# Boletim de Pesquisa

Número, 129

# EFEITO DA SALIVA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FORRAGEM INGERIDA POR BUBALINOS FISTULADOS NO ESÔFAGO



### REPUBLICA FEDERATIVA DO BRASIL

Presidente

Fernando Afonso Collor de Melo

Ministro da Agricultura e Reforma Agrária

Antonio Cabrera Mano Filho

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

Presidente

Murilo Xavier Flores

Diretores

Rduardo Paulo de Moraes Sarmento Ivan Sérgio Freire de Souza Manuel Malheiros Tourinho

Chefia do CPATU

Dilson Augusto Capucho Frazão - Chefe Emanuel Adilson Souza Serrão - Chefe Adjunto Técnico Luiz Octávio Danin de Moura Carvalho - Chefe Adjunto de Apoio

# EFEITO DA SALIVA NA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FORRAGEM INGERIDA POR BUBALINOS FISTULADOS NO ESÔFAGO

Ari Pinheiro Camarão Elson Dias da Silva Exemplares desta publicação podem ser solicitados à EMBRAPA-CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n

Telefones: (091) 226-6612, 226-6622

Telex: (091) 1210 Fax: (091) 226-9845 Caixa Postal, 48 66095-100 - Belém, PA

Tiragem: 500 exemplares

## Comitê de Publicações

Antônio Agostinho Müller
Célia Maria Lopes Pereira
Rmanuel Adilson Souza Serrão
Emmanuel de Souza Cruz
Francisco José Câmara Figueirêdo - Presidente
Hércules Martins e Silva - Vice-Presidente
José Furlan Júnior
Maria de Nazaré Magalhães dos Santos - Secretária Executiva
Miguel Simão Neto
Noemi Vianna Martins Leão
Ruth de Fátima Rendeiro Palheta

### Revisores Técnicos

Brmino Braga - FCAP Valéria B. Euclides - EMBRAPA-CNPGC

Expediente

Coordenação Editorial: Francisco José Câmara Figueiredo

Normalização: Célia Maria Lopes Pereira

Revisão Gramatical: Maria de Nazare Magalhães dos Santos

Miguel Simão Neto (texto em inglês)

Composição: Francisco de Assis Sampaio de Freitas

CAMARÃO, A.P.; SILVA, E.D. da. <u>Rfeito da saliva na composição quinica da forragem ingerida por bubalinos fistulados no esòfago</u>. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1992. 17p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 129)

1. Bubalino - Nutrição. 2. Bubalino - Saliva. 3. Bubalino - Digestibilidade. I. Silva, E.D. da colab. II. EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônica Oriental (Belém, PA). III. Título. IV. Série.

CDD: 636.293

# EFEITO DA SALIVA NA COMPOSIÇÃO QUIMÍCA DA FORRAGEM INGERIDA POR BUBALINOS FISTULADOS NO ESÔFAGO

Ari Pinheiro Camarão<sup>1</sup> Rlson Dias da Silva<sup>2</sup>

RRSUMO: Com a finalidade de verificar o efeito da saliva nos teores de proteína bruta (PB), fibra detergente ácido (FDA), cinzas (C), energia bruta (EB) e digestibilidade "in vitro"da matéria orgânica (DIVMO) da forragem ingerida, foi conduzido, no Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (CPATU) da EMBRAPA, este experimento, utilizando-se quatro bubalinos fistulados no esôfago, alimentados com forragem de Brachiaria humidicola no cocho. Foram realizadas oito avaliações no ano de 1985, utilizando-se o delineamento em blocos ao acaso, com dois tratamentos - forragem ingerida e não ingerida (controle) - e quatro animais como repetições. Não houve modificações nos teores de PB (P > 0.05). Os teores de FDA, C e DIVMO da forragem ingerida foram respectivamente, 5,0%; 3,0%; e 4,0% superiores ao controle (P < 0,01). A redução da EB de 172Kcal/kg da forragem ingerida foi significativa (P < 0,01). As equações de regressão linear para corrigir esses valores foram significativas para FDA, C, e DIVMO. A equação para a FDA apresentou baixa precisão  $(r^2 = 0,17)$ . Recomenda-se corrigir os valores da DIVMO através de equação de regressão da DIVMO da forragem ingerida, obtida com os bubalinos fistulados no esôfago, antes de se comparar com os valores da forragem disponivel.

Termos para indexação: Brachiaria humidicola, digestibilidade "in vitro"da matéria orgânica, proteína bruta, cinzas, fibra em detergente ácido, energia bruta.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Eng.-Agr. Ph.D. EMBRAPA-CPATU. Caixa Postal 48. CEP 66017-970. Belém, PA. <sup>2</sup>Zootec. M.Sc. EMBRAPA-CPATU.

# SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	6
MATERIAL E MÉTODOS	8
RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
CONCLUSÕES	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13

# THE EFFECT OF SALIVA ON THE CHEMICAL COMPOSITION OF FORAGE INGESTED BY ESOPHAGEAL FISTULATED BUFFALOES

ABSTRACT: This study was carried out at the Agroforestry Research Center for the Eastern Amazon (CPATU). The effect of saliva on chemical composition of forage intake by esophageal fistulated buffaloes was measured through crude protein (CP), acid detergent fiber (ADF), ash (A), gross energy (GE) and in vitro organic digestibility (IVOMD). Four esophageal fistulated buffaloes indoor feed with Brachiaria humidicola were used in a randomized block design with two blocks and two treatments (ingested and offered forage), repeated eigh times, in 1985. There was no change in the Cr percentage (P > 0,05). The percentages of ADF, A. and IVOMD in the ingested forage were respectively 5, 3, and 4 percent higher (P < 0.05) than the offered forage. The difference of 172kcal/kg in GE value was significante (P < 0.01). The linear regression equations were significant for ADF, A, and IVOMD. The equation for ADF had low coefficient of determination  $(r^2 = 0.17)$ . It is recommended to correct IVOMD through regression equation obtained from esophageal fistulated buffaloes feed with forage before comparing with the field data on forage availability.

Index terms: Brachiaria humidicola, crude protein, ash, acid detergent fiber, gross energy.

# INTRODUÇÃO

A coleta de amostras de forragem representativas da dieta de animais em pastejo, utilizando animais fistulados no esôfago, é o método mais eficiente de avaliação da seletividade e qualidade de pastagens (Holechek et al. 1982). Por outro lado, estudos com bovinos e ovinos fistulados no esôfago mostraram que há diferenca entre os teores dos componentes químicos da dieta e da forragem disponível. Essas diferenças podem ser causadas pela massaliva das amostras tigação, е preparo ("efeito de fístula") e não da verdadeira seletividade dos animais (Barth & Kazzal 1971; Wallace et al. 1972; Smith & Waggoner 1979).

A saliva do ruminante é, em grande parte, um tampão de bicarbonato e fosfato, secretado em pH de 8,1, e não possui enzima digestiva. Cerca de 77% do nitrogênio da saliva encontra-se na forma de uréia (Dziuk 1988).

A saliva bovina apresentou, em base de matéria seca (MS), 1,33 de nitrogênio (N), 8,3 de proteína bruta (PB), 95,6% de cinzas e 0,45% de fósforo (P); não continha fibra bruta (FB) e sua digestibilidade "in vitro"da matéria seca (DIVMS) foi de 100% (Marshall et al. 1967; Cook 1964). A produção e a composição química da saliva varia entre os diferentes e níveis de alimentos consumidos (Bailey & Balch 1961; Putnam et al. 1966).

Amostras obtidas através de fístula e submetidas à secagem, com temperatura acima de 60°C sofreram grandes perdas na fração solúvel (Grimes et al.1965) e aumentos nos teores de PB, fibra em detergente ácido (FDA) e DIVMS (Scales et al. 1974).

Segundo Van Soest (1975) quando alimentos ou forragens úmidos são secados a temperaturas superiores a 60°C, há formação de "lignina artificial" que é um produto formado degradação de proteínas e aminoácidos (especialmente lisina), de derivados de açúcares e de outros carboidratos.

Danley & Vetter (1971) verificaram que a temperatura de 65°C provocou elevação no teor de lignina da forragem, o que é explicado pela possibilidade da hemicelulose tornar-se insolúvel sob o efeito da temperatura, vindo a ser determinada como lignina (Gaillard 1962).

Esta reação é altamente influenciada pela temperatura e umidade da amostra. Para evitar a formação da "lignina artificial", Theurer (1970) recomenda a secagem de amostras coletadas através da fístula esofagiana, a temperatura de 50°C.

A saliva provoca, nas amostras de forrageiras ingeridas, aumentos nos teores de
umidade, cinzas, fósforo e DIVMS (Grimes et
al.1965; Barth et al. 1970; Littie 1972; Scales et al. 1974; Kothmann 1966). Essas perdas
foram reduzidas quando utilizadas sacolas impermeáveis (Radde citado por Coleman & Barth
1973). Entretanto, o uso deste tipo de sacola,
devido ao peso excessivo da forragem ingerida,
pode causar desconforto nos animais e interferir no comportamento ao pastejarem (Carvalho
Filho 1981).

O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da saliva na composição química de forragem ingerida por bubalinos fistulados no esôfago.

#### MATERIAL E METODOS

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (EMBRAPA-CPATU), Belém, PA.

Na pastagem de quicuio-da-amazônia (Brachiaria humidicola (Rendle) Schweickerdt), cerca de 10kg de forragem foram colhidas acima de 15cm do solo, em vários locais. A forrageira foi individualmente oferecida em cochos a quatro bubalinos fistulados no esôfago. A medida que se forneceu a forragem. amostras foram retiradas do cocho para servir de controle (forragem não ingerida), e a obtida pela fístula para representar a dieta consumida. Os animais permaneciam em jejum por quinze horas antes de ingerirem a forragem ofertada, para evitar a seletividade do capim. Esse procedimento foi realizado uma vez ao dia nas épocas mais (janeiro, março, abril e maio) e menos (agosto, setembro, outubro e dezembro) chuvosas do ano de 1985.

As amostras da forragem ingerida foram retiradas das bolsas e acondicionadas em sacos de plástico e estocadas em congelador para posterior análises químicas. Esse mesmo procedimento foi feito para as amostras da forragem não ingerida. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e secadas à temperatura de 45°C a 50°C (Theurer 1970) em estufa com ventilação forçada. Em seguida, foram trituradas em moinho tipo Willey, com peneira de 1mm de malha.

Foram realizadas as análises de proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldahl, de cinzas segundo a Association... (1970); de fibra detergente acido (FDA) conforme recomenda Goering & Van Soest (1970), modificado por Waldreen (1971); de energia bruta (EB) determinada em bomba calorimétrica e de digestibilidade "in vitro" da matéria orgânica (DIVMO) que foi estimada pelo método de Tilley & Terry (1963), modificado por Tinnimit & Thomas (1976).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com dois tratamentos (forragem ingerida e não ingerida ou controle), com quatro repetições (animais). Cada fase experimental foi repetida oito vezes. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando o teste F aos níveis de 5% e 1% de probabilidade.

Os efeitos da saliva na composição química da forragem ingerida foram corrigidos através de equações de regressão linear segundo Coleman & Barth (1973).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de PB da forragem ingerida não diferiram significativamente (P > 0,05) em relação à forragem não ingerida. Os teores de FDA, cinzas, DIVMO da forragem ingerida aumentaram significativamente (P < 0,01), 5,0%, 3,0% e 4,0%, respectivamente, em relação à forragem não ingerida. A redução da EB de 172kcal/kg da forragem ingerida também foi significativa (P < 0,05) (Tabela 1).

TABELA 1 - Teores de proteína bruta (PB), fibra em detergente ácido (FDA), cinzas, digestibilidade "in vitro" da matéria orgânica (DIVMO) e energia bruta (EB) da forragem ingerida e não ingerida por bubalinos fistulados no esôfago.

Forragen	РВ	FDA - X da MS	Cinzas	DIVMO -% da MO-	EB -kcal/kg-
Não ingerida	8,3a	32,8b	5,9b	53,6b	4.219a
Ingerida	8,0a	37,8a	8,9a	57,6a	4.047b

As médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem significativamente de acordo com o teste F ao nível de P < 0,01.

Com exceção dos teores de FDA e cinzas, não houve diferenças significativas (P > 0,05), entre épocas, para PB, DIVMO, e energia bruta das forragens ingerida e não ingerida.

Martinez, citado por Martinez & Delgado (1982) considerou a qualidade de pastagem como excelente, muito boa, boa, médio e pobre quando apresenta teores de PB de 15%, 13%, 10%, 8% e 6%, respectivamente. De acordo com essa classificação os teores de PB (8,3%) obtidos no presente trabalho são considerados como médios.

Segundo Scales et al. (1974) é possível que em forrageiras com alto teor de PB, a contaminação com nitrogênio da saliva e as perdas de proteína solúvel da planta, devido à mastigação, seja de magnitude similar. Os resultados do presente trabalho mostraram que este fato também pode ocorrer com teores médios de PB.

As amostras de forragem ingeridas pelos bubalinos fistulados no esôfago apresentaram acréscimos de 5,0% de FDA. Esses resultados foram inferiores aqueles obtidos com bovinos ingerindo Festuca arundinaceae e Dactylis glomerata, cujos valores foram de 10,0 e 9,3%, respectivamente (Barth & Kazzal 1971).

Em amostras de gramíneas tropicais ingeridas (*Pennisetum purpureum* e *Melinis minutiflora*), Dayrell et al. (1982) obtiveram decréscimos médios de 1,33% de FDA em relação à forragem ofertada. Quando as amostras ingeridas foram prensadas para retirar o excesso de saliva, o teor de FDA aumentou em 4,36%.

Wallace et al. (1972) verificaram a influência da saliva nos teores de FDA da forragem triturada com e sem saliva. Não houve diferença significativa para os teores de FDA, entre a forragem controle e a com saliva.

O aumento no teor de FDA foi consequência da mastigação que reduz o conteúdo celular, que é drenado juntamente com a saliva, aumentando, consequentemente, parte da parede da forrageira (Scales et al. celular 1969). Estė fato deve ter ocorrido neste trabalho, uma vez que para a obtenção das amostras ingeridas foram utilizadas sacolas com o fundo perfurado para drenar o excesso de saliva, o que provavelmente, provocou também perdas de carboidratos solúveis (Acosta: Kothmann 1978).

Os teores de cinzas da forragem ingerida foram acrescidos de 3,0%, correspondendo a um aumento de 50,8% em relação ao teor de cinzas da forragem ofertada. Aumentos de 37% a 51% no teor de cinzas foram obtidos na forragem ingerida por bovinos e ovinos (Harris et al. 1967; Scales et al. 1974). Esses aumentos ocorreram devido à contaminação da forragem com minerais da saliva (Cook 1964; Harris et al. 1967; Scales et al. 1974)

O aumento de 4,0% na DIVMO da forragem ingerida foi ligeiramente superior ao obtido por Camarão (1980), que verificou aumento de 3,85% na DIVMO na forragem ingerida por bovinos fistulados no esôfago. Minson et al. (1976) explicaram que estes aumentos da DIVMO na forragem ingerida foram devidos à saliva. Quando esta foi drenada, muitos constituintes solúveis da forragem foram perdidos e a digestibilidade "in vitro" diminuiu de 3% a 4%. Entretanto, quando a saliva foi ignorada, a digestibilidade foi superestimada em cerca de 6%. Esse acréscimo pode ser reduzido, expressando-se a digestibilidade "in vitro" com bas ? em matéria orgânica (MO). Neste trabalho, 1 saliva foi drenada parcialmente e houve aumento no teor de FDA e, consequentemente, era esperada a diminuição na DIVMO. Barth & Kazzal (1971), relataram que o aumento da digestibilidade "in vitro"da forragem ingerida depende também da espécie forrageira.

Houve decrescimo de 172kcal/kg de energia bruta (EB) da forragem ingerida para a não ingerida correspondente a 4%. Lesperance et al. (1960) obtiveram decrescimos de 77kcal/kg (P < 0,01) da EB de diversos alimentos ingeridos por ovinos com fístula esofagiana. É possível que as amostras obtidas pelas fístulas não mudassem seu valor em EB se fossem corrigidas com relação à EB da saliva. Por outro lado, Wallace et al. (1972) não encontraram diferenças significativas (P > 0,05) entre a EB com base na MO da forragem ofertada e a forragem umedecida com saliva.

Com o objetivo de corrigir o efeito da saliva na composição química na forragem ingerida obteve-se as equações de regressão:

$$\ddot{Y}_1 = -4.2483 + 1.0032x_1$$
 P < 0.01  $r_1^2 = 0.85$   
 $\ddot{Y}_2 = 1.656 + 0.4725x_2$  P < 0.01  $r_2^2 = 0.41$   
 $\ddot{Y}_3 = 16.7113 + 0.4263x_3$  P < 0.05  $r_3^2 = 0.17$ 

onde  $\hat{Y}_1$ ,  $\hat{Y}_2$ ,  $\hat{Y}_3$ , e  $\hat{Y}_4$ , são respectivamente a DIVMO, teores de cinzas, FDA, e EB da forragem ingerida corrigida e x1, x2, x3 e x4 são os valores obtidos respectivamente para a DIVMO, teores de cinzas, FDA e EB da forragem ingerida. Os valores  $r_1^2$ ,  $r_2^2$ ,  $r_3^2$ ,  $r_4^2$ , são os respectivos coeficientes de determinação das equações. A equação de regressão para correção de EB da forragem ingerida não foi significativa (P < 0,05), e a de FDA foi significativa (P < 0,05), mas de baixa precisão ( $r^2 = 0,17$ ).

Para a correção da DIVMO e cinzas, as equações foram altamente significativas (P < 0,01), sendo que o coeficiente de determinação para a DIVMO ( $r^2 = 0.85$ ) indicou melhor precisão do que o de cinzas( $r^2 = 0.41$ ).

# CONCLUSÃO

Devido aos efeitos da saliva na composição química da forragem ingerida é recomendável corrigir os valores de DIVMO da dieta de pastagem de *B. humidicola* obtidos em bubalinos fistulados no esôfago, antes que sejam comparados com os valores da forragem disponível. Não há necessidade de serem feitas correções nos teores médios de proteína bruta da dieta.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, R.A.; KOTHMANN, M.M. Chemical composition of esophageal - fistula forage samples as influenced by drying method and salivary leaching. Journal of Animal Science, v.47, n.3, p.691-698, 1978.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, Washington, EUA. Official methods of the AOAC. 12 ed. Washigton D.C., 1970. 1094p.

- BAILEY, C.B.; BALCH, C.C. Salive secretion and relation to feeding ca ttle: 2. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. Bristish Journal Nutrition, v.15 p.382-402, 1961.
- BARTH, K.M.; CHANDLER, J.E.; FREYER, M.E.; WANG, H.C. Effects of saliva and drying temperature on composition and digestibility of forrage collected through esophageal fistulas. Journal Animal Science, v.31, n.4, p.794-798, 1970.
- BARTH, K.M.; KAZZAL, N.T. Separation of true selective grazing by cattle from effects of the esophageal fistula. Journal Animal Science, v.33, n.5, p.1124-1127, 1971.
- CAMARÃO, A.P. Composição química e digestibilidade "in vitro"da dieta selecionada por novilhos com fístula esofágica em pastagem tropical mista. Piracicaba: ESALQ. 1980. 85p. Tese mestrado.
- CARVALHO FILHO, O.M. Uso e manejo de bovinos fistulados no esôfago em ensaios de pastejo. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA, 1981. 24p. (EMBRAPA-CPATSA. Documentos, 8).
- COLEMAN, S.W.; BARTH, K.M. Quality of diets selected by grazing animals and its relation to quality available forage and species composition of pastures. Journal of Animal Science., v.36, n.4, p.754-761, 1973.
- COOK, C.W. Symposium on nutrition of forages and pastures: collecting forage samples representative of ingested material of grazing animals for nutrition studies.

  Journal of Animal Science, v.23, n.1, p.265-270, 1964.
- DANLEY, M.M.; VETTER, R.L. Changes in carboihydrate and nitrogen frations and digestibility of forages: method of samples processing. **Journal of Animal Science**, v.33, n.5, p.1072-1077, 1971.
- DAYRELL, M.S.; BOLLAND, E.W.J.; NESIO, N.A.R.P. Efeito da saliva sobre a composição química de forrageiras obtidas com fístula esofagiana. **Pesquisa Agropecuária Brasi**leira, v.17, n.11, p.1671-1677, 1982.

- DZIUK, H.E. Digestão no estômago dos ruminantes. In: SWENSON, M.J., ed. Dukes. Fisiologia dos animais domésticos. 10 ed. Rio de Janeiro, RJ, 1988. p.281-297.
- GAILLARD, B.D.E. The relationship of the cell wall constituents of ranghages and the digestibility the organic matter. Journal Agriculture Science, v.59, n.3, p.369-372, 1962
- GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis aparatus, rea gents procedures and some application. Washington: USDA. Agricultura Research service, 1970, 19p. (USDA. Agricutural Handbook, 379)
- GRIMES, R.C.; WATKIN, B.R.; MAY, P.F. The botanical and chemical analysis of herbage samples obtained from sheep fitted wich oesophageal fistulas. Journal British Grassland Society, v.20, n.3, p.168-173, 1965.
- HARRIS, L.E.; BOHMAN, V.R.; LOFGREEN, G.P.;
  HERCHER, C.G.; RALEICH, R.J. Techiniques
  of range livestock nutrition research.
  Utah: Agricultural Experiment Station,
  1967. (Utah. Agricultural Experiment
  Station. Bulletin, 471).
- HOLECHEK, J.L.; VAVRA, M.; PIEPER, R.D. Methods for determining the nutritive quality of range ruminant diets: a review. Journal of Animal Science, v.54, n.2, p.363-376, 1982.
- KOTHMANN, M.M. Nutrient content of forage ingested in the morning compared to evening. Journal Range Managemente, v.19, n.2, p.95-96, 1966.
- LESPERANCE, A.L.; JENSEN, E.H.; BOHMAN, V.R.; MADSEN, R.A. Measuring selective grazing with fistulated steers. Journal Dairy Science, v.43, n.2, p.1615-1622, 1960.
- LITTIE, D.A. Studies on cattle with esophageal fistulae. The relation of the chemical composition of feed to that of extruded bolus. Australian Journal Experimental Animal Husbandry, v.12, n.55, p.126-130, 1972.

- MARSHALL, B.; TORELL, D.T.; BREDON, R.M.
  Comparison of tropical forage of know
  composition with samples of these forages
  colleted by esophageal fistulated animals.
  Journal of Range Management, v.20, n.5,
  p.310-313, 1967.
- MARTINEZ, R.O.; DELGADO, A. Sistemas de produccion de leche y carne con uso intensivo de pastizales en Cuba. In: SISTEMAS DE PRODUCCION CON RUMINANTES EN EL TROPICO AMERICANO: Taller de Trabajo, jun., 1981, Aragua, Venezuela. Trabajos presentadosen el taller nde trabajo. Maracay: Universidad Central de Venezuela, 1982. p.187-210.
- MINSON, D.J.; STOBBS, T.H.; HEGARTY, M.P.; PLAYNE, M.J. Measuring the nutritive value of pasture plants. In: SHAW, N.H.; BRYAN, W.W. Tropical pasture research, principles and methods. Farnham Royal Bucks: CAB, 1976. p.308-338.
- PUTNAM, P.A.; LEHMAN, R.; DAVIS, R.E. Feed intake and salivary secretion by steers. Journal Animal Science, v.25, p.817-820, 1966.
- SCALES, G.H.; STREETER, C.L.; DENHAM, A.H.; WARD, G.M. Effect of mastication, salivary contamination and leaching on the chemical composition of forage samples colleted via esophageal fistula. Journal Animal Science, v.38, n.6, p.1278-1283, 1974.
- SMITH, W.W.; WAGGONER, J.W. Chemical composition of esophageal samples as influenced by sample preparation.

  Proceedings Western Section American Society of Animal Science, v.30, p.247-250, 1979.

- STOBBS, T.H. The effect of grazing management upon pasture productivity in Uganda. IV-Selective grazing. Tropical Agricultural, v.46, n.4, p.303-309, 1969.
- THEURER, C.B. Detemination of botanical and chemical composition of the grazing animals diet. In: NATIONAL CONFERENCE ON FORAGE QUALITY EVALUATION AND UTILIZATION. 1969, Lincoln, Nebraska. Proceedings... Lincoln, Nebraska Center for Continuing Education, 1970. p.1-77.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for "in vitro" digestion of forage crops. Journal Bristish Grassland Society, Oxford, v.18, n.2, p.104-111, 1963.
- TINNIMIT, P.; THOMAS, J.W. Forage evaluation using varios labortory techniques.

  Journal of Animal Science, v.43, n.5, p.1059-1065, 1976.
- VAN SOEST, P.J. Composition and nutritive value of forages. In: HETH, M.E.; METCALFE, D.S.; BARNES, R.F. Forages; The science of grassland agriculture. 30 ed. Iowa State University Press, 1975. p. 53-63.
- WALDREEN, D.E. A rapid microdigestion procedure for neutral and detergent fiber. Canadian Journal of Animal Science, v.51, n.1, p.67-79, 1971.
- WALLACE, J.D.; HIDER, D.N.; VAN DYNE, G.M. Salivary contamination of forage selected by oesophageal fistulated steers grazing sand ill grassland. Journal of Range Management, v.25, n.3, p.84-87, 1972.