

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA DIVISIÓN REGIONAL DE

CIENCIA ANIMAL



**REVISION BIBLIOGRAFICA DEL MÉTODO DE LA
FÍSTULA ESOFÁGICA**

POR

MARIO FRANCISCO GUERRERO DURAN

MONOGRAFÍA

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA. MÉXICO

FEBRERO DE 2007

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

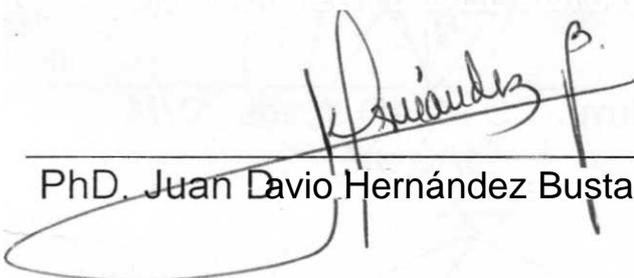
UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

REVISION BIBLIOGRAFICA DEL MÉTODO DE LA FÍSTULA ESOFÁGICA

MONOGRAFÍA

APROBADA POR EL COMITÉ REVISOR

 PRESIDENTE
PhD. Juan Davio Hernández Bustamante

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE
CIENCIA ANIMAL

 M0. José Luis Francisco Sandoval Elías


«teáwea» de Cxmek Awnf

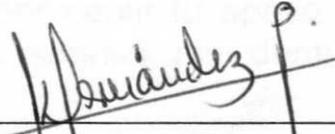
* AAr-TIT:

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

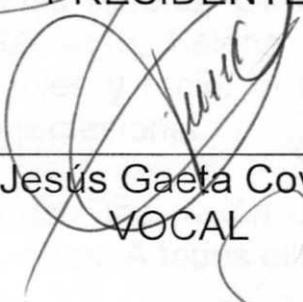
UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

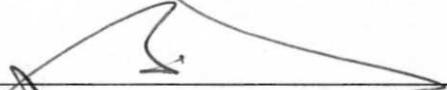
REVISION BIBLIOGRAFICA DEL MÉTODO DE LA



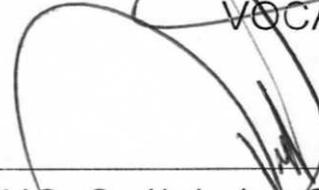
PhD. Juan David Hernández Bustamante
PRESIDENTE



MVZ. Jesús Gaeta Covarrubias
VOCAL



MC. Jorge Iturbide Ramírez
VOCAL



ING. Saúl de los Santos Valadéz
VOCAL SUPLENTE

AGRADECIMIENTOS:

A mi padre Dios por darme la oportunidad de vivir para realizar mis estudios y cumplir así una más de mis propuestas.

A MIS PADRES:

Francisco Guerrero y Rocío Duran que me brindaron incondicionalmente su apoyo durante todo el trayecto de mis estudios.

A MI ESPOSA:

Nancy Guadalupe De León De Guerrero por entregarme todo su amor y con su apoyo he logrado seguir mi vida profesional y crear en mí esa fuerza que me lleva a seguir adelante.

A MI HIJO:

Ethan Manuel Guerrero De León, que sepas que estoy dispuesto a esforzarme cada día mas; por sentir tu apoyo aunque aún estés muy pequeño, pero con tu sonrisa me demuestras que estas conmigo.

A MIS COMPAÑEROS:

Dinora, Jorge Francisco, Luis Alberto, Olivia, Antonio, José Cruz, Inés, Mario, Dulce, Luis Gerardo, Selene, Carlos y Manuel, que vivimos momentos inolvidables y recibí el apoyo de cada uno de ellos y aún en nuestra vida profesional.

Al personal que labora en esta institución que me brindo el apoyo durante cinco años consecutivos. A todos ellos mil gracias!

DEDICATORIA

Al Dr. Juan David Hernández Bustamante por su sinceridad y honestidad que me brindo durante el transcurso de mi carrera, por colaborar a ser mi asesor principal y ayudarme así a culminar mis estudios de manera satisfactoria.

A mi " ALMA MATER " que por cinco años me acogió entre sus brazos como un hijo mas de esta bendita institución y de quien nunca me olvidaré, pues llevaré su apellido por siempre al ser un egresado mas de la Gloriosa " ANTONIO NARRO "

INDICE

	Pagina
LISTA DE CUADROS.....	iü
LISTA DE FIGURAS.....	iv
1. INTRODUCCION	1
2. ANTECEDENTES	3
3. METODOLOGIA	4
3.1. Procedimientos Quirúrgicos.....	4
3.1.1. Manejo Preoperatorio	4
3.1.2. Técnica	5
3.2. Procedimientos de campo	10
3.3. Factores y fuentes de variación que afectan las muestras	
Esofágicas.....	11
3.3.1. Contaminación salival y masiicación parcial	11
3.3.2. Variación diurna en la composición de la dieta. . . .	16
3.3.3. Contaminación ruminal.....	18
3.3.4. Preparación de la muestra	18
3.3.5. Recolección incompleta de la muestra.....	24
3.3.6. Periodo de ayuno previo a la colección.....	26
3.3.7. Cantidad de animales por tratamiento y tamaño del	
tratamientos.....	27
3.3.8. Variación entre animales.....	28
3.3.9. Carga animal y condición del pastizal.....	29

4. ANALISIS DE RESULTADOS

4.1. Ventajas de la fístula esofágica

4.2. Desventajas de la fístula esofágica

5. LITERATURA CITADA

LISTA DE CUADROS CUADRO Página

1	CONTAMINACION SALIVAL EN MUESTRAS COLECTADAS POR FISTULA ESOFÁGICA_____	12
2	CONTENIDO QUIMICO DE LA SALIVA DE DIFERENTES ESPECIES	13
3	VARIACION DIURNA EN LA DIETA SELEC- CIONADA.....	17

LISTA DE FIGURAS

Figura Página

1	Identificación de los planos anatómicos durante la cirugía de fístula esofágica	7
2	Diagrama de una cánula completa con dimensiones para ovejas y cabras	8
3	Cánula modificada con un tapón para prevenir la compactación de alimento y reducir el peso de la cánula en el cuello del animal	9
4	Bovino mostrando la disposición y funcionamiento de la fístula	25

I. INTRODUCCION

Gran parte de la zona norte de México como una fuente potencial de agostadero para alimentar a los bovinos destinados a la producción de carne. El propósito principal de la ganadería extensiva del norte del país es producir becerros de carne para exportación a los Estados Unidos. Aproximadamente 250,000 animales son exportados al año, sin embargo aunque parezca muy significativa la cantidad de animales exportados, la producción de pastizal puede considerarse inadecuada y por lo tanto debe de ser incrementada a través de programas prácticos de nutrición.

La administración exacta de la composición química de la dieta de los animales en pastoreo, representa el mayor problema de los ganaderos de esta área, lo que es considerado esencial para la evaluación y manejo de las áreas de pastizales.

Se requiere una muestra representativa del forraje ingerido para detectar deficiencia nutricional en dietas a base de pastos. El coleccionar muestras representativas de forraje de la dietas de los animales en pastoreo es un problema complejo porque los animales seleccionan plantas y partes de plantas de una gran variedad de especies.

El forraje consumido por los animales en pastoreo difiere en composición del forraje disponible en el pastizal (43, 62, 87, 114). Estas diferencias existen porque los animales prefieren algunas plantas y ciertas partes de la planta. Bajo condiciones de pastoreo con una diversidad de plantas, las oportunidades para un pastoreo selectivo son favorables.

Generalmente los programas de suplementación dietética están basados en los datos obtenidos de las muestras de forraje cortadas a mano, pero diferentes a las que los animales en pastoreo seleccionan porque contienen diferentes nutrientes de los que se muestrean a mano, por lo cual los datos obtenidos por el método de cortes a mano no son prácticos ni veraces.

Desde que se desarrolló la técnica de la fístula esofágica (104) muchos de los trabajos de investigación son más representativos que cuando se usa la técnica de cortes hechos a mano para conocer el contenido de nutrientes de la dieta de los animales en pastoreo (16, 17, 20, 22, 28, 42, 50, 76, 103, 104). La técnica de la fístula esofágica ofrece un medio que permite al investigador coleccionar muestras de forraje, las cuales representan la dieta actual del animal que pastorea en áreas de pastoreo extensivo.

El objetivo de este trabajo es, proporcionar un amplio acervo bibliográfico acerca del uso de la técnica de la fístula esofágica.

2. ANTECEDENTES

En la actualidad, la literatura existente sobre el método de la fístula esofágica en el idioma castellano es escasa, casi toda ella se encuentra en revistas científicas extranjeras (Journals) y además la mayoría de los estudiantes tiene poco contacto con este tipo de publicaciones debido a su precio y poco accesibles.

Debido a que en los últimos años el método de la fístula esofágica ha tomado auge como método efectivo para determinar el valor nutritivo de la dieta de los animales en pastoreo, surge la necesidad de proveer al estudiante interesado en la nutrición en agostaderos, de un material científico reciente, actualizado y en su idioma acerca de dicha técnica y que además lo actualice en los últimos avances de la ciencia de la nutrición animal.

3. METODOLOGIA

3.1. Procedimientos Quirúrgicos

Dentro de la metodología disponible para obtener una muestra representativa del material consumido por el ganado, la fístula esofágica es una de las técnicas más apropiada para éste fin. En la actualidad una de las técnicas operatorias más comúnmente usadas. Para su implantación implica la colocación del animal en posición decúbito costal derecho con anestesia general (42).

Sin embargo el mantenimiento de rumiantes en posición decúbito costal aumentan los riesgos de timpanización sobre todo cuando por causa involuntaria el procedimiento quirúrgico se prolonga.

A continuación se describe la aplicación **de** la técnica propuesta por (65), para el establecimiento de fístula esofágica con el animal en pie y anestesia local, la cual elimina los problemas mencionados anteriormente, así como la construcción de cánulas esofágicas con material asequible en cualquier población para evitar la dependencia del uso de cánula de institutos, laboratorios o universidades extranjeras.

Los animales destinados a operarse deberían ser mansos y acostumbrados al manejo del vaquero.

3.1.1. Manejo Preoperatorio

Los animales tendrán acceso al agua 24 horas antes de la intervención. Durante este período se rasura una área de la canaladura esofágica, en el lado izquierdo y tercio inferior del cuello, empleando unos 10 - 15 cm. por debajo del ángulo postero-inferior de la mandíbula.

3.1.2. Técnica

Preanestesia:	Sulfato de Atropina
Dosis:	Según la talla del animal
Anestesia:	Anestésicos fijos por vía endovenosa o sin ella
Posición:	Decúbito costal derecho
Instrumental:	De cirugía general
Material especial:	Cánula esofágica
Suturas:	Catgut simple de los números 0 y 1
Posición del cirujano:	De lado derecho del animal

Primer tiempo: Se localiza la canaladura esofágica a 10 cm. del ángulo posterior de la mandíbula. Se hace una incisión en la piel dos dedos atrás del cartílago tiroides, en una extensión de 8 a 10 cm. según la talla del animal; se atraviesa la piel, tejido celular y músculo cutáneo; procurar que la hacer la incisión, la piel se fije con los dedos índice y pulgar de la mano izquierda, para evitar que se desplace, ya que esto sucede fácilmente en esa región por la cantidad de tejido laxo subcutáneo.

Segundo Tiempo: El músculo externo mandibular se retrae centralmente por medio de un separador de Farabeuf. A continuación se localiza el músculo esternocleidomastoideo dependiendo del grosor del músculo, este se puede atravesar por medio de disección a lo largo de las fibras musculares (desgarramiento), o bien una

vez liberado de tejido conectivo ventral se desplaza dorsalmente, cubriendo parcialmente la vena yugular.

Tercer tiempo: La traquea se palpa claramente a esta altura. El esófago se localiza dorsalmente a la traquea; para hacer su identificación mas fácil, se le pide a un asistente que introduzca una sonda esofágica, la cual se mantiene en posición para servir de referencia y facilitar la disección del esófago, la cual se realiza con el extremo posterior del bisturí o unas pinzas de Rochester pean cerradas (Figura 1).

Cuarto tiempo: Con el esófago liberado de tejido conectivo vecino, se retrae la sonda hasta el punto en que el extremo libre de la sonda se marca en la pared disecada del esófago.

Quinto tiempo: Con esa posición se fija el esófago con las pinzas curvas de Rochester pean, y se hace una incisión con un bisturí en forma longitudinal sobre la sonda en una extensión de 2 cm.

Sexto tiempo: La cánula que conste de dos piezas en forma de "L", cada una de las cuales tiene una lengüeta cóncava en su parte inferior de 7 y 9 cm. y un tronco sólido de 8 cm. Se introducen en el esófago, una dirigida hacia la cabeza y la otra hacia el tórax, los dos troncos empalman perfectamente y se sujetan por medio de un anillo de hule y una abrazadera (Figura 2).

Séptimo tiempo: Se reconstruyen los planos mediante puntos en "X" con poca tensión; se hace la unión de los músculos esternohioideo y

externocefalico, abarcando la aponeurosis media y la superficial.

Octavo tiempo: Se afronta la piel con puntos separados, abarcando tejidos

celular y aponeurosis superficial. Noveno tiempo: Se extrae la sonda, se

verifica la posición de la suturas y se

procede a insertar la cánula, previa aplicación local de

antibióticos y repelente de insectos. En todos los tiempos, a excepción

del sexto, son asépticos. Aparte de la cánula ya descrita, se recomienda también usar

cánulas de acrílico con tornillo, para que pueda ser removida cuando se vaya a muestrear,

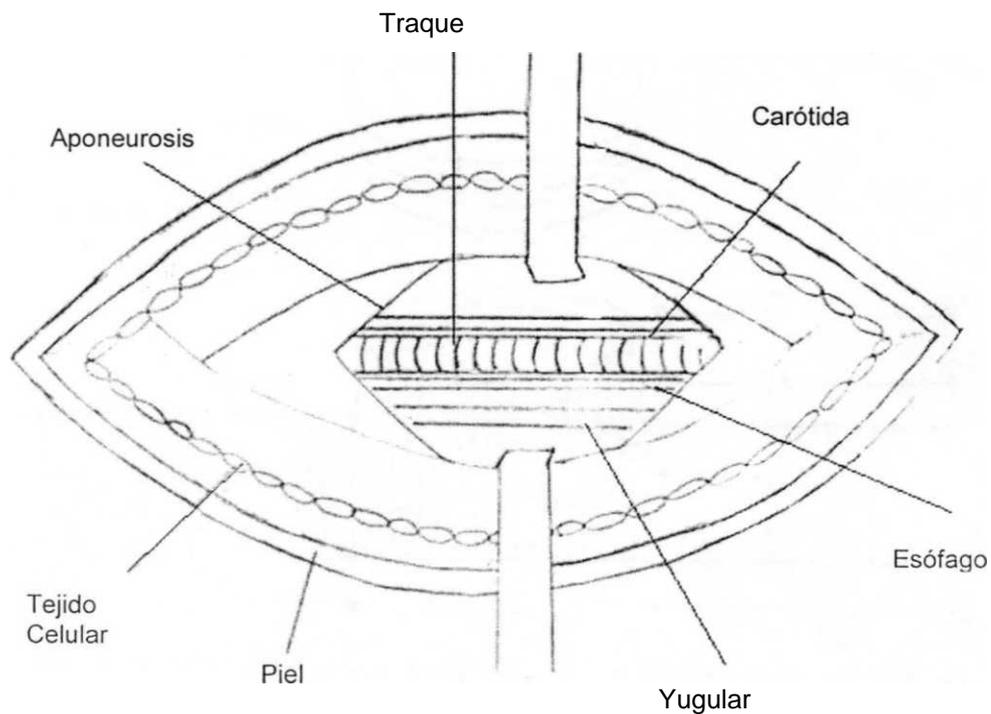


Figura 1. Identificación de los planos anatómicos durante la cirugía de Fístula esofágica

aunque el método más recomendable de cerrado es con un tapón de goma.

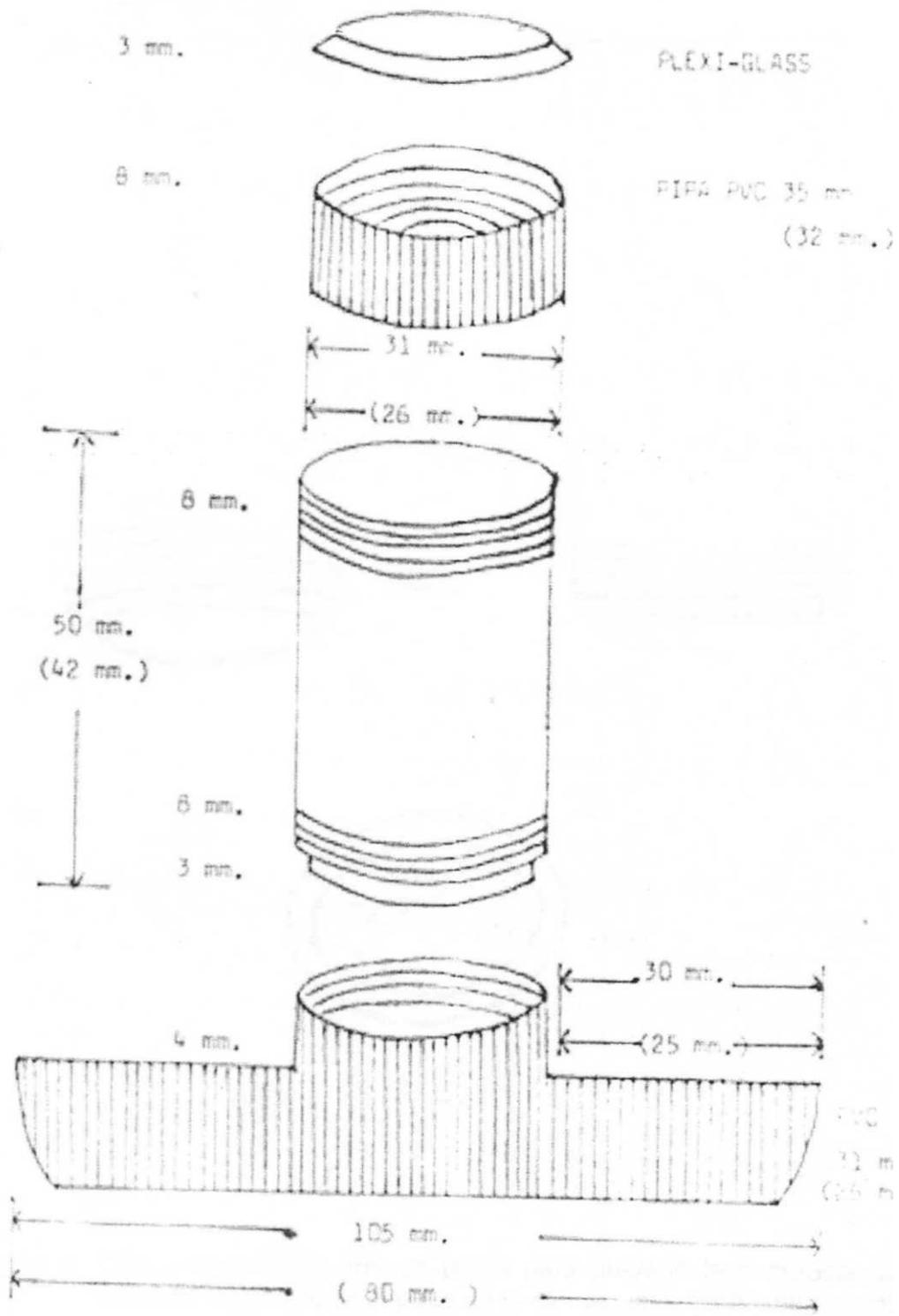


Figura 2. Diagrama de una cánula completa con dimensiones para ovejas y cabras

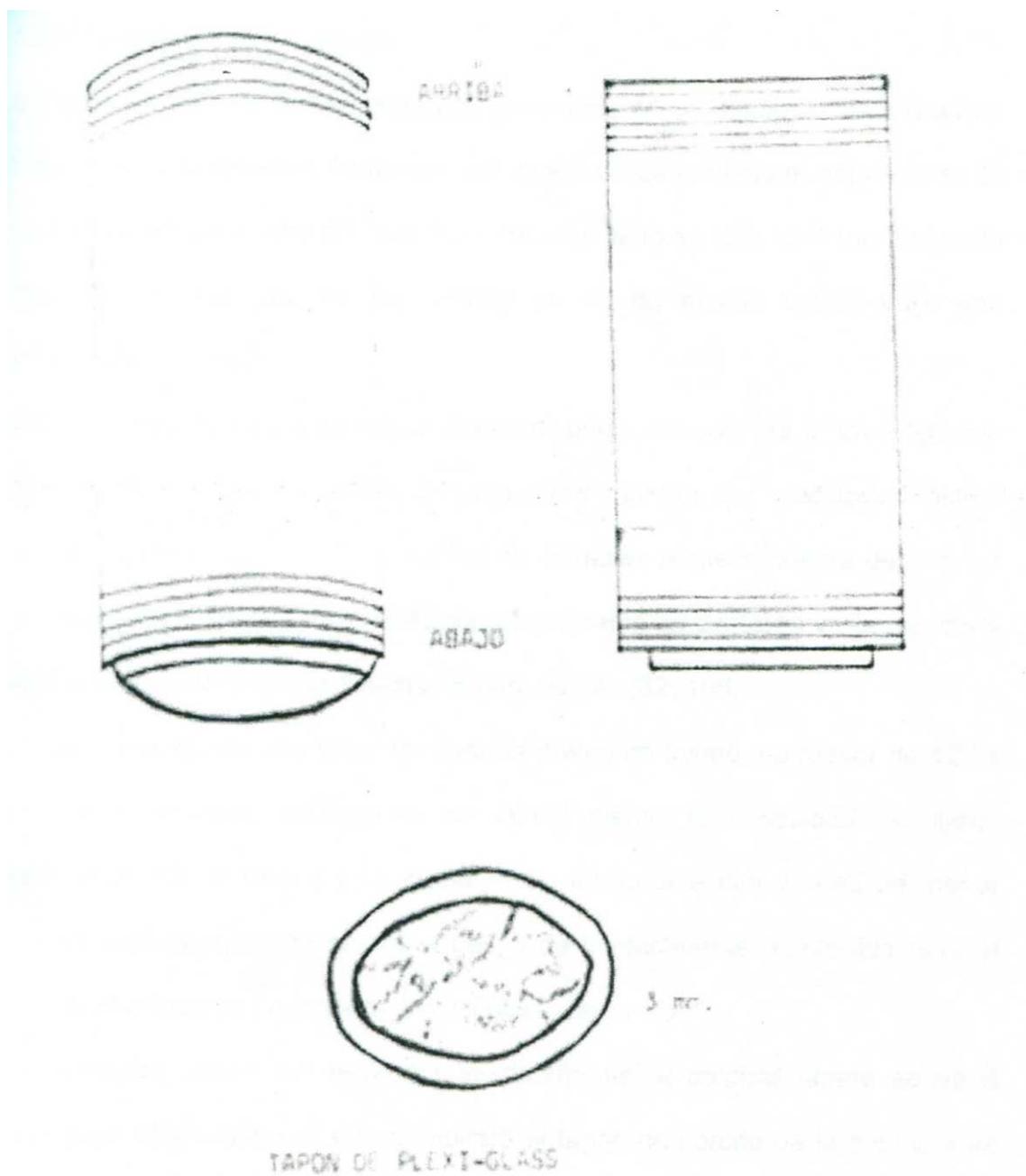


Figura 3. Cánula modificada con un tapón para prevenir la compactación de alimento. Esto reduce el peso de la cánula en el cuello del animal

3.2. Procedimiento de Campo.

En los animales con fístula esofágica generalmente se requieren de 0.5 a 4 hs para coleccionar la muestra. El tiempo del muestreo generalmente depende de la disponibilidad del forraje (62, 82, 107). Algunos autores (62, 107) han sugerido que una muestra por día por animal no es de mucha ayuda para una información adicional.

Los intervalos entre las muestras depende principalmente de la investigación que se esté llevando a cabo; las muestras pueden ser coleccionadas diario, semanal o mensualmente. La cantidad de animales requeridos para determinar la composición química de la dieta de los animales en pastoreo varía de uno a ocho bovinos (62, 87) y de 1 hasta 25 para ovejas (82, 106). Los animales deben mantener un período previo de ayuno, no mayor de 12 hs ya que si es mas prolongado el animal siente la necesidad de llenar inmediatamente el rumen y no pastorea en forma selectiva y si es de menor prolongación las muestra corren el riesgo de contaminarse contenido ruminal cuando el animal ya ha empezado el proceso de rumia.

Los animales deben ser llevado inmediatamente al pastizal donde se va a muestrear. Una vez en el sitio se quitará el tapón de corcho de la cánula y se colocara la bolsa coleccionadora de doble fondo para evitar en lo posible la contaminación salival; los animales se soltaran para dárseles la libertad de consumir el tipo de planta que ellos prefieran sin restricción alguna y después del tiempo preestablecido para la colecta, se coleccionará la muestra en bolsa de plástico, la cual se debe identificar para su posterior análisis y al animal se le

colocará el tapón de corcho y se le retirará la bolsa colectora para que consuma el alimento que requieran sus necesidades de volumen.

3.3. Factores y fuentes de variación que afectan las muestras esofágicas.

3.3.1. Contaminación salival y masticación parcial. La contaminación salival es probablemente el factor que mas afecta la composición química de las muestra **de forraje** colectadas por animales con fístula esofágica.

El efecto de la composición química de! forraje ha sido revisado por diversos autores (46, 63, 70, 80, 107, 112).

Algunos estudios han mostrado que la contaminación salival incrementa el contenido de ceniza de las muestras **de forraje de** la fístula esofágica cuando se compara con forrajes de composición conocida (Cuadro 1). Otros autores (93) reportan que la magnitud **de** la contaminación **de** ceniza en muestra fistulares fue de 37 a 51%; los incrementos en ceniza fueron del orden de 2.3 a 3.4 unidades porcentuales y estas cantidades son iguales a las reportadas por otros investigadores (11, 12, 20, 65).

La contaminación salival de las muestras fistulares puede ser reducida por muestras de forraje colectadas a mano para remover el exceso de saliva o bien usar bolsas colectoras con fondo de tela de mosquitero plástica. Ambos métodos reducen la contaminación saliva, pero pueden bajar los nutrientes solubles (1, 25, 46, 63, 107).

El problema de corregir la contaminación de saliva parece estar relacionada con la madurez, el contenido de materia seca del forraje y con el porcentaje y composición de la saliva (112).

Las estimaciones del flujo salival y de su composición nunca son exactas (54). Las muestras fistulares pueden ser corregidas para constituyentes minerales calculando la cantidad de saliva absorbida 'por la muestra cuando esta está completamente empapada de saliva (25), sin embargo los problemas causados por la contaminación salival pueden corregirse si los datos se expresan en base a materia orgánica libre de ceniza (11, 16, 20, 25, 42, 46, 55, 62, 68, 101,106, 107, 112).

En cuanto a la composición de la saliva existen diferentes opiniones, en cuanto a los resultados que han obtenido varios autores (cuadro 1). La saliva puede contribuir significativamente en el aumento de las cenizas, fósforo (P), potasio (K) y sodio (Na) y puede contener significativamente nitrógeno (N), para modificar el valor de la proteína cruda (PC) de las muestra fistulares bajo ciertas condiciones.

CUADRO 1. CONTAMINACION SALIVAL EN MUESTRAS COLECTADAS POR FISTULA ESOFÁGICA.

Referencia	Lugar	Dieta	Especie animal	Contaminante	Nutriente
Barth et al. 2004	California	Alfalfa	Ovejas	Ceniza	Materia seca
Lesperance et al. 2003	Nevada	Pasto y alfalfa	Bovino	Ceniza	Energía Neta
McManus. 1998	Australia	Varios forrajes	Ovejas	Cenizas	Materia Orgánica
Arnold et al. 2006	Australia	Forrajes frescos	Ovejas	Cenizas	Materia orgánica
Coleman 2001	Australia	Forrajes frescos	Ovejas	Cenizas	Materia orgánica
Hoehne et al. 2004	Nebraska	Boutelova gracilis	Bovino	Ceniza	Energía neta

CUADRO 2. CONTENIDO QUIMICO DE LA SALIVA DE DIFERENTES ESPECIES ANIMALES

Autor	Especie	M.S.	Cen	N	PC	P	Na	K
McDougall, (1992)	Oveja	1.28	97.0	2.0	9.77	0.08	0.41	0.03
Somers, (2003)	Oveja	1.11	66.77	3.18	17.98	–		
Lesperance, (2003)	Bovino	1.06	85.0			0.03	0.33	0.03
Bailey y Balach (2003)	Novillos	1.05	91.0	0.76	4.51			
Marshall et al. (2003)	Bovinos	1.04	82.33	1.45	8.74			

Sin embargo, la contaminación de N puede ser minimizada manteniendo a los animales fistulados con una dieta isonitrogenada igual a la que se esta muestreando (13, 29, 46, 57, 62, 65, 69, 70, 72, 73, 96, 107).

El contenido de nitrógeno de la saliva difiere entre dietas (10, 35, 49, 54, 64).

El nivel de contaminación de ceniza ha sido alto en forrajes secos o fibrosos (9, 20, 53, 55, 62, 63). La contaminación de ceniza se incrementa cuando la materia seca o contenido de fibra se incrementa, esto debido a que las dietas secas y fibrosas estimulan grandemente la secreción salival.

El rango de incremento fue de 43% en alfalfa y del 200% en pasto navajita

(*Bouteloua gracilis*). Otros resultados parecidos fueron obtenidos por otros investigadores (13, 65).

El potasio y el sodio son incrementados generalmente en cantidades significativas por la contaminación saliva y se sugiere (62, 70) que se retire la sal como suplemento de la dieta de los animales fistulado para comprobar si puede bajar o disminuir el grado de contaminación mineral de las muestras

fistulares, especialmente al Na y Cl; tal practica puede afectar el comportamiento animal. El calcio es generalmente incrementado en muy poca cantidad en las muestras colectadas por fístula esofágica (13, 42).

Otro investigador (13) reporta un pequeño incremento en el contenido de calcio de aproximadamente 5.5% debido a la contaminación salival.

Las muestras obtenidas por medio de la fístula esofágica pueden ser usadas para estimar el contenido de calcio del alimento, tal como ha sido demostrado con ovejas (67, 97) y con bovinos (65), en contraste con e_i encontrado por otros autores (46) que afirman que el calcio de las muestras fistulares fue tan bajo como el calcio del alimento.

Otro investigador (66) encontró que los niveles de Ca, S, Cu y **Mg** en el forraje de la dieta puede ser predicho para las muestras esofágicas como una precisión bastante aceptable con un error del 9% pero la concentración en el alimento de Mo y Mn pueden ser predichas solamente con un error de $\pm 15\%$, por su parte el contenido de Zn de las muestras fistulares de forraje fue considerable y muy variado y generalmente excede el Zn del alimento. Por todo lo anterior las variaciones en el consumo de minerales puede afectar la concentración de los minerales en la saliva excretada (95). La concentración del nitrógeno en la materia seca de la saliva es igual al contenido de nitrógeno de los materiales alimenticios (65).

Un investigador (69) sugiere que la influencia de la saliva en el contenido de nitrógeno de la muestra puede depender de la cantidad de saliva para mezclar el forraje así como el porcentaje de nitrógeno en base a materia seca, esto es si el forraje en la muestra fistular tiene un contenido menor de PC que el

contenido de la saliva, el nitrógeno puede ser agregado a la muestra, y un forraje con alto porcentaje de PC, la saliva debe ser sumada mas en MS que en nitrógeno.

Otras observaciones (34) muestran que la contaminación de nitrógeno salival esta relacionada con el grado de masticación lo que puede explicar el alto contenido de PC de las muestras fistulares de forraje de baja calidad por esto se ha visto que la masticación se incrementa con el consumo de las dietas fibrosas.

Se ha encontrado (8, 9, 93) que el contenido de PC en la dieta es alto dependiendo de las especies y requiere análisis por separado para cada especie de forraje.

El efecto de la contaminación salival y la masticación en fibra, lignina y contenido de carbohidratos solubles de las muestras de forraje colectadas a través de fístula esofágica ha sido reportado por varios autores. Generalmente las muestras fistulares son altas en fibra y en lignina, mientras que los carbohidratos solubles tienden a ser bajos (11, 12, 24, 62, 63). También existen diferencias considerables entre los reportes que se tienen del porcentaje de carbohidratos de la muestra fistular de forraje y el forraje sin muestrear (13, 20, 44, 55, 67, 86).

Los constituyentes de la pared celular (CPC), FDA y Lignina insoluble en acido (LIA) contenidos en las muestras fistulares de heno forrajero es muy bajo (91). Las muestras fistulares de alfalfa generalmente contienen un alto porcentaje de CPC, FDA y LIA que la alfalfa no muestreada.

EOOSS

«onsuma a diferente velocidad a esas horas. Desde luego, es bien conocido ue las ovejas pastorean a diferentes horas en las estaciones del año. Algunos trabajos (57) sobre el N, se realizaron en el invierno cuando las ovejas pastorean más o menos continuamente durante el día. La distribución es muy diferente en el verano y la variación diurna en la dieta puede ser también diferente.

CUADRO 3. VAR;ACION DIURNA EN LA DIETA SELECCIONADA

Autor	Año	Resultados
Arnold et al.	2004	Diferencias no significativas en N, carbohidratos solubles y composición botánica.
Kiesling et al	2000	El N y energía más altos en la tarde. No hubo diferencias en el E.E., celulosa y ceniza.
Langlands	1985	La variación diurna definida en N, cambios en el contenido de P pero sin forma definida
Taylor	1997	Cambios en N y digestibilidad

Otro investigador (78) reporta diferencias significativas en el N de **la** dieta y la cantidad de lignina diaria. En recientes estudios se encontraron diferencias significativas entre días para PC pero no para FC.

3.3.3. Contaminación **Ruminal**

La contaminación de las muestra fistuiare por material regurgitado del rumen no es un problema serio, siempre y cuando no se prolongue el muestreo por mas de dos horas (25), otros autores también reportan (13) que periodos de recolección de mas de 30 minutos incrementan **la** regurgitación del contenido ruminal.

La contaminación ruminal de muestras de fístula esofágica del ganado ocurre principalmente cuando las recolecciones se efectúan entre las 10 y 16 horas, porque esta es la hora del día en que el ganado rumia (6). Las muestras con contenido ruminal no deben ser usadas para los análisis químicos.

3.3.4. Preparación **de la muestra.**

La preparación de la muestra es importante cuando se trata de determinar la composición química y la digestibilidad de muestras de forraje obtenidas de fistulas esofágicas.

La preparación de la muestra puede afectar el contenido químico de las muestras de forraje obtenidas de fistulas esofágicas.

La preparación de la muestra puede afectar el contenido químico de las muestras fistulares; la adición de agua, saliva artificial o la saliva de la muestra

de forraje, generalmente incrementa el contenido de lignina y otros carbohidratos solubles que no son incrementados (30, 102). Otros investigadores (30) reportaron que las muestras de fístula esofágica lavadas con agua de la llave bajaron significativamente la MS, ceniza y DMSIV en comparación con el forraje ofrecido. Mas sin embargo la contaminación de la ceniza fue muy baja cuando se lavó la muestra, la muestra lavada fue todavía más alta en ceniza que la del forraje consumido por los animales y colectadas por los investigadores.

Por otro lado, la celulosa, FDA y lignina fueron significativamente incrementadas por el lavado.

Un investigador (42) puntualiza que los cambios químicos en las muestras fistulares se previene por muestras húmedas liofilizadas, pero no por secado en vacío (25°) o bien por secado (65°).

El lavado de la muestra fistular con agua destilada durante 2 a 5 minutos para determinar cambios químicos que pueden ocurrir durante la preparación de la muestra por otro investigador (97). Ambos tiempos o sea los dos minutos de lavado y los cinco minutos de lavado disminuyeron el contenido de PC de las muestras fistulares; y esto está de acuerdo a los resultados obtenidos por otros

i

autores (11,12, 62).

Los resultados de la DMSIV muestran una gran baja en la digestibilidad debido a la poca cantidad de componentes solubles cuando las muestras fistulares fueron lavadas.

Algunos autores han indicado que el secado de las muestras pueden causar cambios significativos en la composición química de la muestra (1, 2, 3, 31, 52, 71, 77, 85, 108, 116).

El secado en horno y el secado al aire son los métodos más frecuentemente usados para el secado de forraje colectado de los animales fistulados en el esófago porque requieren de poco trabajo y mínima experiencia. Hay que observar que la temperatura de secado puede incrementar el porcentaje de lignina en el forraje (71).

Los investigadores (62) indican que comparando las temperaturas de secado de 100° contra 50°, encontraron que esta última incremento el FDA y los valores de la lignina del forraje.

Otros investigadores también reportaron incrementos en los valores de la lignina y fibra cuando se secó la muestra a altas temperaturas y también (3, 107), sugieren que el secado con calor puede bajar el contenido de plomo o algunos constituyentes orgánicos.

La baja de materia orgánica causada por secado al horno o secado al aire no es tomado en cuenta por los investigadores en los estudios de nutrición, sin embargo los análisis químicos de las muestras colectadas por fístula esofágica son reportadas en la literatura como un porcentaje de la MS o MD y no reflejan con precisión la composición del forraje consumido (2).

Las muestras fistulares deben ser secadas a bajas temperaturas nunca a más de 55° ; cuando se seca a altas temperaturas pueden ocurrir cambios muy severos en la composición química, especialmente en fibra, lignina, carbohidratos solubles, PC y DMSIV como la mencionan (29, 37, 19, 100).

Otros investigadores (2) concluyen que el secado al aire y el secado al horno no son unos métodos convenientes para secar el forraje colectado de los animales con fístula esofágica. Algunos estudios han demostrado que el secado en frío da una estimación mas exacta de los constituyentes químicos que el secado al aire y en horno como lo afirman (91, 92, 96). Esto es debido probablemente a que se preserva íntegra la pared celular (32, 115). Sin embargo (30, 59) reportaron que no hubo diferencias entre el secado en frío y el secado al horno para N, MS, Cenizas, Fibra, lignina y DMSIV de las muestra fistulares. Otros investigadores (31) encontraron incrementos de la hemicelulosa en el secado al horno, mientras que (52) no encontraron diferencias entre muestras secadas al horno y en frío; investigadores como (58) reportan valores más bajos en muestras secadas al horno que en muestras secadas en frío. Todas las descripciones anteriores quizás sean debidas a las variaciones en la baja de MD para diferentes tipos de forraje con condiciones diferentes de secado y métodos de corregir y expresar los datos (2).

También algunos investigadores (91, 92) reportaron que el secado en horno a 55° causó un incremento de la PC (5.7%), FDA (4.1%) y DMSIV (2.7%), comparando los datos con otros obtenidos pro secado en frío, aunque algunas diferencias fueron variables y no muy consistentes en los experimentos. Las muestras secadas en horno fueron tan altas en lignina como las secadas en frío, con incrementos de 23 a 36%. La composición mineral del forraje no fue afectada por los métodos de secado. Estos autores concluyen que con la excepción de la lignina, la baja significancia biológica de los métodos de

secado, indican que el secado en horno o temperaturas menores de 55° pueden ser usadas con una buena confianza para análisis de muestras fistulares. El secado de las muestras puede causar cambios en algunos componentes inorgánicos (46).

Los análisis del contenido del cloro (Cl) en las muestras fistulares-de sácate han demostrado que secando a 50° dieron como resultado un alto valor del Cl que cuando las muestras fueron secadas a 100° (45).

El Ca, P y algunos otros elementos de las cenizas son volátiles y supuestamente es debido a que en el secado no tiene una influencia significativa el tiempo transcurrido desde la colección de la muestra a la iniciación del secado, se puede tomar como una fuente de error. Los investigadores (91, 92) concluyen que la alteración de la composición química del forraje fue debido a los efectos *per se* de la fístula esofágica y no al tiempo que la muestra fistular estuvo expuesta a la temperatura ambiente antes de la iniciación del secado. El tiempo transcurrido para enfriamiento la muestra esofágica posterior a 4 horas después de la colección parece no alterar la composición química de la muestra; esto es un indicador de que ocurre una degradación en la planta que no se puede apreciar en la colección de la fístula dentro de las primeras 4 horas como lo dice (2).

Los efectos de exprimir con la mano las muestras de la fístula esofágica para remover la contaminación salival, fueron determinadas por (46, 97). Los investigadores (46) reportaron que las muestras exprimidas con la mano tuvieron un bajo contenido de minerales (cenizas, Ca, Cl y P) y de PC que las muestras no exprimidas, las muestras exprimidas y las no exprimidas tuvieron

igual contenido de carbohidratos solubles en agua (CSA) y las muestras exprimidas tuvieron un FDA tan alto como las muestras no exprimidas. Resultados similares en bajas de PC, FDA y en lignina parece ser que se debieron a la remoción de los excesos de saliva según lo que obtuvieron (97); sin embargo, estos autores observaron que el contenido celular fue tan bajo para las muestra exprimidas.

Estas diferencias en FDA, contenido celular y lignina están de acuerdo a las que reportan (11, 12, 62).

La baja de los componentes solubles debido a la exprimida se incrementa en porcentaje relativo de componentes insolubles y consecuentemente la DMSIV de las muestras exprimidas es menor que la del forraje disponible. Estos datos muestran que la preparación de la muestra es importante cuando se está determinando la composición y la digestibilidad de forrajes obtenida por fístula esofágica.

Por ultimo, el tipo de bolsas colectoras usadas para colectar las muestras, se ha visto que tiene influencia en la composición química de la muestra (63). El uso de una malla fina en el fondo de la bolsa colectora 'puede reducir la contaminación salival, pero junto con la saliva pueden escapar los carbohidratos y la proteína (5, 25, 38, 46, 107).

Recientemente los investigadores (2) estudiaron la composición de las muestras del forraje de fístula esofágica colectadas en una bolsa con fondo de malla (bolsas abiertas) y en bolsas cerradas. Las muestras de las bolsas abiertas tuvieron alta PC y lignina, pero los carbohidratos no estructurales fueron bajos como resultado del colado. Los incrementos aparentes de PC y

lignina fueron debidos probablemente a una baja de otros constituyentes orgánicos, estos resultados apoyan algunos otros reportes como los de (3, 19, 57,70,84,90,108,115).

También (57) dice que el uso de la fracción sólida y líquida de la muestra fistular es preferible para medir la DMSIV y (69) reportan que la dieta conteniendo N y MS debe ser determinada con más precisión usando ambas fracciones.

3.3.5. Recolección incompleta de la muestra.

Algunos investigadores han notado que existe una recolección incompleta de la muestra del forraje por el ganado (12, 20, 55) y ovejas (15, 25, 38). De acuerdo con (63) la recolección completa del material ingerido es casi imposible que suceda. El porcentaje de la recolección de la muestra generalmente es del 26 al 97% con algunos factores que afectan el grado de recolección de la muestra a través de la fístula esofágica, Le., tipo de cánula, tamaño de la fístula esofágica, el tipo de aumento y tal vez de la especie animal. Los tipos de cánula usadas son la cánula permanente (28, 89, 100, 11) y la cánula removible (14, 18, 33). Las principales ventajas de la cánula removible son que provocan pocos problemas en la salud del animal y generalmente se obtiene una recolección más completa (107).

El problema principal que se tiene con el uso de la cánula permanente es que puede producir un embolsamiento en la parte anterior de la fístula (107). El grado de recolección de la muestra por medio de animales fistulados esofágicamente, se relaciona estrechamente con el tamaño de la fístula. Los

investigadores (20) obtuvieron recolecciones de 26 a 24% de dos zacates con ganado fistulado con cánula permanente.

Sin embargo las cánulas que fueron usadas en este estudio tuvieron una baja recolección debido a una abertura pequeña. No hay diferencias significativas en la cantidad de zacate fresco, heno de zacate o alfalfa peleteada con animales fistulados, en unos estudios llevados a cabo por (15).

El porcentaje de recolección de las muestras a través de la fístula esofágica fue de 68.19%, 59.10% y de 66.63% para zacate fresco, heno de zacate y alfalfa peleteada respectivamente.

Los investigadores (55) colectaron 88 y 92% de alfalfa y de zacate toboso (*Hilaria mutica*) respectivamente, por medio de cánula removible en bovinos. Otros investigadores (12) reportaron que la materia seca recuperada de la muestra de forraje obtenida por fístula esofágica varió de 33 a 91% con una media del 67%.

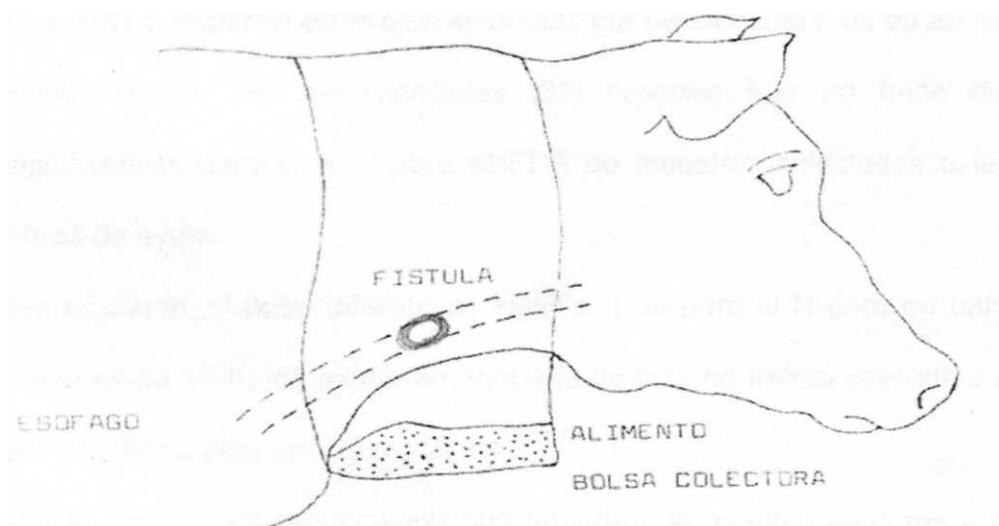


Figura 4. Bovino mostrando la disposición y funcionamiento de la fístula.

3.3.6. Período de ayuno antes de la colección.

Una fuente de variación en la técnica de la fístula esofágica puede estar asociada con el periodo de ayuno antes de la colección. Algunos investigadores reportan que ayunaron a sus animales antes de la colección, esto parece que tiene una medida poco crítica en el efecto de la duración del ayuno en la composición química y botánica del forraje seleccionado. Después del periodo de ayuno antes de la colección regularmente el periodo de ayuno antes de la colección regularmente el periodo de colección se acorta porque el animal pastorea continuamente y esto reduce la posible contaminación con material regurgitado, tales practicas han dado una técnica estándar en la salivación y como resultado nuestros errores experimentales se pueden elevar (39, 68, 78, 99). Otros investigadores (5) reportan diferencias en la composición química y botánica de las m muestras fistulares entre animales ayunados y no ayunados y concluyen que los animales ayunados son menos selectivos. Sin embargo (57) no encontró diferencias en el contenido de muestras colectadas de ovejas ayunadas por periodos de mas de 22 horas. Recientemente los investigadores (39) reportan que no hubo diferencias significativas para el N ni para el FDA de muestras colectadas a las 0 y 24 horas de ayuno.

Sin embargo, si hubo diferencias significativas para el N pero no para el FDA después de 12 hs de ayuno anterior a la colecta no fueron diferentes a las que se colectaron después de 0 y 24 hs.

Por lo tanto, podemos concluir que periodos de ayuno superiores a las 12 hs anteriores a la colecta de muestra de fístula esofágica no lleven ningún error y

no hay efecto significativo en la composición química de las muestras colectadas.

3.3.7. Numero de animales por tratamiento y tamaño del tratamiento.

El numero de animales requeridos para obtener muestras representativas del forraje y su posterior evolución nutritiva ha sido discutida por varios autores (78, 88, 106, 113). Otro investigador (79) reporta que la variación resultante de muestrear con 3 animales por tratamiento por 4 días consecutivos, le permitió obtener una diferencia media en el contenido **de N de** forraje consumido por bovinos en agostador con un nivel de confianza del 85% y el 10% de probabilidad.

Varios investigadores han encontrado que el uso de seis o menos animales es suficiente para estudiar las características nutritivas de **la** dieta con un 10% de significancia y un nivel de confianza del 90%. En cuanto al contenido de lignina se requieren mas animales para hacer unas mediciones mas precisas (78, 113). Un periodo consecutivo de 4 días de colección con cuatro animales fistulados es necesario para estimar las características nutritivas de la dieta como son: PC, FDA, DMSIV o DMOIV con una precisión aceptable. El número de animales necesarios depende de la variedad de la vegetación. Aumentando el número de días y bajando el número de animales puede ser que se facilite la investigación si la composición química del forraje bajo estudio no tiene cambios rápidos (78).

Mientras que en condiciones de cambios rápidos en la composición química y el valor nutritivo del forraje, en número de días en los cuales las muestras pueden ser obtenidas, debe ser mínima.

Otros investigadores (105) concluyen que el número de animales por días necesarios para un nivel de confianza del 95% dentro de 10% de la media fue 5.6 para PC y 28.7 para E.E., mientras que para la PC fueron requeridos 4.1 animales por día.

3.3.8. Variación entre animales.

La variación entre animales y días debe ser evaluada para determinar el número de muestras necesarias para establecer un grado aceptable de confianza. Unos investigadores (105) reportan que las diferencias entre animales no es significativa para PC y E.E. Sin embargo, la variación den la composición química y botánica de las muestras de forraje colectadas por medio de la fístula esofágica puede suceder en los animales por diferente selectividad en el pastoreo (78). Otros investigador (11) muestra que diferencias significativas entre animales solo hay en el porcentaje de ceniza y lignina, mientras que no se encontraron diferencias para PC y DMSIV. Variaciones pequeñas y no significativas en el N de la dieta y el contenido de lignina entre animales fueron reportados por (78). La variación animal en la lignina y el contenido de N de las muestras de la dieta generalmente se incrementa cuando el contenido de cada una es tan alto en el forraje como en la especie forrajera silvestre consumida.

3.3.9. Carga animal y condición del pastizal.

Existen solo pocos datos del efecto de la presión del pastoreo y la condición del pastizal en la composición del forraje ingerido por animales bajo condiciones de pastoreo (39), otros investigadores reportan que las muestras fistulares colectadas en un pastizal sobre pastoreado, tuvo significativamente menos N que las colectadas en un pastizal poco pastoreado; diferencias similares fueron observadas para FDA. Otro investigador (27) establece que cuando la condición del pastizal fue comparada para diferenciar grados de utilización, el contenido de nutrientes de las dietas colectadas no fue diferente.

Recientemente (81) estudió el efecto de la condición del pastizal en el valor nutritivo de la dieta de novillos en pastoreo y encontró que la DMSIV fue menor en forrajes con una alta condición de buena a excelente, que para pasturas con condición buena baja. En contraste (26) encontró que la digestibilidad fue alta en dietas de borregos pastoreando en zacates de buena condición, como en zacates de contenido pobre.

La proteína cruda fue tan alta para pasturas de condición buena excelente como pasturas de condición baja.

Resultados similares para PC fueron obtenidos por otros investigadores (36).

4. ANALISIS DE RESULTADOS 4.1. Ventajas

de la fístula esofágica.

a) Simplicidad

Los procedimientos para el muestreo con fístula esofágica son simples y requieren menos tiempo de muestreo que la fístula ruminal (103). Esto es una

marcada ventaja cuando se recolectan una cantidad adecuada de muestras las cuales representan la dieta del ganado en pastoreo.

b) Preferencia- Generalmente la fístula esofágica es preferible a la fístula ruminal (48), debido a que en la fístula ruminal los animales están sujetos a la evaluación del rumen, lo que provoca condiciones fisiológicas anormales; además está limitada a grandes rumiantes y es más complicada (86).

c) Exactitud

Algunos investigadores (94) dicen que una de las mayores ventajas de la fístula es que es la técnica más exacta para estimar el contenido de N en el forraje en ovejas.

4.2. Desventajas de la fístula esofágica.

a) Atenciones post operatorias.

La constante atención que se requiere para mantener a los animales fistulados es una desventaja cuando se muestrea bajo condiciones de pastoreo (103).

b) Contaminación ruminal.

Unos investigadores (48) citan como fuente de contaminación el contenido ruminal, la recolección incompleta, el alto costo y la poca precisión en el muestreo para las especies de forrajes que componen la dieta.

c) Gran costo.

Actualmente por practicar dicha operación el costo es aproximado a los 300 dólares americanos y el personal especializado no es muy numeroso, por lo cual la falta de personal técnico capacitado es otra desventaja (40).

D) Periodo de vida.

El periodo de vida que tienen los animales con fístula esofágica es de tres años a lo máximo, mientras que los animales con fístula ruminal pueden vivir hasta 7 años.

Con respecto al personal capacitado se afirma que en México existen pocos técnicos para realizar los muestreos tal como lo recomiendan los creadores de esta técnica, ya que cuando se muestrea con animales fistulados, cada investigador hace las innovaciones que el cree pertinentes, no siendo estas las mas adecuadas.

LITERATURA CITADA

1. Acosta, G.R.A. 2001. Chemical composition of esophageal fistula forage samples as influenced by drying method, salivary leaching and sample preparation. M.S. Thesis. Texas A&M. University, College Station.
2. Acosta, G.R.A. and M.M. Kothmann. 2002. Chemical composition of esophageal fistula forage samples as influenced by drying method and salivary leaching. J. Anim. Sci. 47:691.
3. Aerts, J.V., D.L de Brabander, B.G. Gottyn and R.J. Moermans. 2004. Comparison of method for dry matter determination of high moisture roughages and faeces. J. Sci. Food. Agr. 25:619.
4. Alder, F.E. 1989. The use of cattle with esophageal fistulae in grassland experiments. J. Brit. Grassl. Soc. 24:6.
5. Arnold, G.W., J. Ball, W.R. McManus and I.G. Bush. 2004. Studies on the diet of the grazing animals: I. Seasonal changes in the diet of sheep grazing on pastures of different availability and composition. Australian J. Agr. Res. 17:543.
6. Arnold, G.W. and M.L. Dudzinski. 1978. Etiology of free ranging domestic animals. Elsevier Scientific Publ. Co. New York. ¹
7. Arnold, G.W., W.R. McManus and I.G. Bush and J. Ball. 2004. The use of sheep fitted with esophageal fistulas to measure diet quality. Australian J. Exp. Agr. Anim. Husb. 4:71.

8. Autrey, K.M. 1964. Effect of ration fed on composition of bovine saliva and volume of saliva flow. 79th Annu. Meet. Dairy Sci. Ass. Tucson, Arizona.
9. Bailey, C.B. 2001. The rate of secretion of mixed saliva in the cow. Proc. Nutr. Soc. 18:13.
10. Bailey, C.B. and C.C. Balch. 2003. Salivary secretion and its relation to feeding in cattle. I. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. Brit. J. NUtr. 15:383.
11. Bart, K.M., J.E. Chandler, M.E. Fryer and C. Wang. 2000. Effects of saliva and drying temperature on composition and digestibility of forage samples collected through esophageal fistula. J. Anim. Sci. 31:794.
12. Barth, K.M. and NT. Kazzal. 1999. Separation of true selective grazing by cattle from effects of the esophageal fistula. J. Anim. Sci. 33:1124.
13. Barth, D.L., W.C. Weir and D.T. Torell. 2004. The use of the esophageal fistula for determination of consumption and digestibility of pasture forage by sheep. J. Anim, Sci. 15;1166.
14. Bedell, T E . 2003. Seasonal preference of grazing cattle and sheep in western Oregon. J. Range Manage. 21:291.
15. Blackstone, J.B., R.W. Rice and W.J. Johnson. 2000. A study of the esophageal fistula sampling technique. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 16:75.

17. Bohman, V.R. and A.L. Lesperance. 2000. Methodology research for range forage evaluation. *J. Anim. Sci.* 26:820.
18. Bredon, R.M., D.T. Torell and B. Marshall. 2003. Measurement of selective grazing of tropical pastures using esophageal fistulated steers. *J. Range Manage.* 20:317.
19. Breen, M.J. and R.A. Hunter. 2001. An improved esophageal fistula plug. *J. Australian Inst. Agr. Sci.* 42:126.
20. Burns, J.C., C.H. Noller y CL Rhykerd. 1999. Influence of drying method and fertility treatments on the total and water soluble nitrogen contents of alfalfa. *J. Agri. Sci.* 58:13.
21. Campbell, C.M., K.S. Eng, A.B. Nelson and LS. Pope. 1998 Use of esophageal fistula in diet sampling with beef cattle. *J. Anim. Sci.* 27:231.
22. Chapman, H.W. and F.J. Hamilton. 2000. Esophageal fistulation of calves. *Australian Vet. J.* 38:400.
23. Chavez, S.A., L.C. Fierro, V. Ortiz, M. Peña y E. Sánchez. 2004. Composición botánica y valor nutricional de la dieta de bovinos en pastoreo en un pastizal amacollado arbosufrutescente. *Pastizales. Rancho experimental la campana. INIFAP. Vol. X. No. 5.*
24. Coleman, S.W., K.M. Barth, J.B. McLarsen. T.W. Hloh H C Wann pH r. R

24. Connor, J.M., V.R. Bohman, A.L. Lesperance and F.E. Kissinger. 2004. Nutritive evaluation of summer range forage with cattle. *J. Anim. Sci.* 22:961.
25. Cook, C.W. 2004. Symposium on nutrition of forage and pastures: Collecting forage samples representative of ingested material of grazing animals for nutritional studies. *J. Anim. Sci.* 23:265.
26. Cook, C.W., J.T. Blake and J.W. Cali. 2005. Use of esophageal fistula cannulae for collecting forage samples from both sheep and cattle grazing in common. *J. Anim. Sci.* 22:579.
27. Cook, C.W., M. Kotjmann and L.E. Harris. 2005. Effect of range condition and utilization on nutritive intake of sheep on summer ranges. *J. Range Manage.* 178:69.
28. Cook, C.W., J.L. Thurne, J.T. Blake and J. Edlefsen. 2005. Use of an esophageal fistula cannula for collecting forage samples by grazing sheep. *J. Anim. Sci.* 17:189.
29. Cordova, F.J. 2003. Intake and nutritive value of forage grazed by cattle fertilized and unfertilized blue grama rangeland. PhD. Dissertation. New Mexico State University, Las Cruces.
30. Cundy, D.R. and R.W. Rice. 1999. Salivary contamination by esophageal collection with steers. *Proc. West. Soc. Amer. Soc. Anim. Sci.* 19:49.
31. Danley, M.M. and R.L. Vetter. 2000. Changes in carbohydrate and nitrogen fractions and digestibility of forages: method of samples processing. *J. Anim. Sci.* 33:1072.

collected by cattle. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 28:152.

40. Gutiérrez, A.J.L. 1982. Nutritive value of diets selected by grazing cattle in northwest Chihuahua México. PhD Dissertation. New México State Univ. Las Cruces.
41. Hamilton, F.J., W.R. McManus and L.H. Larsen. 2004. An improved method of esophageal fistulation for food intake studies in the sheep. Australian Vet. J. 36:111.
42. Harris, L.E., G.P. Lofgreen, C.J. Kercher, R.J. Raleigh and V.R. Bohman. 1999. Techniques of Research in range livestock nutrition. Utah Agr. Exp. Sta. Bull. 471.
43. Heady, H.F. and D.T. Torell. 1999. Forage preference exhibited by sheep with esophageal fistulas. J. Range Manage. 12:28.
44. Hills, J.M. 1999. Intake and digestibility of range forage by Hereford and Santa Gertrudis cows. M.S. Thesis. New México State University, Las Cruces.
45. Hoehne, O.E. 1999. Cattle preference as related to chemical components of native range plants. PhD. Thesis. University of Nebraska. Lincoln, Nebraska.
46. Hoehne, O.E., D.C. Clanton and C.L. Streeter. 2000. Chemical changes in esophageal samples caused by salivary contamination and sample preparation. J. Anim. Sci. 26:628.

47. Hoehne, D.E., CL. Streeter and D.C Clanton. 2004. Esophageal fistula for measuring species preference. J. Anim. Sci. 24:601.
48. Holecheck, J.L., M. Vavra and R.D. Pieper. 2005. Methods for determining the nutritive quality of range ruminant diets: A review. J. Anim. Sci. 54:363.
49. Houpt, I.R. 2000. Utilization of blood urea in ruminants. Amer. J. Physiol. 197:115.
50. Jefferies, N.W. and R.W. Rice. 2004. Nutritive value of clipped and grazed range forage samples. J. Range Manage. 22:192.
51. Johnson, R.R. 2003. Techniques and procedures for *in vitro* and *in vivo* rumen studies. J. Anim. Sci. 25:855.
52. Jones, D.I.H. 2001. Note on the pre treatment of herbage samples for determination of soluble carbohydrate constituents. J. Sci. Food. 13:83.
53. Kay, R.N.B. 2004. Physiology in the rumen. J. Dairy Res. 30:261.
54. Kay, R.N.B. 2004. The influence of saliva on digestion in ruminants. Rev. Nutr. And Diet. 6:292.
55. Kiesling, H.E., A.B. Nelson and CH. Herbel. 2000. Chemical composition of toboso grass collected by hand plucking and esophageal fistulated steers. J. Range Manage. 22:155.

56. Lake, R.P. and D.C. Clanton. 1990. Sampling irrigated pasture with esophageal fistulated steers. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 23:188.
57. Langlands, J.P. 1985. Studies on the nutritive values of the diet selected by grazing sheep. I. Differences in composition between herbage consumed and material collected from esophageal fistula. Anim. Prod. 8:253.
58. Larsen, R.E. and G.M. Jones. 1981. Effects of different dry matter determination methods on chemical composition and *in vitro* digestibility of silages. Can. J. Anim. Sci. 53:753.
59. Lascano, C.E., C.B. Theurer, H.A. Pearson and W.H. Hale. 2003. Factors influencing fiber and lignin content of rumen fistula forage. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 21:87.
60. Lesperance, A.L. and V.V.R. Bohman. 1998. Use of fistulated and intact cattle for predicting digestibility. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 14:34.
61. Lesperance, A.L. and V.V.R. Bohman. 2003. Chemical changes in forage induced by sample preparation. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 15:64.
62. Lesperance, A.L., V.R. Bohman and D.W. Marble. 2000. The development of a technique for evaluating grazed forage. J. Dairy Sci. 43:682.
63. Lesperance, A.L., D.C. Clanton, A.B. Nelson and C.B. Turner. 1974. Factors affecting the apparent chemical composition of fistula samples.

Estern Regional Coordinating Committee No. 8. Nev. Agr. Exp. Sta. Publ.

64. Lewis, D. 1975. Blood urea concentration in relation to protein utilization in the ruminant. *J. Agr. Sci.* 48:438.
65. Little, D.A. 2000. Studies on cattle with esophageal fistulae. The relation of the chemical composition of feed to that of the extruded bolus. *Australian J. Exp. Agr. Anim. Husb.* 12:126.
66. Little, D.A. 2001. Studies on cattle with esophageal fistulae: comparison of concentrations of mineral nutrients in feed and associated browses. *Australian J. Exp. Agr. Anim. Husb.* 15:437.
67. Lombard, P.E. and A. Van Schalkwyk. 2003. Changes in the composition of feedstuffs during sampling by means of an oesophageal fistula. *S. Af. J. Agr. Sci.* 6:205.
68. López T.R. 1975. Intake and digestibility by hereford steers grazing coastal Bermuda grass (*Cynodon dactylon* (L) Pers.) pastures. M.S. Thesis. New México State Univ. Las cruces.
69. Marshall, B., D.T. Torell and R.M. Bredon. 2003. Comparison of tropical forages of known composition with samples of these forages collected by esophageal fistulated animals. *J. Range Manage.* 20:310.
70. Mayland, H.F. and A.L. Lesperance. 2001. Mineral composition of rumen fistula samples compared to diet. *J. Range Manage.* 30:388.

71. McDougall, D. and W.A. DeLong. 1999. Effect of initial drying temperature on apparent lignin content of plant tissue. *Can. J. Res.* 20:20.
72. McKay, A.D., Q.E. Frandsen, J.C. Odero, M. Sondergard and S.P. Nganga. 2003. Chemical composition of herbage from themeda grassland in Kenya before and after collection from esophageal fistulated steers. *East African Agr. and For. J.* 35:190.
73. McManus, W.R. 1963. Properties of roughage feedstuffs collected from esophageal fistulas. *Australian J. Exp. Agr. Anim. Husb. Res.* 1:159.
74. McManus, W.R. 1973. Studies on the relationship of saliva to rumen function of sheep on low feed intakes. *Australian J. Agr. Res.* 13:907.
75. McManus, W.R. 1998. Oesophageal fistulation studies in the sheep. *Australian Vet. J.* 38:85.
76. Meyer, J.H., G.P. Lofgreen and J.L. Hull. 2000. Selective grazing by sheep and cattle. *J. Anim. Sci.* 16:766.
77. Molloy, L.F., D.J. Giltrap, T.W. Collie and A.J. Metson. 2004. Degradation of higher fatty acids in perennial rye grass and white clover following drying and storage. *J. Sci. Food. Agr.* 25:595.
78. Obioha, F.C, D.C. Clanton, L.R. Rittenhouse and streeter. 2000. Sources of variation in chemical composition of forage ingested by esophageal fistulated. *J. Range Manage.* 23:133.

79. Obioha, F.C. 2000. Sources of variation in chemical and botanical composition of forage ingested by esophageal fistulated cattle. PhD. Thesis. University of Nebraska. Lincoln.
80. Pfister, J.A. 2003. Comparison of cattle diets under continuous and four pasture, one herd grazing system. MS. Thesis. New Mexico State Univ. Las Cruces.
81. Pcowell, D.J., D.C. Clanton and J.T. Nichols. 2001. Effect of range condition on the diet and performance of steers grazing native sandhills range in Nebraska. *J. Range Manage.* 35:96.
- m.* Price, D.A., I.L. Lindahl, K.R. Frederiksen, P.J. Reynolds and CM. Cain. 2003. Nutritive quality of sheep diet on tall forb range. *Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Prod.* 15:LX.
83. Putman, P.A., R. Lehman and R.E. David. 1996. Feed intake and salivary secretion by steers. *J. Anim. Sci.* 25:817.
84. Radde, K.A. 1997. Salivary influences upon levels of certain chemical constituents in forage residues collected from esophageal cannulated sheep. MS thesis. Texas A&M University. College Station.
85. Reguse, CA. and D. Smith. 1995. Carbohydrate content in alfalfa herbage as influenced by method of drying. *J. Agr. Food. Chem.* 13:306.
86. Rice, R.W. 2000. Stomach content analysis: A comparison of the rumen vs esophageal technique. In: *Range and wildlife habitat evaluation- A res. Symp. U.S.D.A for Serv. Misc. Pub.* 1147.

87. Ridley, J.R., A.L. Lesperance, E.H. Jensen and V.R. Bohman. 1993. Pasture evaluation with fistulated and intact cattle. *J. Anim. Sci.* 22:852.
88. Rosiere, R.E., J.D. Wallace and R.F. Bech. 1993. Cattle diets on semi desert grassland: Nutritive content. *J. Range Manage.* 78:598.
89. Rusoff, L.L. and L.E. Foote. A stainless steel esophageal fistula cannula for dairy cattle nutrition studies. *J. Dairy Sci.* 44:1549.
90. Salo, M.L. and K. Kotilainen. 1991. Drying of herbage for analysis. *Herb. Abstr.* 41:259.
91. Scales, G.H. 2001. Nutritive value and consumption of sandhill range forage by grazing cattle. PhD. Dissertation. Colorado State University. Fort Collins.
92. Scales, G.H., CL. Streeter, A.H. Denham and M. Ward. 2004a. A comparison of direct methods of predicting in vitro digestibility of grassed forage. *J. Anim. Sci.* 38:192.
93. Scales, G.H., CL. Streeter, A.H. Denham and G.M. Ward. 2004b. Effect of mastication, salivary contamination and leaching of the chemical composition of forage samples collected via esophageal fistulae. *J. Anim. Sci.* 38:1278.
94. Schneider, B.H. and W.P. Flatt. 2003. The evaluation of feeds through digestibility experiments. Univ. of Georgia Press. Athens.
95. Setis, M.S., J.S. Rowat and A. Roy. 2003. Factors affecting the secretion rate and composition of parotid saliva in buffalo calves. *Indian J. Anim. Sci.* 41: 525.

96. Smith, T.M., A.L. Lesperance and V.R. Bohman. 1997. Drying methods related to changes in chemical composition. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 18:285.
97. Smith, W.W. and J.W. Waggoner. 1999. Chemical composition of esophageal samples as influenced by sample preparation. Proc. West. Sec. Amer. Soc. Anim. Sci. 18:400.
98. Sommers, M. 2003. Comparison of the salivary secretions of both parotid glands in sheep. Nature 182:400.
99. Streeter, L.A. 2001. A review of techniques used to estimate the in vivo digestibility of grazed forage. J. Anim. Sci. 29:757.
100. Taylor, CA: and F.C: Bryant. 1997. A durable esophageal cannula for sheep and goats. J. Range Manage. 30:397.
101. Thetford, F.C. 2000. Botanical and chemical composition of cattle and sheep diets on pinyon juniper grassland range. MS Thesis. New México State University, Las Cruces.
102. Theurer, C.B. 2000. Determination of botanical and chemical composition of the grazing animals diet. In: Nati. Conf. Forage quality evaluation and utilization. Nebraska Center for Continuing Education. Lincoln.
- 1PS. Theurer, C.B, A.L. Lesperance and J.D. Wallace. 1996. Botanical composition of the diet of livestock grazing native ranges. Univ. of Arizona agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 233.

- rj04. Torell, D.T. 1954. An esophageal fistula for animal nutrition studies. *J. Anim. Sci.* 13:878.
105. Torell, D.T. R.M. Bredon and E. Marshall. 1967. Variation of esophageal fistula samples between animal and days on tropical grasslands. *J. Range Manage.* 20:314.
106. Van dyne, G.M. and H.F. Heady. 2000. Dietary chemical composition of cattle and sheep grazing in common on a dry annual range. *J. Range Manage.* 18:78.
107. Van Dyne, G.M. and D.T. Torell. 2001. Development and use of the esophageal fistula: A review. *J. Range Manage.* 17:7.
108. Van Soest, P.J. 1993. The use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *J. Assn. of Agr. Chem.* 45:829.
109. Van SOest, P.J. 1994. Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. III. Study of effects of heating and drying on yield of fiber and lignin in forages. *J. Assn. of Agr. Chem.* 48:785.
110. Van Soest. P.J. 1994. The chemical basis for the nutritive evaluation of forages. *Proc. Nat. Conf. on forage Qual eval. And Util. Paper V: 1-19.* Nebraska Center for Continuing Education. Lincoln.
111. Veteto, G., C.B. David, R. Hart and R.M. Robinson. 2002. An esophageal cannula for white tiled deer. *J. Wildlife Manage.* 36:906.

112. Wallace, J.D., D.N. Hyder and G.M. Van Dyne. 1997. Salivary contamination of forage selected by esophageal fistulated steers grazing sandhill grassland. *J. Range Manage.* 25:184.
113. Wallace, J.D. and G.M. Van Dyne. 1990. Precision of indirect methods for estimating digestibility of forage consumed by grazing cattle. *J. Range Manage.* 23:424.
- m. Weir, W.C. and D.T. Torell. 1997. Selective grazing by sheep as shown by a comparison of chemical composition of range and pasture forage obtained by hand clipping and that collected by esophageal fistulated sheep. *J. Anim. Sci.* 18:641.
115. Wilkinson, S.R., R.V. Dawson and M.E. Adams. 2000. Effects of samples drying procedure on chemical composition and in vitro digestibility of coastal Bermuda grass. *Agron. J.* 61:457.
116. Wilson, R.R., J.M. Tilley and M.A. Stemers. 2004. Comparison of oven drying and toluene distillation in the determination of the dry matter content of silage. *J. Sci. Food. Agr.* 15:197.