

Capítulo XXXIX

Vitaminas. Uso racional en vacas Doble Propósito

Oswaldo Rosendo, MSc, PhD

INTRODUCCIÓN

La vaca de doble propósito requiere vitaminas A, D, E y K, sin embargo, las vitaminas A (VA) y E (VE) son las únicas que tienen un requerimiento alimentario como tal, ya que la piel del animal y los pastos, proporcionan los precursores necesarios y por lo tanto, no se justifica la suplementación con vitamina D en los bovinos a pastoreo. Así como tampoco la suplementación con vitamina K porque es sintetizada por los microorganismos ruminales y, además, está ampliamente distribuida en los forrajes (NRC, 2001). Las vitaminas del complejo B son también sintetizadas en el rúmen y aunque en cantidades consideradas insuficientes (Biotina, Niacina) para vacas de alta producción, la suplementación con vitaminas hidrosolubles no está justificada en bovinos adultos con un rúmen completamente funcional.

En la alimentación, la VA es la que tiene mayor importancia conjuntamente con los carotenos y los tocoferoles por ser fuentes precursoras y económicas de VA y VE en vacas a pastoreo. La satisfacción de los requerimientos de VA y VE depende de la oferta y el consumo de cantidades suficientes de carotenos, principalmente de β -caroteno (BC) y de tocoferoles. De manera conjunta, la VA, la VE y el BC (la VE y el BC integran el sistema antioxidante celular), actúan mejorando u optimizando el crecimiento y la reproducción (aumento de la tasa de preñez, acompañado de la disminución de abortos, retenciones placentarias y nacimientos de becerros muertos o muy débiles) en la vaca. Las funciones y efectos de la suplementación con VA y BC en las vacas lecheras ha sido revisada anteriormente (Rosendo, 1995).

El trabajo siguiente hace énfasis en las condiciones que justifican la suplementación vitamínica en vacas a pastoreo, basándose en información reciente acerca de estatus vitamínico y consumos estimados cuando la vaca es alimentada casi exclusivamente a pastoreo o con al menos 50% de pasto fresco.

EL FORRAJE COMO FUENTE DE VITAMINAS A Y E

Los carotenoides provitamina A y, principalmente el BC en los forrajes, constituyen la principal fuente de VA para los rumiantes a pastoreo (McDowell, 2000), por-

que los suplementos carecen casi por completo de precursores naturales de VA. La conversión de BC a VA es variable pero se acepta que 1 mg de BC es equivalente a 400 UI de VA en ganado lechero (NRC, 2001). A pesar de que el color amarillo de los carotenoides es enmascarado por la clorofila, todas las partes verdes de las plantas en crecimiento son ricas en caroteno. Los contenidos promedios de caroteno que aparecen publicados para los diferentes forrajes y materias primas pueden servir solo como una guía aproximada en alimentación, debido a que muchos factores inherentes tanto a la planta como al animal afectan el contenido real de BC en una muestra. El α -tocoferol (AT) es la forma de la vitamina E mas comúnmente encontrada en los alimentos y la que posee mayor actividad biológica, 1 mg de AT es equivalente a 1,49 UI de vitamina E en ganado lechero (NRC, 2001).

Los análisis de BC y AT no se realizan de manera rutinaria debido al costo. Williams *et al.* (1998) resumizaron los valores publicados, encontrando que solo 15% de los forrajes muestreados suministraron menos de 50 mg de BC o AT por kg de MS, el 85% de las muestras restantes suministraron mucho mas de 50 mg/kg (Cuadro 1); sin embargo, estos valores puede tener cierto grado de imprecisión debido a errores analíticos.

Cuadro 1
Influencia de la especie y el estadio de madurez en los contenidos de BC y AT de forraje fresco (mg/kg MS)

Forrajes/Estadio del crecimiento	BC		AT	
	n	Prom.	n	Prom.
	(rango)		(rango)	
Gramíneas				
Prefloración	51	278	29	253
		(84-606)		(121-400)
Floración	44	133	17	98
		(53-258)		(40-154)
Postfloración	30	59	7	22
		(4-156)		(9-30)
Leguminosas				
Prefloración	62	309	19	129
		(140-552)		(79-202)
Floración	34	192	6	116
		(97-488)		(109-127)
Postfloración	7	130	-	-
		(80-252)		

Adaptado de Williams *et al.*, 1998.

FACTORES QUE AFECTAN EL CONTENIDO VITAMÍNICO EN LOS FORRAJES

El contenido vitamínico de los forrajes depende de diversos factores tales como:

- Especie vegetal
- Condiciones climáticas
- Estado de madurez de la planta
- Método de conservación (ensilaje, henificación)
- Condiciones de almacenamiento

Los forrajes de buena calidad pueden suministrar gran cantidad de BC y AT, ya se trate de gramíneas o de leguminosas, pero su valor vitamínico decrece después de la floración, llegando a tener las plantas maduras un valor máximo de carotenos del 50% o menos con respecto a las plantas inmaduras (Cuadro 1). Durante el crecimiento, las gramíneas y las leguminosas tienen niveles de carotenos muy similares pero las gramíneas contienen más AT (Cuadro 1). En la madurez las hojas conservan más carotenos y AT que los tallos, por lo que las leguminosas son más ricas en contenido vitamínico que las gramíneas.

Los forrajes conservados contienen menores niveles vitamínicos que los forrajes frescos, dependiendo del método de conservación (ensilaje o henificación). El heno usualmente tiene de un 10-30% del caroteno contenido en los forrajes frescos (Frye *et al.*, 1991). Friesecke (1978), analizando información de laboratorios Europeos, reporto bajos valores de BC en silaje (24,6 a 32,9 mg/kg MS) y henos (5,1 a 22,7 mg/kg MS) de gramíneas. El silaje de maíz, usado como estrategia alimenticia para mejorar la calidad energética de la dieta en vacas doble propósito tiene bajas concentraciones (0,5 a 3,4 mg/kg) de BC (Friesecke, 1978). Aún el silaje de maíz amarillo tiene muy pobre valor vitamínico A, ya que el maíz amarillo contiene una alta proporción de carotenoides como por ej. criptoxantina, luteína y zeacaroteno, que no son provitamina A (Ullrey, 1972).

Recientemente Nozière *et al.* (2006b) encontraron una asociación positiva entre las concentraciones de carotenos y proteína cruda ($r = 0,71$) y una relación, por el contrario negativa, entre carotenos y fibra cruda ($r = -0,73$) en pastos naturales ($n = 20$). La cuantificación de estas relaciones permitiría establecer ecuaciones de predicción del contenido de BC de los pastos tropicales, las cuales resultarían muy útiles, dada la rapidez con que disminuyen los valores de proteína cruda y aumentan los de fibra en condiciones locales, especialmente durante la sequía. Los suplementos, a excepción de la semilla de algodón y la pulitura de arroz, tienen bajas concentraciones de AT (Cuadro 2).

BIODISPONIBILIDAD VITAMÍNICA

Además del contenido vitamínico en los forrajes, también es necesario conocer la biodisponibilidad tanto de BC como de AT en el plasma y los tejidos, ya que de ello depende la cantidad real disponible de vitaminas para los rumiantes a pastoreo. La biodisponibilidad del BC en los tejidos esta gobernada por la capacidad para escapar

Cuadro 2
Contenido de AT en alimentos comunes para bovinos (mg/kg MS)

Alimentos	AT Promedio	Referencia
Silaje de maíz	31,7	
Silaje de gramíneas (40% MS)	33,7	
Heno de gramíneas, maduro	30,6	Weiss <i>et al.</i> , 1990
Heno de alfalfa, postfloración	26,5	
Concentrado vaca seca	13,7	
Concentrado vaca lactante	14,9	
Semilla de algodón	59,4	Risco <i>et al.</i> , 2002
Pulitura de arroz	67,0	NRC, 1996

la degradación ruminal, la absorción intestinal en forma intacta, el transporte plasmático, la conversión a VA en los tejidos, la utilización como antioxidante, la secreción en la leche, en forma directa o indirectamente, y el almacenamiento en hígado y tejido adiposo.

DEGRADABILIDAD RUMINAL Y DIGESTIBILIDAD APARENTE

Los microorganismos ruminales degradan muy poco BC y AT pero destruyen cantidades sustanciales de la VA suministrada en la ración, dependiendo de la naturaleza de la dieta y de las condiciones fisiológicas del rumen. Al estudiar la degradabilidad in vivo de la VA se encontró que aproximadamente, de 40 a 70% de la VA suplementada fue destruida en el rúmen de novillos (King *et al.*, 1962, Mitchell *et al.*, 1967, Warner *et al.*, 1970). Valores cercanos a estos han sido obtenidos mediante ensayos de fermentación ruminal in vitro (Rode *et al.*, 1990; Weiss *et al.*, 1995). Los resultados in vitro sugieren que cuando la dieta es alta en forrajes, la destrucción ruminal de VA es de 20% pero se eleva a 70% cuando la dieta contiene de 50 a 70% concentrado.

La destrucción o degradación de BC en el rúmen también ha sido documentada pero resultados recientes no lo confirman. King *et al.* (1962), observaron un 40% de pérdidas de BC en novillos y carneros castrados mientras que Potanski *et al.* (1974) encontraron del 3 al 35% de destrucción ruminal, independientemente de la dieta. Por su parte, Mora *et al.* (1999) observaron que el BC no es degradado en el rúmen. El incremento en la concentración de BC, observado en el fluido ruminal cuando aumenta el nivel de BC en la dieta, sugieren muy poca destrucción ruminal (Mora *et al.*, 2001). La VE también es degradada en el rúmen de vacas alimentadas con una alta proporción de concentrado pero en mínimas cantidades (NRC, 2001).

La digestibilidad aparente del BC en los forrajes es variable. Wing (1969) encontró una digestibilidad del 77% en novillos lecheros pero, por el contrario, Cohen-Fernández *et al.* (1976), utilizando BC marcado, encontraron casi un 90% de indigestibilidad en ovinos. Mas recientemente, Mora *et al.* (2001) señalaron que la digestibilidad del BC en novillos Holstein incremento con la concentración de BC en la dieta; 66,2; 84,4 y 88,1% cuando los niveles de BC en la dieta fueron 5,5; 44 y 352 mg/kg MS,

respectivamente. Por otro lado, la suplementación con altos niveles de VA (1 millón UI/d) puede reducir la absorción intestinal de los carotenos como lo sugieren Knight *et al.* (1996).

ALMACENAMIENTO CORPORAL DE BC Y VA

El BC es depositado en varios órganos como hígado (Chew *et al.*, 1984), cuerpo lúteo (Rapoport *et al.*, 1998) y grasa corporal (Nozière *et al.*, 2006a). En vacas doble propósito lactantes (menos de 10 kg de leche/d) a pastoreo en el país ($n = 37$), la concentración de BC en el hígado vario desde 0 hasta 21 $\mu\text{g/g}$ (hígado fresco) encontrándose los valores mas bajos en la sequía (Rosendo, no publicado). Los valores mas bajos son comparables con los promedios publicados tanto en vacas de carne como en vacas lecheras (Cuadro 3) alimentadas con una ración sin o con bajo BC (30-300 mg/d) en ensayos clásicos de agotamiento corporal de BC y VA.

La VA se acumula principalmente como éster retinil palmitato en las células del parénquima hepático y en pequeña proporción en riñones, pulmones, adrenales, sangre y otros tejidos (McDowell, 2000). La cantidad de VA presente en el hígado es el reflejo de un efecto dinámico de depósito y movilización permanentemente, aun cuando las cantidades puedan aparecer constantes (Tomlinson *et al.*, 1976). En el cuadro 3 se puede apreciar las concentraciones de VA y BC en el hígado de vacas con diferentes ofertas de BC o VA. En este órgano, la relación VA/BC (relación peso/peso) es variable, dependiendo del suministro de VA preformada y de BC.

Como puede notarse en vacas no suplementadas con VA, la concentración de VA es de 5 a 20 veces mayor que la concentración de BC, lo que indica que la VA es almacenada en el hígado de manera mas efectiva que el BC. Esta mayor capacidad de almacenamiento de VA llega a ser aún mas alta (117 a 211 veces) en vacas Holstein de alta producción suplementadas con VA (Cuadro 3).

La acumulación de VA en hígado es mayor durante la gestación y disminuyen gradualmente después del parto en vacas suplementadas con VA (Rosendo, 2003) debido, probablemente, a una preferente utilización del BC por los tejidos extrahepáticos. Este mismo patrón se presento en vacas a pastoreo no suplementadas con VA (Wheeler *et al.*, 1957). Sin embargo, no se conoce con precisión que factores regulan el deposito y la movilización de las reservas hepáticas tanto de BC como de VA. Investigaciones recientes sugieren que las dietas que presentan niveles de BC menores a 5,5 mg/kg MS no permiten su almacenamiento en el hígado, siendo posible que a esa concentración, el BC absorbido sea enteramente convertido a retinol (ROL) (Mora *et al.*, 2001). Niveles crecientes de BC (desde 5,5 mg a 352 mg/kg MS) en la dieta de novillos, incrementaron las concentraciones tanto de VA como de BC en el hígado de manera cuadrática (Mora *et al.*, 2001).

En comparación con el cuerpo lúteo y la grasa corporal, el hígado puede contribuir con el pool corporal de BC en una proporción considerable, si se estima el peso promedio de este órgano, en 6 kg, para una vaca doble propósito. Siempre y cuando las concentraciones de BC en hígado sean altas.

Durante la sequía, el suministro de BC disminuye notoriamente pero ¿cual pudiera ser el valor más bajo (nadir) de BC en el hígado después de un periodo prolonga-

Cuadro 3
Valores de β -carotenos (BC) y vitamina A (VA) en el hígado y plasma de vacas con diferentes consumos de BC y VA

Consumo BC (mg día/duración)	Raza/Etapa	n	Hígado		Plasma		Ref. ^s	
			BC	VA	BC	VA		
			$\mu\text{g/g}$	fresco ⁷	$\mu\text{g}/\mu\text{g}$	$\mu\text{g/ml}$		
No BC	1	5	0,6	7,8	13	0,2	0,15	
300 mg BC/lact.		5	2,7	27,8	10	1,5	0,26	
60 mg BC/gest.		5	0,4	2,4	5	0,2	0,17	a
300 mg BC/lact. + 60 mg/gest.		5	2,4	21,0	9	0,9	0,30	
50 mg BC/30 d	2	3	4,4	86,1	20	2,2	0,35	
50 mg BC/90 d		2	1,1	15,9	14	0,8	0,27	
Pastoreo/21 d		2	13,3	172,0	13	10,5	0,28	b
Silaje gram.-leg./49 d		1	9,2	162,0	18	8,3	0,12	
27-30 mg BC/lact.	1	24	.	16,0	.	0,5	0,17	c
126-150 mg BC/lact.		24	.	16,9	.	1,5	0,23	
80.000 UI VA/21 d preparto	3	34	2,1	249,0	117	4,1	0,17	
50 mg BC+60.000 UI VA /postparto*	4	34	1,3	236,0	179	2,3	0,15	d
	5	34	1,0	222,0	211	1,7	0,24	
	6	34	1,0	204,0	208	1,7	0,27	

¹Vacas Hereford, 3 m. postparto; ²Vacas Jersey y Holstein, 3-6 m. postparto²

³Vacas Holstein, 16 d preparto; ⁴Vacas Holstein, 2 d postparto.

⁵Vacas Holstein, 16 d postparto; ⁶Vacas Holstein, 30 d postparto.

⁷Para uniformizar la información, algunos valores publicados en base seca fueron convertidos a base fresca, asumiendo que el hígado tiene 25% MS.

⁸Referencias: a) Baker *et al.*, 1954; b) Byers *et al.*, 1955; c) Church *et al.*, 1956; d) Rosendo, 2003.

*La ración contenía 2 kg heno de alfalfa (base seca) equivalentes a 50 mg de BC.

do de sequía? Para responder esta pregunta, se colectaron en dos oportunidades durante la sequía, muestras de hígado, plasma y leche de 6 vacas mestizas multíparas lactantes escogidas al azar, en una finca doble propósito ubicada en Manzanita, Municipio Simón Plana del estado Lara. Esta zona es conocida por tener periodos prolongados de sequía. El manejo alimentario regular consiste en pastoreo rotacional de pasto estrella con una oferta de suplemento comercial (2 kg/animal) de 20% de proteína cruda y minerales a voluntad sin suplementación con VA.

En estas vacas, la concentración hepática de BC fue 8,2 $\mu\text{g/g}$ (Cuadro 4), un mes después del comienzo de la sequía pero, alcanzó niveles extremadamente bajos en el segundo muestreo (1,6 $\mu\text{g/g}$), 40 días después. Estos resultados indican que las reservas hepáticas totales de BC (49,2 mg = 8,2 mg/kg * 6 kg de hígado) se agotan rápidamente (9,6 mg = 1,6 mg/kg * 6 kg de hígado), a una tasa de 1 mg/d (49,2 mg-9,6 mg/40 d) en la medida en que se prolonga el periodo de sequía, debido a la excreción de BC en forma directa, e indirectamente como retinil esteroides en la leche. También es posible que ocurra un mayor uso del BC debido a estrés oxidativo como ha sido sugerido para la vaca lechera (Goff *et al.*, 2002). Estas observaciones sugieren que cualquiera sean las reservas hepáticas de VA, es deseable una reserva hepática de BC lo suficientemente alta, al comienzo del periodo seco, a fin de contribuir a mantener las reservas de VA por más tiempo.

Cuadro 4
Concentraciones de BC y ROL en plasma, hígado y leche (Prom. \pm EE).
Muestras realizadas en Venezuela

Manejo Alimentario/Grupo racial	n	Plasma		Hígado	Leche	¹ Ref.
		BC	ROL	BC	BC	
		$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/ml}$	$\mu\text{g/g fresco}$	$\mu\text{g/ml}$	
Heno+silaje de maíz+50% suplemento+100.000 UI de VA/Holstein	44	3,10,2	0,330,01	.	.	a
Pasto kikuyo+Pastoreo+50% suplemento. No VA suplementaria/Holstein	43	2,50,2	0,240,01	.	.	
Pastoreo+suplemento (Sur del Lago)						b
Holstein Negro o Rojo \times Brahmán, lactando	36	6,50,4	.	.	.	
Pardo Suizo o Carora \times Brahmán, lactando	29	6,10,4	.	.	.	
Preparto	13	3,60,7	.	.	.	
Pastoreo a entrada de lluvias+suplemento (Sarare, Estado Lara)						
Carora, lactando vacías (135 \pm 43,7 d en leche)	9	7,70,5	.	11,11,0	.	
Carora, lactando preñadas (106 \pm 17,5 d gestac.)	9	6,70,5	.	11,41,0	.	
Pastoreo+suplemento (Manzanita, Edo Lara) Vacas Mestizas Lactantes						
Periodo seco	6	4,20,2	.	8,20,9	0,130,02	
Periodo seco, 40 d después	6	4,70,3	.	1,60,7	1,100,05	

Rosendo *et al.*, 2002; b) Rosendo, no publicado.

En base a la información actual es imposible precisar la concentración mínima de VA hepática en la cual se comienzan a presentar las deficiencias de VA. Byers *et al.* (1995) sugirieron que valores mayores a 75 $\mu\text{g/g}$ (base fresca) pueden ser considerados normales. Sin embargo, Baker *et al.* (1954) encontraron una reproducción adecuada en vacas con valores hepáticos de VA de aproximadamente 24 $\mu\text{g/g}$ (Cuadro 3) y alimentadas con 300 mg de BC/d durante la lactancia. Valores inferiores a 36 $\mu\text{g/g}$ (base fresca) fueron utilizados por Kiatoko *et al.* (1982) como criterio de deficiencia de VA en bovinos.

Las reservas hepáticas de VA en vacas a pastoreo pueden suplir las necesidades de VA durante la época seca bajo las siguientes premisas. En primer lugar, un nivel adecuado de VA acumulada, difícil de precisar, ya que se desconoce que tan altas son las concentraciones de VA en el hígado al final del periodo de lluvias, tanto en vacas lactantes como secas y en condiciones locales. En segundo lugar es necesario tener pastizales que logren mantener un nivel mínimo de BC durante el periodo seco.

En teoría, una concentración inicial de 160 μg de VA/g de hígado (base fresca) al final del periodo de lluvias puede disminuir a tan solo 40 $\mu\text{g/g}$ después de 100 días de sequía, asumiendo que la vida media de la VA hepática es de 48 días (Hayes *et al.*, 1967). En términos absolutos, el total de VA movilizada (720 mg = 120 mg/kg * 6 kg de hígado) pudiera proveer las necesidades de VA (60.000 UI/d) para tan solo 40 días de sequía.

De tal forma que el animal necesitará, durante todo el periodo seco, la oferta de un pasto con una concentración de BC de al menos 9 mg/kg MS, a fin de satisfacer completamente sus necesidades de VA durante los 100 d de sequía. Si por el contrario, la concentración de BC en el pasto alcanza a solo 4,5 mg/kg MS, el animal necesitará VA suplementaria para cubrir 30 d pero si la concentración de VA hepática al final del periodo de lluvias fue de 80 en lugar de 160 $\mu\text{g/g}$, será necesario suplementar con VA para cubrir 70 d, al menos.

Si los pastizales no logran mantener un nivel mínimo de BC durante el periodo seco (> 9 mg/kg MS) y además no se suplementa con VA; entonces aumenta el riesgo de agotar aun mas las reservas hepáticas de VA. Al alimentar vacas Hereford lactantes (n = 4) con heno que contenía 1,5 mg de carotenos/kg MS y 8,1% de Proteína Cruda, las concentraciones iniciales de VA (40 $\mu\text{g/g}$) se redujeron en casi 50% (20 $\mu\text{g/g}$) en aproximadamente 60 días (Wheeler *et al.*, 1957).

Sin embargo, la optima movilización de la VA desde el hígado depende de niveles adecuados en la síntesis de la proteína transportadora de ROL (Rosendo, 1995) que a su vez pudiera estar reducida durante la sequía debido a la baja ingesta proteica. En ese sentido, el BC constituiría la forma en que los tejidos obtienen la VA necesitada, asumiendo que la actividad de la 15'15 dioxigenasa (enzima que convierte el BC en VA) en los tejidos extrahepáticos sea adecuada.

Los niveles de BC en tejidos adiposos (Cuadro 5) dependen también de los niveles dietéticos de BC. El cambio de una dieta formada por silaje de maíz a una dieta a base de heno indujo una disminución rápida, hasta en un 40%, del pool de BC en los tejidos adiposos (Nozière *et al.*, 2006). Sin embargo, resulta difícil estimar la contribución del BC almacenado en la grasa corporal al pool de BC corporal. Recientemente,

en términos cuantitativos esa contribución resulto ser muy pequeña (Nozière *et al*, 2006a) y por lo tanto cuestionable. En conclusión el pool corporal total de BC disponible en la vaca, esta dado por la sumatoria de los dos pool principales, es decir, hígado y plasma.

Cuadro 5
Retinol (ROL) y β -caroteno (BC) en tejidos adiposos ($\mu\text{g/g}$)

			Consumo de BC, mg/d					¹ Ref.
			0	48	100	380	3000	
Novillos Holstein	Grasa renal	BC	ND	ND	0,09	0,23	a
		ROL	1,0	0,90	0,90	0,90	
	Grasa subcutánea	BC	0,07	0,15	0,5	3,7	
		ROL	0,90	1,0	1,0	1,0	
Novillas Holstein	Grasa renal	BC	0,53	1,02	b
	Grasa subcutánea	BC	0,61	1,84	

(a) Mora *et al*, 2001; b) Ahlswede y Lotthammer, 1978).

BC, VE, y AT EN PLASMA

La variación en las concentraciones de BC en plasma es muy alta. En vacas lactantes a pastoreo (n = 150) en Venezuela se han encontrado valores desde 1,5 hasta 20 $\mu\text{g/ml}$, correspondiendo los valores mas altos con la oferta característica de pasto verde, en la zona Sur del Lago (Rosendo, no publicado). Durante los meses de mayor disponibilidad de forraje verde que correspondieron a los meses de mayor precipitación, McCabe (1981) observo una mayor concentración plasmática de BC en vacas de carne a pastoreo en Zimbabwe. Sin embargo, los valores plasmáticos de BC no siempre están correlacionados con el consumo de BC (Ronning *et al*, 1953). Es decir, existen diferentes factores no dietéticos que pudieran o no afectar el estatus de BC en la vaca doble propósito. Estos factores pudieran ser el mestizaje, el estado de la lactancia, la edad de gestación, enfermedades infecciosas o metabólicas y el nivel de producción de leche.

Para conocer el estatus de BC en la vaca doble propósito lactante se realizo, recientemente, una evaluación (Rosendo, no publicado) que incluyo muestras de plasma de 65 vacas doble propósito lactantes escogidas al azar (16% del total de vacas lactantes) en una finca comercial del municipio Colon del estado Zulia, y 18 vacas Carora lactantes pastoreando a entrada de lluvias en Sarare, estado Lara. Las concentraciones plasmáticas de BC encontradas fueron hasta 125% mayores que las concentraciones de BC de vacas Holstein estabuladas o semiestabuladas en el país, sin diferencias entre predominio racial (Cuadro 4).

En vacas Holstein alimentadas con una ración forraje:concentrado (50:50, base seca) en condiciones de semiestabulación y con 3 horas de pastoreo se ha observado un valor promedio de BC plasmático por debajo del valor considerado optimo (3 $\mu\text{g/ml}$) que resulta a su vez, 24% inferior al valor promedio de vacas Holstein completamente estabuladas pero suplementadas con VA (Rosendo *et al*, 2002). Aunque los resultados no son comparables entre si porque corresponden con manejos de finca to-

talmente diferentes, la información claramente demuestra que el estatus de BC tiene una relación directa con el consumo de forraje verde y el consumo de VA suplementaria. En vacas de alta producción (mas de 20 kg leche/d), la ingestión de BC puede resultar insuficiente aún recibiendo pasto fresco abundante (50%, base seca) debido a los factores antes mencionados que pueden causar una disminución en la biodisponibilidad del BC cuando se suministran altos niveles de concentrado.

Por el contrario, el promedio de BC plasmático en las vacas preparto muestreadas ($n = 13$) fue menor al de las vacas lactantes (Cuadro 4), teniendo algunas, valores de moderados o críticos (2,0 y 1,0 $\mu\text{g BC/ml}$) de acuerdo al criterio de Friesecke (1978). De manera parecida, las vacas preparto en condiciones de estabulación y semiestabulación en Venezuela tuvieron promedios de BC plasmático de 2,7 $\mu\text{g/ml}$ (Rosendo et al, 2002). Resulta interesante que en la vaca doble propósito al igual que en la vaca de alta producción, ocurra un descenso en los valores de BC durante el puerperio, porque sugiere que el agotamiento del pool plasmático de BC no esta relacionado a la ingestión de BC o al volumen de producción de leche sino mas bien a mayores demandas metabólicas durante ese periodo como lo señalan Goff *et al.*(2002).

En vacas doble-propósito y en condiciones Venezolanas, no se han determinado los valores plasmáticos de ROL, la principal forma bioquímica de la VA. Las vacas alimentadas con o sin VA así como con bajos o altos niveles de BC tiende a tener promedios de VA similares (Cuadros 3 y 4). El ROL no es un buen indicador del estatus de VA en relación al consumo (Weiss, 1998). Valores de 0,4 a 0,5 μg de ROL/ml son considerados como típicos para vacas alimentadas con al menos 50.000 UI de VA/día (Weiss, 1998) pero recientemente se han observado valores por debajo de 0,2 $\mu\text{g/ml}$ en diferentes rebaños lecheros (LeBlanc *et al.*, 2004) y en vacas Jersey alimentadas con 125,000 UI de VA durante el periodo puerperal (Goff *et al.*, 2002).

De manera general, las vacas de alta producción en Venezuela, estabuladas o semiestabulación, tuvieron valores de ROL plasmático muy variables, desde 0,09 hasta 0,56 $\mu\text{g/ml}$ con un coeficiente de variación de 36% (Rosendo, no publicado). En vacas doble-propósito estos valores deberían ser superiores, ya que los valores plasmáticos de ROL están correlacionados positivamente con los valores plasmáticos de BC (Cuadro 6); sin embargo, el grado de asociación disminuye en vacas suplementadas con VA (Rosendo *et al.*, 2002). Por lo tanto, la formulación de ecuaciones de predicción no resulta de utilidad práctica.

El plasma representa el depósito más grande de BC. De manera conservadora, el pool plasmático de BC para vacas doble propósito con un pico promedio de BC (6,5 $\mu\text{g/ml}$), basado en el Cuadro 4, puede estimarse en 130 mg ($130 \text{ mg} = 6,5 \text{ mg/L} \cdot 20 \text{ L}$ de plasma). Este pool es dinámico y tiende a disminuir rápidamente con la excreción diaria en la leche, el gasto a nivel tisular (antioxidante), la hidrólisis en diferentes órganos y la disminución del contenido de BC en los forrajes durante la sequía.

En los meses de sequía en Manzanita (estado Lara), las concentraciones promedio de BC plasmático en vacas doble propósito lactantes fueron 4,2 y 4,7 $\mu\text{g/ml}$ en dos muestreos (Cuadro 4), lo que sugiere que las reservas hepáticas suministraron BC al plasma. Estos valores son 34% menores que los valores correspondientes a mayores ofertas de forraje verde y aunque probablemente disminuyan mas con la severidad del periodo seco, no conducirán al agotamiento completo del BC plasmático. En novillos

Cuadro 6
Correlaciones entre las concentraciones plasmáticas de ROL, BC y AT
en vacas Holstein

	Ración forraje:concentrado (50:50, base seca)					
	Con VA suplementaria			Sin VA suplementaria +3 horas de pastoreo		
	ROL	BC	AT	AT	BC	ROL
BC	0,43 **	-	-			0,62 ****
AT	-	0,33 *	-		0,09 (ns)	
ROL	-	-	0,51 ***	0,40 **		

Adaptado de Rosendo *et al.*, 2002.

¹ ROL = Retinol, BC = β -caroteno, AT = α -tocoferol

* $P = 0.05$; ** $P = 0.01$; *** $P = 0.001$; **** $P = 0.0001$; ns = no significativo.

Holstein, después de 49 d de alimentación con paja de sorgo (4,1 μg de BC/kg MS), la concentración de VA plasmático se mantuvo por arriba de 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pero agotaron completamente el BC (0,01 $\mu\text{g}/\text{ml}$) plasmático (Mora *et al.*, 2001).

Sin embargo, basado en curvas de regresión propuestos por Mora *et al.* (2001), después de un agotamiento completo del BC circulante, se necesitarían 30 días aproximadamente, para elevar a 1,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, la concentración de BC plasmático cuando el pasto tiene valores de BC entre 5 y 44 mg/kg MS). En vacas de carne lactantes, la alimentación con caroteno, equivalente a 10-20 mg/kg MS, elevo el caroteno plasmático de 1 a 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, aproximadamente en 45 días (Wheeler *et al.*, 1957). En resumen, el estado dinámico del pool plasmático de BC impediría su agotamiento cuando los periodos de sequía son cortos (3 meses).

En vacas de alta producción (Venezuela), la variación individual en las concentración de AT en plasma es muy alta desde 1,7 hasta 18,4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Rosendo, no publicado) con los valores mas altos en vacas alimentadas con una ración forraje:concentrado (50:50, base seca) en condiciones de semiestabulación y con 3 horas de pastoreo (Cuadro 7). Con la excepción de las vacas en el periparto (parto y recién paridas), los valores plasmáticos de AT fueron mayores a 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en los 3 rebaños encuestados (Rosendo *et al.*, 2001).

Estos valores de AT son superiores a los valores que corresponden a vacas lecheras estabuladas en USA. Las vacas tanto Holstein como Jersey en el periparto y con horas adicionales de pastoreo tuvieron valores óptimos de AT (3 $\mu\text{g}/\text{ml}$, NRC, 2001), a pesar de que durante este periodo las vacas lecheras de alta producción experimentan un descenso clásico en AT plasmático. En vacas Holstein a mitad o al final de lactancia, los valores plasmáticos de AT alcanzaron en promedio 7,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Rosendo *et al.*, 2001) y aunque no se tienen antecedentes en vacas a pastoreo en Venezuela, los valores de AT plasmático deberían ser mayores aún durante el periodo lluvioso. En vacas a pastoreo (la etapa del ciclo productivo no fue indicada), el promedio de AT plasmático fue 15,9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Caravaggi, 1969) y en Finlandia, los promedios en vacas lactantes y en vacas secas fueron 8,2 y 6,3 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectivamente (Jukola *et al.*, 1996).

Cuadro 7
Concentraciones promedio de AT en plasma e hígado de vacas Holstein

Manejo Alimentario	Raza/Etapa	n	Plasma	hígado	'Ref.
			AT μg/ml	AT μg/g fresco	
Heno+silaje maíz+50% suplemento. Sin VE. 2 fincas en Venezuela	< 21 d pp	14	3,5	.	a
	< 21 d post.	16	3,2	.	
	Vacías	20	5,5	.	
	< 150 d preñadas	19	8,1	.	
Pasto kikuyo+Pastoreo+50% suplemento. Sin VE. 1 Finca en Venezuela	< 21 d pp	8	4,5	.	
	< 21 d post.	7	5,0	.	
	Vacías	9	13,1	.	
	< 150 d preñadas	7	11,5	.	
Heno bermuda+silaje maíz+ 44% suplemento +350 UI VE/d. Preparto Heno alfalfa+silaje maíz+ 49% suplemento +350 UI VE/d. Postparto. Florida, EE.UU.	16 d pp	34	3,5	5,3	b
	2 d post.	34	3,8	4,6	
	16 d post.	34	3,7	4,7	
	30 d post.	34	6,0	4,3	

(a) Rosendo *et al.*, 2002; b) Rosendo, no publicado).

No se tienen determinados los niveles de AT en los pastos cultivados en Venezuela pero pueden ser estimados en 200-300 mg/kg MS mediante ecuaciones de predicción (Weiss *et al.*, 1990) con la información (Cuadro 7) de vacas lactantes y secas con 50% y 80% de forraje, respectivamente. Williams *et al.* (1998) señalan que los pastizales pueden tener un rango de 40 a 400 mg/kg MS desde la prefloración hasta la floración. Durante la sequía, por el contrario, los valores pueden ser extremadamente bajos, menores a 30 mg/kg MS (Weiss *et al.*, 1990; Williams *et al.*, 1998). Por lo tanto, altos valores plasmáticos de AT al final del periodo lluvioso podrían descender a un tercio, dependiendo de los depósitos en hígado, si la sequía es prolongada.

En vacas lecheras de alta producción, el AT fue almacenado en el hígado más eficientemente que el BC (Cuadros 3 y 7) y mantuvo una concentración estable durante el periparto (Rosendo, no publicado) pero se desconoce, la capacidad del hígado para mantener los niveles plasmáticos de AT en vacas a pastoreo durante los meses de sequía. Algunos han reportado diferencias en los promedios de AT plasmático de diferentes razas lecheras o de carne. Las vacas Angus a pastoreo tuvieron valores de AT mayores que las Shorthorn y las Hereford (Maplesden *et al.*, 1960). Las vacas Holstein tuvieron valores de AT mas altos que las Jersey, independientemente del manejo alimenticio y el estado reproductivo (Rosendo *et al.*, 2001).

EXCRECIÓN DE BC, VA y VE EN LECHE

La leche constituye la vía principal de excreción del BC absorbido (Friesecke, 1978; Nozière *et al.*, 2006b). La concentración de BC en leche (Cuadro 4) resulto similares a los encontrados por Nozière *et al.* (2006a) al determinar las concentraciones de

BC en leche de animales que recibieron silaje de pasto (0,13 $\mu\text{g/ml}$) o una dieta a base de heno (0,06 $\mu\text{g/ml}$). Sin embargo, grandes variaciones pueden encontrarse dependiendo de la época, el estado de la lactancia y la capacidad extractiva de la glándula mamaria, como ha sido sugerido por Noziere *et al.* (2006b).

La VA se excreta en leche en la forma esterificada. La glándula mamaria esterifica tanto al ROL proveniente del hígado, como al ROL proveniente del BC dietético. La forma esterificada y el BC en leche dependen del BC dietético (Chanda *et al.*, 1954). La data de Chanda *et al.* (1954) indican de manera clara que en la leche, el BC y los esteres de VA tienen una alta correlación positiva ($r = 0,912$; $n = 140$) mientras que el ROL y la forma esterificada tienen una correlación altamente negativa ($r = -0,824$; $n = 140$).

La concentración de AT en leche varía de 0,4 a 0,6 $\mu\text{g/ml}$ en vacas de alta producción (NRC, 2001). La importancia del volumen de producción de leche de la vaca doble propósito, notoriamente menor a la producción de la vaca lechera, en el mantenimiento del pool corporal del BC, VA y AT, es desconocido.

LA SUPLEMENTACIÓN VITAMÍNICA

La necesidad de la suplementación vitamínica (vitaminas A y E) está justificada durante la sequía o cuando disminuye la oferta de forraje verde, debido a la menor concentración de BC y AT en los pastos (Cuadro 8). Sin embargo, existen otras circunstancias que conllevan a la necesidad de suplementación. Estas circunstancias son:

1. Cuando la tasa de suplementación energético-proteica es alta (mayor degradación ruminal de BC y menor consumo de BC y AT).
2. Cuando se utiliza silaje de maíz como estrategia de alimentación en sequía (baja concentración tanto de BC como de AT en silaje de maíz y menor eficiencia de conversión del BC a VA). El uso de silaje de maíz combinado con forraje de soya constituye una buena fuente de BC en sequía, por lo que no sería necesario suplementar con VA.
3. En el curso de enfermedades infecciosas y hemoparasitarias (mayores necesidades de BC y VE para mejorar la respuesta inmune).

Cuadro 8
Consumos estimados y necesidades de suplementación vitamínica en vacas adultas a pastoreo

	Lluvia		Sequía	
	BC	AT	BC	AT
Consumo estimado, mg/d	150-2000	1000-3000	< 150	< 1000
Suplementación, UI/d				
Vitamina A	0	-	60.000	-
Vitamina E	-	0	-	250-500
Dosis A,D ₃ E parenteral, ml*	0	6		

*Cada 50 d durante la sequía si soluciones inyectables contienen 500.000 UI de VA y 50 UI de VE/ml.

La suplementación vitamínica debe realizarse tanto en vacas lactantes como en vacas preparto (< 21 d preparto). En vacas lactantes, la suplementación con VA permite contrarrestar la disminución del pool corporal de VA y posiblemente también del BC como consecuencia de excreción a través de la leche. En vacas preparto, la suplementación garantiza el almacenamiento de reservas suficientes de VA tanto para el becerro como para el inicio de la lactancia. La suplementación de VE incrementa el contenido de AT en el calostro.

Las inyecciones parenterales de VA y VE combinada (la mayoría de productos inyectables contienen 500.000 UI de VA, 50 UI de VE y 75.000 UI de vitamina D₃/ml) deben realizarse en dosis de 3.000.000 UI, cada 50 días, durante el periodo de sequía a fin de optimizar la eficiencia de almacenamiento de VA. Dosis menores, 1.250.000 UI, aunque inyectadas frecuentemente (cada 4 días) no se almacenaron en vacas lactantes alimentadas con muy poco (20 mg/d) BC. Los productos vitamínicos para la suplementación oral (solo o mezclado con el suplemento) pueden suministrar, día a día, las necesidades de VA y VE durante la sequía; pero, buena parte de la VA puede ser destruida en el rúmen por la acción microbiana. La dosis recomendada varía dependiendo de la concentración vitamínica del producto.

En nuestro país, la suplementación con VE (1000 UI/d) en vacas secas resulta innecesaria durante el periodo lluvioso pero esta recomendada durante la sequía ya que las soluciones inyectables del complejo AD₃E puede que no eviten la caída en el AT plasmático durante el postparto. A su vez, las inyecciones de complejos VE-Selenio están indicadas cuando las concentraciones de Se en plasma son bajas (< 50 ng/ml).

LITERATURA CITADA

- Ahlswede L, Lotthammer KH. 1978. Untersuchungen über eine spezifische, Vitamin A-unabhängige Wirkung des β -Carotins auf die Fertilität des Rindes. Organuntersuchungen Gewichts und Gehaltsbestimmungen. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 85:7.
- Baker FH, Pope LS, MacVicar R. 1954. The effect of vitamin A stores and carotene intake of beef cows on the vitamin A content of the liver and plasma of their calves. J Anim Sci 13:802.
- Byers JH, Weswig PH, Bone JF, Jones IR. 1955. Carotene in the ration of dairy cattle. I. The influence of long periods of suboptimal carotene intake on the carotene and vitamin A values of the blood, liver, and milk fat of dairy cows. J Dairy Sci 38:657.
- Caravaggi C, 1969. Vitamin E concentrations in the serum of various experimental animals. Comp Biochem Physiol 30:585.
- Chanda R, Helen CM, Owen EC. 1954. Dietary carotene and the degree of esterification of vitamin A in the milk and blood of cows. Biochem J 56:453.
- Chew BP, Holpuch DM, O'Fallon JV. 1984. Vitamin A and beta-carotene in bovine and porcine plasma, liver, corpora lutea, and follicular fluid. J Dairy Sci 67:1316.
- Church DC, Pope LS, MacVicar R. 1956. Effect of plane of nutrition of beef cows on depletion of liver vitamin A during gestation and on carotene requirements during lactation. J Anim Sci 15:1078.
- Cohen-Fernandez S, Budowski P, Ascarelli I, Neumark H, Bondi A. 1976. Low utilization of carotene by sheep. Int J Vit Nutr Res 46:446.

- Friesecke H. 1978. β -carotene and bovine fertility. Hoffman-La Roche. Basilea, Zwitzerland.
- Frye TM, Williams SM, Graham TW. 1991. Vitamin deficiencies in cattle. *Food Animal Practice* 7:217.
- Goff JP, Kimura K, Horst RL. 2002. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and β -carotene status at parturition. *J Dairy Sci* 85: 1427.
- Hayes BW, Mitchell GE, Little CO, Sewell HB. 1967. Turnover of liver vitamin A in steers. *J Anim Sci*. 26:855.
- Jukola E, Hakkarainen J, Saloniemi H, Sankari S. 1996. Effect of selenium fertilization on selenium in feedstuffs and selenium, vitamin E, and β -carotene concentrations in blood of cattle. *J Dairy Sci*. 79:831.
- Kiatoko M, McDowell LR, Bertrand JE, Chapman HL, Pate FM, Martin FG, Conrad JH. 1982. Evaluating the nutritional status of beef cattle herds from four soil order regions of florida. I. Macroelemnts, protein, carotene, vitamins A and E, hemoglobin and hematocrit. *J Anim Sci* 55:28.
- King TB, Lohman TG, Smith GS. 1962. Evidence of rumeno-reticular losses of vitamin A and carotene. *J Anim Sci* 21:1002 (Abstr.).
- Knight T, Death AF, Muir PD, Ridland M, Wyeth TK. 1996. Effect of dietary vitamin A on plasma and liver carotenoid concentrations and fat colour in Angus and Angus cross-bred cattle. *N Zeal J Agric Res* 39:281.
- LeBlanc SJ, Herdt TH, Seymour WM, Duffield TF, Leslie KE. 2004. Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J Dairy Sci* 87:609.
- Maplesden DC, Harvey JD, Branion HD. 1960. Blood plasma tocopherol and phosphorus levels in a herd of beef cattle. *J Nutr* 71:77.
- McCabe C. 1981. A preliminary survey of the β -carotene levels in the peripleral of beef and dairy cows in Zimbabwe. *J Agric Res* 19:23-29.
- McDowell LR. 2000. *Vitamins in Animal and Human Nutrition*. 2nd ed. Iowa State Press. Ames, USA. 793 p.
- Mitchell GE, Little CO, Hayes BW. 1967. Preintestinal destruction of vitamin A by ruminants fed nitrate. *J Anim Sci* 26:827.
- Mora O, Romano JL, González E, Ruiz FJ, Gómez R, Shimada A. 2001. Presence of fed β -carotene in digesta, excreta, blood, and hepatic and adipose tissues of Holstein steers. *Can J Anim Sci* 81:133.
- Mora O, Romano JL, Ruiz FJ, González E, Shimada A. 1999. In vitro and in situ disappearance rates of β -carotene and lutein from lucerne (*Medicago sativa*) hay, in bovine and caprine ruminal fluids. *J Sci Food Agric* 79:273.
- National Research Council. 1996. *Nutrient requirements of beef cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press. Washington, DC.
- National Research Council. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press. Washington, DC.
- Nozière P, Grolier P, Durand D, Ferlay A, Pradel P, Martin B. 2006a. Variations in carotenoids, fat-soluble micronutrients, and color in cows' plasma and milk following changes in forage and feeding level. *J Dairy Sci* 89:2634.
- Nozière P, Graulet B, Lucas A, Martin B, Grolier P, Doreau M. 2006b. Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Anim Feed Sci Tech* 131:418.

- Potanski AA, Tucker RE, Mitchell GE, Schelling GT. 1974. Preintestinal losses of carotene in sheep fed high-starch or high-cellulose diets. *Int J Vit Nutr Res* 40:147.
- Rapoport, R., D. Sklan, D. Wolfenson, A. Shaham-Albalancy, y I. Hanukoglu. 1998. Antioxidant capacity is correlated with steroidogenic status of the corpus luteum during the bovine estrous cycle. *Bioch. et Bio. Acta.* 1380:133.
- Risco CA, Adams AL, Seebohm S, Thatcher M-J, Staples CR, Van Horn HH, McDowell LR, Calhoun MC, Thatcher WW. 2002. Effect of gossypol from cottonseed on hematological responses and plasma α -tocopherol concentration of dairy cows. *J Dairy Sci* 85:3395.
- Rode LM, McAllister TA, Cheng KJ. 1990. Microbial degradation of vitamin in rumen fluid from steers fed concentrate, hay or straw diets. *Can J Anim Sci* 70:227.
- Ronning M, Berousek ER, Kuhlman AH, Gallup WD. 1953. The carotene requirements for reproduction in Guernsey cattle. *J Dairy Sci* 36:52.
- Rosendo O. 1995. La vitamina A y el β -caroteno en la función reproductiva de la vaca lechera. Trabajo Ascenso a la Categoría Profesor Asistente. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Barquisimeto, Lara
- Rosendo O. 2003. Supplemental biotin effects on performance and dynamics of fat mobilization and on in vitro fiber digestion using periparturient Holstein cows. Ph.D. thesis, Univ. of Florida, Gainesville.
- Rosendo O, McDowell LR, Diaz MY, Wilkinson N, Boeing A, Castillo J, Fragachan H, Lucena C. 2002. Concentraciones séricas de retinol y β -caroteno en vacas Holstein lactantes. *Gaceta de Ciencias Veterinarias.* 8:17-24.
- Rosendo O, McDowell LR, Wilkinson N, Boeing A. 2001. Serum α -tocopherol concentrations for Venezuelan dairy cattle. *Investigación Agrícola* 6:1. Disponible en internet. URL: <http://www.redpav-fpolar.info.ve/danac/Volumen6/art3/index>.
- Tomlinson JE, Hemken RW, Mitchell GE, Tucker RE. 1976. Mammary transfer of vitamin A alcohol and ester in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 59:607.
- Ullrey DE. 1972. Biological availability of fat-soluble vitamins: vitamin a and carotene. *J Anim Sci* 35:648.
- Warner RL, Mitchell GE, Little CO, Alderson NE. 1970. Preintestinal disappearance of vitamin A in steers fed different levels of corn. *Int J Vit Nutr Res* 40:585.
- Weiss WP. 1998. Requirements of fat-soluble vitamins for dairy cows: A review. *J Dairy Sci* 81:2493.
- Weiss WP, Todhunter DA, Hogan JS, Smith, KL. 1990. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows. *J Dairy Sci* 73:3187.
- Weiss WP, Smith KL, Hogan JS, Steiner TE. 1995. Effect of forage to concentrate ratio on disappearance of vitamin A and E during in vitro ruminal fermentation. *J Dairy Sci* 78:1837.
- Wheeler RR, Weswig PH, Brannon WF, Hubbert FE Jr, Sawyer WA. 1957. The carotene and vitamin A content of plasma and liver of range Hereford cows and their calves in the Northern Great Basin. *J Anim. Sci* 16:525.
- Williams PEV, Ballet N, Robert JC. 1998. The provision of vitamins for ruminants. *Proc Cornell Nutr Conf, Rochester NY. USA. Cornell University.* pp:1-15.
- Wing JM. 1969. Effect of source and season on apparent digestibility of carotene in forage by cattle. *J Dairy Sci* 52:479.