suplemento administrado. Dichas ganancias fueron mayores al finalizar el primer año, caracterizado por un invierno moderado. En el segundo año las ganancias fueron menores, porque el invierno más riguroso provocó disminuciones de cantidad y calidad de pasturas. En S, las escasas ganancias iniciales de peso en ambos años, quizá deban

groups (314 g/animal/day) and losses in control groups (-128 g/animal/day).¹⁸ Furthermore, in northeastern Argentina, a study using the same type of cattle supplemented with cottonseed showed increases of 292 g/animal/day, whereas controls only gained 51 g/animal/day.¹⁹ Citrus pulp supplemented dairy cows registered higher weight gain than controls fed with a commercially balanced diet (668 vs 355 g/animal/day); increases of milk proteins and non-fatty solids were also registered, effects which were attributed to the high energy supply.²⁰ By offering increased amounts of citrus pulp,²¹ or citric residues mixed with other supplements,²² some researchers obtained liveweight gains from 236 to 1 100 g/animal/day. Therefore, citrus residues could be more efficient than other supplements for fattening cattle.

Total cholesterol levels were slightly lower than those obtained in dairy cows from the same region by other researchers (4.73 ± 1.82 mmol/l), which confirms that this variable decreases in seasonal breeding (winter).²³ In the internal environment, dietary cholesterol quickly mixes with the cholesterol that has been synthesized *de novo* in the liver; the rate of this biosynthesis is indirectly proportional to the amount of cholesterol absorbed from the gut.¹²

The increase of total cholesterol in S perhaps can be explained by an increase of the hepatic biosynthesis, probably caused by the increase of the energy supply, because concentration of cholesterol is low in both the pasture and citrus pulp. In cholesterol biosynthesis, although the conversion of β -hydroxy-methylglutaryl-CoA to mevalonic acid is controlled by dietary factors, the importance of feedback control in domestic animals is unknown.¹² Another argument to explain the total cholesterol increase in S is the additional fiber supplied by the supplement, which would promote more substrate for cholesterol hepatic synthesis because it increases ruminal acetate.¹² This hypothesis is supported by the fact that total cholesterol decreased in cows that did not receive an additional energy supply during winter.^{23,24}

Chylomicrons and pre-_{ab} lipoprotein are low in calves (11%) and very low in cows (1%), showing a mean life of five minutes. In cattle, proportions of lipoproteins _a and _b are 74% and 14% in calves, and 79% and 19% in cows, respectively.²⁵ Cows in the present study showed similar initial levels. Lipoprotein _a is in charge of the cholesterol reverse transport system, carrying it from tissues towards the liver, for its biliary elimination.^{14,26} The results obtained corroborate that this fraction is the most abundant in cattle blood.^{11,23}

In preruminant calves, addition of dietary energy produced cholesterol and lipoprotein _a increases,

atribuirse al cambio de dieta (adaptación al suplemento, cambios en los microorganismos ruminales).¹⁷

Estudios anteriores habían demostrado que al suplementar vacas "de invernada" cruza cebú con residuos de cervecera, hubo ganancias de peso en los grupos experimentales (314 g/animal/día) y pérdidas en los grupos testigos (-128 g/animal/día).¹⁸ Además, suplementando el mismo tipo de ganado con semilla de algodón, en el nordeste argentino se registraron aumentos de 292 g/animal/día, mientras que los testigos sólo ganaron 51 g/animal/día.¹⁹ Vacas lecheras suplementadas con pulpa de cítricos registraron ganancias de peso más altas que testigos alimentados con una dieta comercial balanceada (668 vs 355 g/animal/día); también se registraron aumentos de las proteínas lácteas y de los sólidos no grasos de la leche, efectos que se atribuyeron al alto suministro de energía.²⁰ Suministrando cantidades crecientes de pulpa de cítricos²¹ o residuos cítricos mezclados con otros suplementos,²² algunos investigadores obtuvieron ganancias de peso desde 236 hasta 1 100 g/animal/día. Por consiguiente, los residuos cítricos serían más eficaces que otros subproductos agroindustriales para engordar el ganado.

Los niveles de colesterol total fueron ligeramente más bajos que los obtenidos en vacas lecheras de la misma región por otros investigadores (4.73 ± 1.82 mmol/l), quienes confirman que este parámetro disminuye en la época de parición (invierno).²³ En el medio interno, el colesterol dietario se mezcla rápidamente con el colesterol que se ha sintetizado *de novo* en el hígado; la magnitud de esta biosíntesis es inversamente proporcional a la cantidad de colesterol absorbida por el intestino.¹²

Los aumentos de colesterol total en S quizás puedan ser explicados por un aumento de la biosíntesis hepática, probablemente causada por el aumento del suministro de energía, debido a que la concentración de colesterol es escasa tanto en la pastura como en la pulpa de cítricos. En la biosíntesis de colesterol, si bien la conversión de β -hidroximetilglutaril-CoA a ácido mevalónico, es controlada por factores dietarios, la importancia del control por retroalimentación es desconocido en los animales domésticos.¹² Otro argumento para explicar el aumento de colesterol total en S es el aporte extra de fibra brindado por el suplemento, la cual al aumentar el acetato ruminal promovería mayor disponibilidad de sustrato para la síntesis hepática de colesterol.¹² Avalando esta hipótesis, el colesterol total disminuyó en las vacas que no recibieron aporte adicional de energía durante el invierno.^{23,24}

Quilomicrones y lipoproteínas pre-_{ab} son bajos en terneros (11%) y muy bajos en vacas (1%), poseyendo una vida media de cinco minutos. En el bovino, las proporciones de lipoproteínas _a y _b son de 74% y 14% en terneros y de 79% y 19% en vacas, respectivamente.²⁵ Las vacas del presente estudio mostraron similares niveles iniciales. La lipoproteína _a es la encargada del siste-

without modifications in the remaining lipoproteins.²⁷ In adult ruminants, all cholesterol increase is accompanied by an increase in lipoprotein a. The lactating cow is unique in its ability to maintain high cholesterol levels with no detrimental effect thanks to the elevation of lipoprotein a, which acts as a protection factor.¹² In half-bred zebu cattle, the supply of an energy-protein supplement, such as cottonseed, also caused serum increment of lipoprotein a, total cholesterol, triglycerides, and HDL-C.^{9,10,28}

Lipoprotein ab, as well as lipoprotein pre-ab (VLDL), is in charge of the cholesterol direct transport system. Following synthesis, cholesterol is transported to organs and tissues, be it for its use or deposition, including in vascular walls causing atherogenic risk in humans.^{13,14,26} In suckling calves, serum cholesterol increase caused significant increment of lipoprotein ab,²⁷ suggesting that preruminant calves could respond to an "LDL pattern". This circumstance was not verified in the adult ruminants used in the present study. The newborn human has an "HDL pattern", which becomes an "LDL pattern" by the time maturity is reached.¹¹ In cattle this ontogenic change might well be reversed.

HDL-C values did not differ from the reference interval reported by other investigators, from 2.08 to 3.90 mmol/l in beef cows²⁹ and 1.95 to 2.57 mmol/l in dairy cows.²³ In half-bred zebu calves it was 2.05 mmol/l.¹¹ The increase of HDL-C in S could respond to the same causes that caused an increase of total cholesterol (additional energy supply).^{11,12} The LDL-C values obtained in this study were similar to those found in six month old half-bred zebu calves (0.49 mmol/l).¹¹ In "HDL pattern" animals, high energy diets would increase HDL at the expense of an LDL decrease,^{10,28} in contrast to what occurs in "LDL pattern" animals.¹⁴

In S, final triglyceride values were found to be near the upper limit of the regional reference interval (0.31 to 0.48 mmol/l).²³ In control cows, the final slight decrease of triglycerides could perhaps be due to winter pasture reduction,²⁴ whereas slight increases in supplemented cows could be attributed to the supplement energy content.¹⁷ In the ruminant, dietary energy increase is able to cause increase of triglycerides.¹⁰ Triglycerides, the major component of chylomicrons, undergo hydrolysis to glycerol and its constituent fatty acids. These components may be utilized for synthesis of new triglycerides and phospholipids or oxidized to CO₂ for energy.¹²

Additional fiber supply found in citrus pulp (17-18%),¹⁷ could have increased the ruminal synthesis of acetate, and could have been, in part, responsible for

ma de transporte reverso del colesterol, llevándolo desde los tejidos hacia el hígado, para su eliminación biliar.^{14,26} Los resultados obtenidos corroboran que esta fracción es la más abundante en la sangre del bovino.^{11,23}

En terneros pre-rumiantes, la adición de energía dietaria produjo aumentos de colesterol y lipoproteína a, sin modificar las restantes lipoproteínas.²⁷ En rumiantes adultos, todo aumento de colesterol es acompañado por aumento de lipoproteína a. La vaca en lactancia es única en su habilidad para soportar altos niveles de colesterol sin efectos perjudiciales, como consecuencia del aumento de lipoproteína a, que actúa como factor de protección.¹² En ganado cruza cebú, el suministro de un suplemento energético-proteínico, como la semilla del algodón, también causó incrementos séricos de lipoproteína a, colesterol total, triglicéridos y HDL-C.^{9,10,28}

La lipoproteína ab, así como la lipoproteína pre-ab, están a cargo del sistema de transporte directo de colesterol; después de su síntesis el colesterol es transportado hacia órganos y tejidos para su utilización o almacenamiento, incluyendo depósito en paredes vasculares, lo cual genera riesgo aterogénico en seres humanos.^{13,14,26} En terneros lactantes, el aumento del colesterol sérico provocó incremento significativo de lipoproteína ab,²⁷ sugiriendo que los terneros pre-rumiantes podrían responder al "patrón LDL". Esta circunstancia no se verificó en los rumiantes adultos del presente estudio. El ser humano recién nacido posee "patrón HDL", el cual se transforma en "patrón LDL" en la madurez.¹¹ Tal vez en el bovino este cambio ontogénico sea inverso.

Los valores obtenidos para HDL-C no difirieron del intervalo de referencia informado por otros investigadores, de 2.08 a 3.90 mmol/l en vacas para carne²⁹ y de 1.95 a 2.57 mmol/l en vacas lecheras.²³ En terneros cruza cebú fue de 2.05 mmol/l.¹¹ El aumento de HDL-C en S podría responder a las mismas causas que provocaron aumento de colesterol total (suministro adicional de energía).^{11,12} En este estudio, los valores de LDL-C fueron similares a los encontrados en terneros cruza cebú de seis meses de edad (0.49 mmol/l).¹¹ En animales con "patrón HDL" las dietas ricas en energía aumentarían las HDL a expensas de la disminución de LDL,^{10,28} en contraste con lo que ocurre en animales con "patrón LDL".¹⁴

En S, los valores finales de triglicéridos se encontraron cercanos al límite superior del intervalo de referencia regional (0.31 a 0.48 mmol/l).²³ En las vacas testigos, la ligera disminución final de triglicéridos podría quizás haberse debido al empobrecimiento invernal de las pasturas,²⁴ mientras que el leve incremento en las vacas suplementadas podría atribuirse al aporte energético del suplemento.¹⁷ En el rumiante, el incremento dietario de energía es capaz de causar aumento de triglicéridos.¹⁰ Los triglicéridos, componentes importantes de los quilomicrones, se hidrolizan a glicerol y ácidos grasos. Estos componentes pueden utilizarse para la

the lipid increase in the internal environment.²⁵ The increase of acetate occurs at the expense of synthesis of propionate, the main substrate for hepatic gluconeogenesis.¹²

Undesirable secondary effects attributable to the supplement were not verified. Citrus pulp could produce ruminal parakeratosis in calves,⁵ in adult ruminants, it could cause diarrhea¹⁷ and carry viscerotropic pesticides,³⁰ as well as hemorrhage-causing aflatoxins such as citrinin.³¹ In birds it causes hepatomegaly, with up to 97% mortality.¹⁷ References concerning hepatic alterations induced in ruminants by citrus residue ingestion, such as those reported for other agroindustrial by-products,⁹ were not found.

In summary, the results of this study suggest that citrus pulp was revealed to be able to significantly increase ($P < 0.05$) some serum lipidic variables of nutritional and metabolic importance, such as total cholesterol, lipoprotein *a* and HDL-C; others increased, though not significantly, such as triglycerides, or showed irregular behavior, as in the case of lipoprotein *b* and LDL-C. In spite of such modifications, supplemented cows did not show undesirable secondary effects and they gained more weight than control animals.

Acknowledgements

The financial support of Wiener and GT-Lab enterprises, as well as SGCYT-UNNE (PI 17B/065), is gratefully acknowledged.

Referencias

1. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Informe anual de planes de trabajo del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Boletín documentos institucionales núm. 55. Buenos Aires, Argentina: INTA, 1992:28-32.
2. Ammerman CB, Henry PR. Utilización de subproductos cítricos para ganado. Memorias de la Conferencia Internacional sobre Ganadería Tropical; 1992 junio 16; Gainesville Florida (FL). Gainesville (FL): Florida University, 1992:66-73.
3. Brown WF. Wet and dry citrus pulp are both good feed for cattle. Fla Cattle Livest J 1990;12:21-26.
4. Aguilera JF. Aprovechamiento de subproductos agroindustriales en la alimentación de rumiantes. Prod Anim 1989;9:253-267.
5. Santos A, Aguilera E. Niveles de sustitución de harina de maíz por pulpa de cítricos deshidratada en concentrados para terneros. Rev Cub Cienc Agríc 1981;15:141-147.
6. Peruchena CO, D'Ascanio G, Valdivia G. Suplementación invernal de novillos sobre pastizal natural. Boletín del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria núm. 40. Reconquista (Santa Fe, Argentina): INTA, 1992:1-8.
7. Howes JR. Potencial digestivo del Brahman comparado con el de Hereford. Cebú 1989;36:36-38.

síntesis de nuevos triglicéridos y fosfolípidos u oxidarse a CO_2 para liberar energía.¹²

El suministro adicional de fibra efectuado por la pulpa de cítricos (17%-18%),¹⁷ podría haber aumentado la síntesis ruminal de acetato y podría ser, en parte, responsable del aumento de lípidos en el medio interno.²⁵ El aumento de acetato ocurre a expensas de la síntesis de propionato, el principal sustrato para la gluconeogénesis hepática.¹²

No se verificaron efectos secundarios indeseables atribuibles al suplemento. La pulpa de cítricos produciría parakeratosis ruminal en terneros,⁵ en rumiantes adultos podría causar diarrea,¹⁷ vehicular pesticidas viscerotrópicos³⁰ y aflatoxinas hemorragíparas como la citrinina.³¹ En aves provoca hepatomegalia, con mortalidad de hasta 97%.¹⁷ No se hallaron referencias sobre alteraciones hepáticas inducidas por la ingestión de pulpa de cítricos en rumiantes, como las descritas para otros derivados agroindustriales.⁹

En resumen, los resultados de este estudio sugieren que la pulpa de cítricos reveló ser capaz de aumentar significativamente ($P < 0.05$) algunos parámetros lipídicos séricos de importancia nutricional y metabólica, como colesterol total, lipoproteína *a* y HDL-C; otros aumentaron no significativamente, como triglicéridos, o mostraron un comportamiento irregular, como en el caso de lipoproteína *b* y LDL-C. A pesar de tales modificaciones, las vacas suplementadas no mostraron efectos secundarios indeseables y ganaron más peso que los animales testigos.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo económico de las empresas Wiener y GT-Lab, así como de SGCYT-UNNE (PI 17B/065).

8. Biani RD, Collia JA. Suplementación invernal de vacas refugio. Gac Agron 1982;2:727-730.
9. Coppo JA, Coppo NB. Nutritional indicators changes and organic damages in cottonseed supplemented steers. Facena 1999;14:1-6.
10. Coppo JA. Effect of dietary lipidic charge in the concentration of bovine plasmatic lipids and lipoproteins. Acta Physiol Pharm 1990;40:289-297.
11. Coppo JA. Fisiología comparada del medio interno. Buenos Aires, Argentina: Dunken, 2001.
12. Kaneko JJ. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th ed. San Diego (Ca): Academic Press, 1989.
13. Tavella M. Partículas lipoproteicas. Concepto, aislamiento e implicancias clínicas. Acta Bioquím Clín Latin 1993;27:75-85.
14. Bauer JE. Metabolismo comparado de lípidos y lipoproteínas. Pet's Sci 1997;13:362-376.
15. Spada MC, Cangiano CA. El uso del disco en la estimación de la fitomasa aérea. Una comparación con otros métodos. Prod Anim 1991;11:19-27.
16. Cangiano CA. Producción animal en pastoreo. Balcarce, Argentina: La Barrosa, 1997.
17. Morrison FB. Alimentos y alimentación del ganado. 21st ed. México (DF): UTEHA, 1980.
18. Capellari A, Revidatti MA, Slanac AL, Coppo NB. Suplementación de vacas de invernada con hez de malta.

- Anales de la XIII Sesión de Comunicaciones Científicas de la Facultad de Ciencias Veterinarias: 1992 noviembre 27; Corrientes, Argentina. FCV-UNNE, 1992:14-16.
19. Coppo JA, Scorza SH, Coppo NB. Biochemical profiles of Argentine cattle supplemented with cottonseed. *Rev Invest Agrop* 1994;25:91-102.
 20. Flores VR. Suplementación con pellets de pulpa de citrus en vacas lecheras en lactancia temprana. *Prod Anim* 2000;20:100-101.
 21. Kuvera JC, Nazar BH, Alfaro MA. Utilización de la pulpa deshidratada de cítricos en la alimentación de los rumiantes. *Biotam* 1993;5:1-5.
 22. Ghisi JJ. La pulpa de citrus en la alimentación del ganado vacuno. Boletín de Extensión núm. 29 del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Concepción del Uruguay, Argentina: INTA, 1968:1-6.
 23. Dellamea S, Sandoval GL, Pochon DO, Cafferata R. Evolución de lípidos séricos en bovinos lecheros de zona subtropical. *Acta Cienc Tecnol UNNE* 1998;2:5-8.
 24. Mufarrege D. Distribución estacional de nutrientes para el ganado en pastizales del nordeste argentino. Informe Anual 1993 del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Mercedes, Argentina: INTA, 1993:102-107.
 25. Cirio A, Tebot I. Fisiología metabólica de los rumiantes. Montevideo, Uruguay: CSIC, 2000.
 26. Fruchart JC, Sézille G. Lípidos y lipoproteínas. *Acta Bioquim Clín Latin* 1981;15:97-159.
 27. Leplaixcharlat L, Bauchart D, Durand D, Laplaud PM, Chapman MJ. Plasmalipoproteins in preruminant calves fed diets containing tallow or soybean oil with and without cholesterol. *J Dairy Sci* 1996;79:1267-1277.
 28. Coppo JA. L'utilisation de suppléments nutritifs qui accroissent le degré de saturation des acides gras corporels des bovins. *Ann Biol Clin* 1992;50:263-264.
 29. Angel G, Angel M. Interpretación clínica del laboratorio. 5th ed. Bogotá, Colombia: Panamericana, 1997.
 30. Nigg HN, Reinert JA, Fitzpatrick GE. Acephate and methamidophos residue behavior in Florida citrus. *Pestic Monit J* 1979;12:167-171.
 31. Griffiths IB, Done SH. Citrinin as a possible cause of the pruritis, pyrexia, haemorrhagic syndrome in cattle. *Vet Rec* 1991;129:113-117.