

## Merada Otlayan Danalarda Alkan İndikatör Tekniği Kullanılarak Yem Tüketimi ve Sindirilebilirlik Tahmini <sup>[1]</sup>

Yücel ÜNAL <sup>1</sup> İsmail KAYA <sup>2</sup> Tarkan ŞAHİN <sup>3</sup>  
Ahmet ÖNCÜER <sup>3</sup> Dilek A. ELMALI <sup>4</sup> Güler YENİCE <sup>5</sup>

<sup>[1]</sup> Bu çalışma TOVAG-104 O 433 proje numarasıyla TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir

<sup>1</sup> Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Zooloji Anabilim Dalı, TR-04100 Ağrı - TÜRKİYE

<sup>2</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, TR-55200 Atakum, Samsun - TÜRKİYE

<sup>3</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, TR-36300 Kars - TÜRKİYE

<sup>4</sup> Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, TR-31034 Antakya - TÜRKİYE

<sup>5</sup> Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, TR-25240 Yakutiye, Erzurum - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2013-10311

### Özet

Bu çalışmada, merada otlayan danalarda alkan indikatör metodu ile Kuru Madde Tüketimi (KMTt) ve Kuru Madde Sindirilebilirliği (KMSt) tahmini ve Kars şartlarında hayvanların sezonun değişik dönemlerinde meradan ne kadar yararlanabildiklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma iki deneme halinde yürütüldü, ilk denemede 5 adet erkek dana (ort. CA 244.5±2.3 kg) kullanılmış olup deneme 20 gün sürmüştür. İlk denemede kapalı mekanda kontrollü yemleme ile belirlenen Kuru Madde Tüketimi (KMT) ve Sindirilebilirliğinin (KMS), alkan indikatörler kullanılarak yapılan KMTt ve KMSt ile karşılaştırılması yapılmış ve alkan indikatör tekniği ile yapılan tahminlerin doğruluk ve güvenilirliği belirlenmiştir. İkinci deneme ise merada otlayan hayvanlar kullanılarak 20'şer günlük 5 dönem halinde yürütülmüştür. Bu denemede toplam 10 adet erkek dana (ort. CA 164.9±1.5 kg) 2 gruba ayrılarak her bir dönemde farklı grup hayvan kullanılmıştır. Ahır denemesinde en iyi KMTt karma (24 saat boyunca toplanan) numunelerde alkan C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> çiftiyle yapılan hesaplamalarla elde edilmiştir (R<sup>2</sup>: 0.86). Alkan C<sub>32</sub> ve C<sub>33</sub> kullanılarak elde edilen KMSt'leri KMS'ne benzer bulunurken, alkan C<sub>36</sub> kullanılarak elde edilen KMSt'leri düşük bulunmuştur (P<0.05). Ahır denemesinde elde edilen sonuçlar alkan indikatör kapsüllerin alkan indikatör metodunda dozlama amacıyla başarıyla kullanılabileceğini göstermiştir. Mera çalışması sonuçlarına göre hayvanların Ağustos ayı sonlarından itibaren meradan kuru madde ihtiyaçlarını yeterince karşılayamadıkları belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Alkan indikatör, Kuru madde tüketimi, Sindirilebilirlik, Dana, Mera

## Estimation of Feed Intake and Digestibility in Grazing Cattle Using Alkane Indicator Technique

### Summary

This study examined the estimation of the Dry-Matter Intake (DMI) and Digestibility (DMD) and the utilization of the pasture by grazing cattle in different seasons of the Kars region by using alkane indicator technique. Two experiments were carried out, and in the first experiment, 5 male cattle (mean LW. 244.5±2.3 kg) were used for 20 days. In first experiment, the precision and reliability of alkane indicator technique were determined by comparing the real Dry Matter Intake (DMI) and Dry Matter Digestibility (DMD) which was obtained by the controlled indoor study with DMI and DMD estimated by using alkane indicators. The second experiment was conducted with the pasturing cattle in meadow in 5 terms each lasted 20 days. Ten male cattle (mean LW. 164.9±1.5 kg) were divided in two groups, and different animals were used in each term. The best result for DMI was obtained by using the alkanes C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> couples in mixed (collected in 24 h) samples in indoor study (R<sup>2</sup>: 0.86). DMD's calculated by using alkanes C<sub>32</sub> and C<sub>33</sub> were similar to the real DMD, whereas the DMD's with alkane C<sub>36</sub> were underestimated (P<0.05). The results obtained with indoor study showed that alkane indicator capsules could be used successfully as a dosing method in alkane indicator method. According to the second experiment results, it was determined that the animals, grazing in the pasture in Kars conditions, were not able to get required nutrient from the pasture towards the end of August.

**Keywords:** Alkane indicator, Dry matter intake, Digestibility, Cattle, Pasture



İletişim (Correspondence)



+90 472 2159994



yucel.unal@hotmail.com

## GİRİŞ

Ruminantlardan maksimum verim dengeli bir rasyon uygulaması ile sağlanabilir. Besin maddesi tüketimi ve özellikle enerji alımı, Yem Kuru Madde Tüketimi (KMT) ve Sindirilebilirliği (KMS) tarafından öncelikle etkilendiği için KMT ve KMS hayvan beslemede en yaygın olarak kullanılan iki parametredir.

KMT ve KMS tahmininde (KMTt ve KMSt) kullanılan geleneksel metotlarda toplam dışkı toplama söz konusu olduğu için bu işlemler zaman ve iş gücü gerektirmektedir. Bu nedenle KMTt'de daha çok indikatör metotları kullanılmaktadır [1,2].

Son yıllarda geliştirilen Alkan İndikatör Metodu uygulama ve hesaplama bakımından geleneksel indikatör tekniklerine göre daha pratik bir yöntemdir [3,4]. Alkanlar kaba yemlerin kütikular yapısında bulunan hidrokarbonlar olup sindirilmediği için internal indikatör olarak kullanılabilen maddelerdir. Alkan İndikatör Metodu bir çift indikatör tekniği olup geleneksel indikatör metotlarından farklı bir temeli vardır. Toplam dışkı miktarı ya da sindirilebilirlik kullanılmasına gerek kalmadan tekniğin kendi özel formülü ile KMTt yapılabilir. Bu metotta prensip dışkıdaki tek zincirli alkanların çift zincirli alkanlara oranıdır [5]. Tekniğin en büyük avantajı ise bireysel KMTt ve KMSt'ne olanak vermesidir [6,7].

Tek numaralı alkanlar ( $C_{29}$ ,  $C_{31}$ ,  $C_{33}$  gibi) bitkilerde yoğun olarak bulunurken, çift numaralı alkanlar ( $C_{32}$ ,  $C_{34}$ ,  $C_{36}$  gibi) düşük düzeyde bulunmaktadır. Dolayısıyla yapılan çalışmalarda genellikle alkan  $C_{33}$  dahil indikatör (DI) olarak kullanılırken, alkan  $C_{32}$  ya da  $C_{36}$  harici indikatör (HI) olarak her gün dışarıdan verilmektedir. Alkan  $C_{34}$  miktarı da bitkilerde çok düşük olduğu için standart olarak kullanılmaktadır [8]. Alkan İndikatör Metodu kullanarak KMTt yapmak için öncelikle hayvanın HI ile dozlanması gerekmektedir. Doz olarak kullanılan ve sentetik olan HI; filtre [9], kapsül [10], jelatin kapsül [11], doğrudan yeme katma [12] şekillerinde kullanılabilir. Son yıllarda yeni bir teknik olarak rumen içine yerleştirilen ve hemen hemen sabit bir düzeyde (CV %4.07) HI bırakan ve Alkan İndikatör Kapsül (AIK) adı verilen düzenek kullanılabilir [13].

Literatürde rastlanılan alkan indikatör çalışmaları daha çok küçük ruminantlarda ve ahırda kontrollü yemleme ile yapılmıştır. Büyük ruminantlarla ve özellikle merada otlayan hayvanlarla yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır. Bu çalışmanın amacı, alkan indikatör kapsülleri kullanarak alkan indikatör metodunun mera şartlarında büyük ruminantlarda kullanılabilirliğini ve saat 10:00 ve 16:00'da alınacak numunelerle doğru KMTt ve KMSt yapılabilirliğini tespit etmek ve Kars şartlarında merada otlayan hayvanların sezonun değişik dönemlerinde meradan ne kadar kuru madde tüketebildiklerini alkan indikatör metodu kullanarak araştırmaktır.

## MATERYAL ve METOT

Çalışma iki deneme halinde yürütülmüştür. Her iki deneme öncesi denemelerde kullanılan hayvanların gerekli aşılama ve parazit ilaçlamaları yapılmıştır. Birinci denemede 5 adet erkek dana (ort. CA 244.5±2.3 kg) patozdan geçirilmiş kuru ot ile günlük eşit 2 öğün halinde saat 09:00 ve 18:00'da olmak üzere ahırda beslenmiştir. Danalara ortalama canlı ağırlığa göre KM ihtiyacı + %10 olacak şekilde kuru ot verilmiştir. Hayvanlara verilen, artan kuru ot ile üretilen dışkı miktarı günlük kayıt edilerek klasik dışkı toplama yöntemi ile gerçek KMT ve KMS belirlenmiştir. Deneme, 7 gün alıştırma dönemi sonrası hayvanlara AIK'in yutturulması ile başlamış ve 20 gün devam etmiştir. Denemenin 8-14. günleri arasında her gün saat 10:00 ve 16:00 civarında üretilen dışkılarından numune alınmıştır. Üretilen dışkılar darası alınmış büyük plastik bidonlara biriktirilmiş ve ertesi sabah saat 09:00'da günlük dışkı miktarı belirlenmiştir. Böylelikle toplam dışkı toplama yöntemi ile gerçek KMS'i belirlenmiştir. Toplanan dışkılar kürekle iyice karıştırıldıktan sonra 100-150 g civarında karma numune alınmış ve -20°C'de saklanmıştır. Her 3 dışkı numunesi de kullanılarak ayrı ayrı KMTt ve KMSt'leri yapılmıştır.

HI olarak kullanılan alkan  $C_{32}$  ve  $C_{36}$ 'nın dozlanması için AIK'ler kullanılmıştır. Kapsüllerde alkan  $C_{32}$  ve  $C_{36}$  karışık ve preslenmiş olarak yer almaktadır. Kapsül özel sondası ile hayvana yutturulmakta ve rumen içine yerleştirildikten sonra 18-22 gün süreyle alkan  $C_{32}$  ve  $C_{36}$  salınımı yapılmaktadır. Denemede kullanılan kapsüllerin salınım raporu ahır denemesinde kullanılan kapsüllerde alkan  $C_{32}$  ve  $C_{36}$  için sırasıyla 200.0 mg/gün ve 200.5 mg/gün olarak ve mera denemesinde kullanılan kapsüllerde alkan  $C_{32}$  ve  $C_{36}$  için sırasıyla 199.3 mg/gün ve 198.4 mg/gün olarak bildirilmiştir [13].

İkinci deneme ise merada otlayan hayvanlar kullanılarak 20'şer günlük aşağıda verilen tarihlerde 5 dönem halinde yürütülmüştür:

1. dönem: 01 Haziran - 20 Haziran 2006
2. dönem: 21 Haziran - 10 Temmuz 2006
3. dönem: 11 Temmuz - 30 Temmuz 2006
4. dönem: 31 Temmuz - 19 Ağustos 2006
5. dönem: 20 Ağustos - 09 Eylül 2006

Her dönemin ilk günü hayvanlara indikatör kapsüller yutturulmuş ve 8-14. günler arasında saat 10:00 ve 16:00 civarında hayvanların otlama esnasında ürettikleri dışkılarından dışkı numunesi alınmıştır. Bu denemede toplam 10 adet erkek dana (ort. CA 164.9±1.5 kg) canlı ağırlıkları eşit olacak şekilde eşit 2 gruba ayrılmış ve her bir dönemde farklı grup hayvan kullanılmıştır. Böylece bir dönemde kullanılan hayvanlar takip eden dönemde kullanılmamış daha sonraki dönemde kullanılmış ve aradan geçen sürede hayvanların dışkısında önceki HI'nın kalıntısı kalmamıştır.

Taze halde 100-150 g civarında alınan dışkı numuneleri -20°C'de derin dondurucuda saklanmış ve daha sonra etüvde 60°C'de ağırlıkları sabit oluncaya kadar kurutularak 0.5 mm elekli değirmende öğütülmüştür.

Ahır denemesinde kullanılan kuru ot numuneleri ile her bir mera döneminde 8-14. günlerde merada otlayan hayvanlar takip edilerek hayvanların otladığı yerlerden henüz hayvanların koparmadığı otlardan alınan taze ot numunelerinin besin madde analizleri AOAC'de [14] belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. Mera döneminde yukarıda açıklanan örnek alımından başka, yeni bir uygulama olarak merada otlayan hayvanlar otlama esnasında yakalanarak yerden kopardıkları ve henüz yutmadıkları ağızdaki otlardan da numune alınarak bitki alkan konsantrasyonu analizi için kullanılmıştır. Ayrıca hayvanlar gözlenerek yerden koparttıkları ottan yerde kalanlardan da numuneler alınmıştır.

Alkan analizleri Gaz Kromatografi (GK) cihazında (Agilent 6890 N, Agilent Tech., USA), Unal ve Garnsworthy'nin [15] belirttiği metoda göre yapılmış olup, analizlerde C<sub>34</sub> standart olarak kullanılmıştır.

Alkan İndikatör Metodu kullanılarak (C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> ya da C<sub>33</sub>:C<sub>36</sub> çifti ile ayrı ayrı) yapılan KMTt'leri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$KMTt = \frac{\frac{Dışkı C_{33} * Doz_s}{Dışkı C_s}}{Otl C_{33} - \frac{Dışkı C_{33} * Otl C_s}{Dışkı C_s}}$$

Alkan indikatör metodunda KMTt için kullanılan formül,

KMTt: Kuru madde tüketimi tahmini (kg KM/gün)

s: Çift zincirli alkan C<sub>32</sub> ya da C<sub>36</sub>

Otl C<sub>33</sub> ve Dışkı C<sub>33</sub>: Alkan C<sub>33</sub>'ün kaba yem ve dışkıdaki miktarları (mg/kg KM)

Otl C<sub>s</sub> ve Dışkı C<sub>s</sub>: Alkan C<sub>32</sub> ya da Alkan C<sub>36</sub>'nın kaba yem ve dışkıdaki miktarları (mg/kg KM)

Doz<sub>s</sub>: Dışardan doz olarak verilen alkan C<sub>32</sub> ya da C<sub>36</sub> miktarı (yaklaşık 0.200 g/gün)

KMS ve KMSt ile İndikatör geri alınabilirliğini (GA) hesaplamada kullanılan formüller aşağıda verilmiştir:

$$KMS = \frac{\text{Kuru madde tüketimi} - \text{toplam dışkı KM'si}}{\text{Kuru madde tüketimi}}$$

$$KMSt = \frac{\text{g indikatör/kg dışkı} - \text{g indikatör/kg yem}}{\text{g indikatör/kg dışkı}}$$

$$GA = \frac{(\text{g indikatör/kg dışkı} * \text{toplam dışkı KM'si})}{(\text{g indikatör/kg yem} * \text{toplam KMT}) + \text{Doz}}$$

Toplam dışkı toplama yöntemi ile bulunan gerçek KMS'i sadece ahır denemesinde hesap edilebilmiştir. Mera çalışmasında toplam dışkı toplanmadığı için KMS'i hesap edilememiş ve indikatörle KMSt'i yapılmıştır.

Verilerin istatistik analizleri için SPSS 19 (for MacOS X) programı kullanıldı [16].

## BULGULAR

Ahır ve merada hayvanlar tarafından tüketilen otların besin madde ve alkan içerikleri *Tablo 1*'de verilmiştir. Yem numunelerinin analizinde alkan C<sub>36</sub> tespit edilememiştir.

Ahır denemesindeki gerçek KMT ile saat 10:00 ve 16:00'da alınan dışkı numuneleri ve karma numuneler kullanılarak hesap edilen KMTt ortalamaları *Tablo 2*'de, toplam dışkı toplama yöntemi ile belirlenen gerçek KMS ile alkan C<sub>32</sub>, C<sub>33</sub> ve C<sub>36</sub> kullanılarak hesap edilen KMSt ortalamaları *Tablo 3*'te, hesap edilen alkan C<sub>32</sub>, C<sub>33</sub> ve C<sub>36</sub> geri alınabilirlikleri *Tablo 4*'te verilmiştir.

Mera denemesinde saat 10:00 ve 16:00'da alınan dışkı numunelerindeki alkan C<sub>33</sub>:C<sub>32</sub> ve C<sub>33</sub>:C<sub>36</sub> çiftleri kullanılarak hesap edilen KMTt ortalamaları *Tablo 5*'te, alkan C<sub>32</sub>, C<sub>33</sub> ve C<sub>36</sub> kullanılarak hesap edilen KMSt ortalamaları *Tablo 6*'da verilmiştir.

Mera denemesinde kullanılan hayvanlara ait canlı ağırlık ortalamaları ve canlı ağırlık artışı ortalamasına ait sonuçlar *Tablo 7*'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Denemelerde kullanılan otların besin madde (% KM) ve alkan (mg/kg KM) içerikleri

**Table 1.** Chemical composition (% DM) and alkane content (mg/kg DM) of forage used in the experiments

Deneme	KM	HP	HY	HS	HK	C <sub>32</sub>	C <sub>33</sub>	C <sub>36</sub>
Ahır	88.24	9.55	2.88	30.65	8.01	4.66	15.99	-
Mera 1	26.48	17.72	1.78	26.95	9.15	4.78	35.95	-
Mera 2	25.87	16.24	1.83	29.08	9.38	4.81	36.28	-
Mera 3	27.72	13.48	2.11	31.85	9.04	4.97	36.71	-
Mera 4	34.79	11.61	2.28	32.49	9.67	5.34	37.45	-
Mera 5	35.73	9.77	2.21	35.05	8.95	5.25	36.82	-

KM: Kuru madde, HP: Ham protein, HY: Ham yağ, HS: Ham selüloz, HK: Ham kül

**Tablo 2.** Ahır denemesinde gerçek KMT ile hesap edilen KMTt'i sonuçları (kg/gün,  $X \pm Sx$ )**Table 2.** Actual DMI and calculated DMle results in indoor experiment(kg/day,  $X \pm Sx$ )

İstatistik	KMT	KMTt C <sub>33:32</sub>			KMTt C <sub>33:36</sub>		
		10:00	16:00	Karma	10:00	16:00	Karma
NS	6.862±0.030	6.792±0.088	6.806±0.064	6.827±0.062	6.773±0.063	6.816±0.080	6.814±0.071
Fark		-0.070	-0.056	-0.035	-0.089	-0.046	-0.048
R <sup>2</sup>	-	0.66 <sup>1</sup>	0.73 <sup>2</sup>	0.86 <sup>3</sup>	0.80 <sup>4</sup>	0.42 <sup>5</sup>	0.63 <sup>6</sup>

KMT: Kuru Madde Tüketimi, KMTt: Kuru Madde Tüketimi Tahmini, <sup>1</sup> KMT = 4.97 + 0.279 KMTt32, <sup>2</sup> KMT = 4.13 + 0.401 KMTt32, <sup>3</sup> KMT = 3.79 + 0.451 KMTt32, <sup>4</sup> KMT = 3.95 + 0.430 KMTt36, <sup>5</sup> KMT = 5.20 + 0.243 KMTt36, <sup>6</sup> KMT = 4.59 + 0.334 KMTt36, NS: Değerler arasında istatistiki açıdan önem yoktur

**Tablo 3.** Ahır denemesinde gerçek KMS ile hesap edilen KMSt sonuçları (% ,  $X \pm Sx$ )**Table 3.** Actual DMD and calculated DMDe results in indoor experiment(% ,  $X \pm Sx$ )

KMS ( $X \pm Sx$ )	KMSt32 ( $X \pm Sx$ )			KMSt33 ( $X \pm Sx$ )			KMSt36 ( $X \pm Sx$ )		
	10:00	16:00	Karma	10:00	16:00	Karma	10:00	16:00	Karma
0.62±0.003 <sup>bc</sup>	0.65±0.006 <sup>a1</sup>	0.60±0.009 <sup>cde2</sup>	0.62±0.006 <sup>bc3</sup>	0.62±0.004 <sup>b4</sup>	0.64±0.003 <sup>a5</sup>	0.61±0.008 <sup>bcd6</sup>	0.59±0.004 <sup>f7</sup>	0.59±0.005 <sup>ef8</sup>	0.60±0.006 <sup>def9</sup>

KMS: Kuru Madde Sindirilebilirliği, KMSt: Kuru Madde Sindirilebilirliği Tahmini, <sup>1</sup> KMS = 0.524 + 0.147 KMSt32, <sup>2</sup> KMS = 0.620 - 0.000 KMSt32, <sup>3</sup> KMS = 0.449 + 0.278 KMSt32, <sup>4</sup> KMS = 0.425 + 0.312 KMSt33, <sup>5</sup> KMS = - 0.0200 + 1.00 KMSt33, <sup>6</sup> KMS = 0.489 + 0.214 KMSt33, <sup>7</sup> KMS = 0.200 + 0.714 KMSt36, <sup>8</sup> KMS = 0.522 + 0.167 KMSt36, <sup>9</sup> KMS = 0.620 - 0.000 KMSt36, <sup>a,b,c,...</sup> Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiki olarak fark önemlidir (P<0.05)

**Tablo 4.** Ahır denemesinde alkan C<sub>32</sub>, C<sub>33</sub> ve C<sub>36</sub>'nın geri alınabilirlikleri (GA, %,  $X \pm Sx$ )**Table 4.** Alkane C<sub>32</sub>, C<sub>33</sub> and C<sub>36</sub> recoveries in indoor experiment(R, %,  $X \pm Sx$ )

GA <sub>32</sub>	GA <sub>33</sub>	GA <sub>36</sub>
0.88±0.009	0.88±0.010	0.89±0.011

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Mera denemesinde, otlardaki alkan konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla alınan 3 çeşit numunedeki (hayvanların otladığı alanlarda henüz hayvanlar tarafından koparılmamış olan ot, hayvanların otlama esnasında

**Tablo 5.** Mera denemesinde hesap edilen KMTt sonuçları (kg/gün,  $X \pm Sx$ )**Table 5.** Calculated DMle results in pasture experiment(kg/day,  $X \pm Sx$ )

Deneme	Saat 10:00 Numunesi		Saat 16:00 Numunesi	
	KMTt <sub>33:32</sub>	KMTt <sub>33:36</sub>	KMTt <sub>33:32</sub>	KMTt <sub>33:36</sub>
1. dönem	5.256±0.383 <sup>a</sup>	5.191±0.353 <sup>b</sup>	5.170±0.383 <sup>a</sup>	5.187±0.399 <sup>a</sup>
2. dönem	4.150±0.092 <sup>b</sup>	4.176±0.101 <sup>c</sup>	4.033±0.120 <sup>b</sup>	4.061±0.139 <sup>b</sup>
3. dönem	5.806±0.228 <sup>a</sup>	5.859±0.227 <sup>a</sup>	5.819±0.249 <sup>a</sup>	5.751±0.224 <sup>a</sup>
4. dönem	5.580±0.222 <sup>a</sup>	5.608±0.240 <sup>ab</sup>	5.563±0.272 <sup>a</sup>	5.591±0.308 <sup>a</sup>
5. dönem	4.321±0.263 <sup>b</sup>	4.319±0.284 <sup>c</sup>	4.274±0.271 <sup>b</sup>	4.259±0.228 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c,...</sup> Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiki olarak fark önemlidir (P<0.001)

**Tablo 6.** Mera denemesinde hesap edilen KMSt sonuçları (% ,  $X \pm Sx$ )**Table 6.** Calculated DMDe results in pasture experiment(% ,  $X \pm Sx$ )

Deneme	Saat 10:00 Numunesi			Saat 16:00 Numunesi		
	KMSt <sub>32</sub>	KMSt <sub>33</sub>	KMSt <sub>36</sub>	KMSt <sub>32</sub>	KMSt <sub>33</sub>	KMSt <sub>36</sub>
1. dönem	0.79±0.003 <sup>aA</sup>	0.77±0.003 <sup>abA</sup>	0.76±0.004 <sup>abA</sup>	0.76±0.006 <sup>abA</sup>	0.75±0.014 <sup>bA</sup>	0.74±0.016 <sup>bA</sup>
2. dönem	0.69±0.016 <sup>C</sup>	0.67±0.016 <sup>B</sup>	0.67±0.015 <sup>C</sup>	0.69±0.006 <sup>C</sup>	0.66±0.010 <sup>B</sup>	0.68±0.012 <sup>B</sup>
3. dönem	0.78±0.016 <sup>A</sup>	0.75±0.014 <sup>A</sup>	0.74±0.017 <sup>AB</sup>	0.77±0.015 <sup>A</sup>	0.74±0.018 <sup>A</sup>	0.74±0.017 <sup>A</sup>
4. dönem	0.74±0.021 <sup>ab</sup>	0.70±0.017 <sup>abB</sup>	0.72±0.018 <sup>abB</sup>	0.74±0.010 <sup>ab</sup>	0.69±0.010 <sup>bb</sup>	0.71±0.013 <sup>abAB</sup>
5. dönem	0.50±0.029 <sup>abD</sup>	0.48±0.025 <sup>abC</sup>	0.45±0.012 <sup>bd</sup>	0.52±0.013 <sup>ad</sup>	0.50±0.016 <sup>abC</sup>	0.47±0.035 <sup>bc</sup>

<sup>a,b,c,...</sup> Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiki olarak fark önemlidir (P<0.05), <sup>A,B,C,...</sup> Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiki olarak fark önemlidir (P<0.001)

**Tablo 7.** Merada otlayan hayvanların canlı ağırlık (CA) ve canlı ağırlık artışı (CAA) ortalamaları ( $X \pm Sx$ )**Table 7.** Mean live weight (LW) and live weight gain (LWG) of grazing animals ( $X \pm Sx$ )

Parametre	Tarih				
	01 Haziran	21 Haziran	11 Temmuz	31 Temmuz	20 Ağustos
CA (kg)	164.88±1.52	171.38±3.01	188.63±3.32	201.00±3.25	216.00±5.82
CAA (kg/gün)	0.64±0.07				

yakalanarak yerden kopardıkları ve henüz yutmadıkları ağızdaki ot ve merada otlayan hayvanlar gözlenerek hayvanların yerden koparttıkları ottan yerde kalan ot) alkan konsantrasyonlarında önemli bir fark bulunmamıştır. Çalışmada en yüksek alkan konsantrasyonu, hem ahır denemesinde kullanılan kuru otta (15.99 mg/kg KM) hem de mera otlarında (35.95-37.45 mg/kg KM)  $C_{33}$  için ölçülmüştür. Bu sonuç, bitkilerde  $C_{33}$ 'ün yüksek konsantrasyonda olduğunu bildiren yayınlarla uyumludur [17-19]. Benzer bir çalışmada  $C_{33}$  alkani kaba yemde 44 mg/kg KM olarak bulunurken  $C_{36}$ 'nın tespit edilemediği bildirilmiştir [18]. Benzer şekilde çalışmamızda yem numunelerinde  $C_{36}$  tespiti yapılamamıştır. Alkan  $C_{36}$  bitkilerde çok düşük düzeyde olup genellikle analizlerde tespit edilememektedir. Bununla birlikte, bitkilerde alkan  $C_{36}$  konsantrasyonu bildiren çalışmalarda da mevcuttur [17,20,21].

Alkan  $C_{33}$ 'ün konsantrasyonu ahır denemesinde kullanılan kuru otta, meradaki taze otlara nazaran daha düşük bulunmuştur. Çeşitli araştırmalarda bitkilerdeki alkan içeriğinin bitki türüne [8,19,22], bölümüne [23-25] ve vejetasyon dönemine göre [26] değişkenlik gösterdiği bildirilmektedir. Çalışmamızda da alkan  $C_{32}$  konsantrasyonu hem kuru otta, hem taze çayır otunda aynı olmakla birlikte, alkan  $C_{32}$  ve  $C_{33}$  konsantrasyonlarının vejetasyon dönemi sonuna doğru artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Bazı araştırmacılar tarafından [20] rasyon  $C_{33}$  alkan konsantrasyonunun 10 mg/kg KM düzeyinin altında olması durumunda, geri alınabilirlik hesaplamalarının dolayısıyla KMTt'lerinin iyi olmayacağı bildirilmektedir. Casson ve ark.[27] ise güvenilir tahminler için bitkideki alkan  $C_{33}$  konsantrasyonunun 50 mg/kg düzeyinin üzerinde olması gerektiğini bildirmektedirler. Çalışmamızda alkan  $C_{33}$  konsantrasyonu 50 mg/kg düzeyinin altında olmasına rağmen (ahırda denemesinde 15.99, mera otlarında 35.95-37.45 mg/kg KM) elde edilen KMTt'leri oldukça başarılıdır.

Ahır denemesinde öncelikle AİK'lerin alkan indikatör metodunda dozlama için kullanılabilirliğini tespit etmek amaçlanmıştır. AİK'ler dışındaki dozlama yöntemlerinde dozlama her gün ve günde 1 ya da 2 kez yapılmaktadır. Bu her gün fazlaca iş gücü gerektirmesinin yanında indikatörün dışındaki konsantrasyonunda gün içi dalgalanmalara da yol açmakta ve sağlıklı sonuç almayı engellemektedir [28]. AİK'lerin bu dezavantajları ortadan kaldırdığı son zamanlarda yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur [18,20,29]. Oliveira ve ark.[25] AİK kapsüllerdeki alkan içeriğinin ve günlük salınım düzeyinin doğru ölçülmesi duru-

munda AİK kapsüller kullanılarak başarılı KMTt'leri yapılabileceğini bildirmektedir. Çalışmada elde edilen başarılı sonuçlar da bunu doğrulamaktadır.

Her iki denemede KMTt'leri gerçek KMT'ne yakın hesap edilmiş olup, KMT ve KMTt'leri arasında istatistiki olarak fark gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, AİK'lerin dozlama amacıyla kullanılması durumunda alkan indikatörlerin dışındaki konsantrasyonlarındaki gün içi dalgalanmaları ortadan kaldırdığını ya da oldukça düşürdüğünü, her gün aynı saatte olmak şartıyla sabah ya da öğleden sonra alınacak dışkı numuneleri ile başarılı KMTt'lerinin yapılabileceğini göstermektedir. Çalışmamızla benzer şekilde Berry ve ark.[18] da saat 06:30, 13:00 ve 20:30'da numune alımının sonuçları etkilemediğini bildirmiştir. Hendricksen ve ark.[20] ise AİK'lerden salınan alkan  $C_{36}$ 'nın dışındaki değişik saatlerdeki konsantrasyonunun çok az farklılık gösterdiğini bildirmiştir. Bu konuda kesin bir kaniye varmak için, gün içinde daha fazla numune alımının yapıldığı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Alkan indikatör metodu ile yapılan çalışmalarda genellikle alkan  $C_{33}$ : $C_{32}$  çifti ile daha başarılı sonuçlar alındığı bildirilmektedir [17,18,29]. Ancak bu çalışmanın sonuçları alkan  $C_{33}$ : $C_{36}$  çifti ile de başarılı sonuçlar alınabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte Olivan ve ark.[21] alkan  $C_{23}$ : $C_{24}$  çifti ile daha başarılı sonuç aldıklarını bildirmişlerdir.

Alkanların geri alınabilirliklerinin hesaplanabilmesi için toplam dışkı KM'sinin bilinmesi gerekmektedir. Çalışmamızda sadece ahır denemesinde toplam dışkı toplama yöntemi uygulandığı için alkanların geri alınabilirlikleri (GA) hesap edilebilmiştir. Tüm indikatör çalışmalarında GA önemli bir problemdir. Alkan metodunun bir çift indikatör yöntemi olması nedeniyle, KMTt'de kullanılan alkan çiftinin geri alınabilirliklerinin birbirine yakın olması yapılan tahminlerin doğruluk oranını yükseltmektedir [6,7,30]. Berry ve ark.[18] çalışmalarında alkan  $C_{31}$ 'in GA'nin  $C_{32}$ 'den düşük olduğunu bu nedenle KMTt'lerinin gerçek KMT'nin altında hesap edildiğini, buna karşın  $C_{32}$  ve  $C_{33}$ 'ün GA'lerinin birbirine yakın olduğunu dolayısıyla daha başarılı KMTt yapıldığını bildirmiştir. Çalışmamızda da alkanların GA'leri birbirine oldukça yakın bulunmuştur.

Ahır denemesinde KMS'ne en yakın KMS't'i sonuçları kullanılan alkana ve numune alım zamanına göre değişkenlik göstermiştir. En yakın KMS't karma numunede  $C_{32}$  alkani ile ve sabah numunesinde  $C_{33}$  alkani ile yapılan hesaplamalardan elde edilmiştir. Bununla birlikte karma



numunelerde yapılan KMSt ortalamaları  $C_{33}$  ve  $C_{36}$  alkanı için sırasıyla 0.61 ve 0.60 olarak hesaplanmış olup KMS ne yakın bulunmuştur. Tüm numunelerde alkan  $C_{36}$  ile yapılan KMSt lerinin gerçek KMS değerinin altında olduğu gözlenmiştir. Berry ve ark.<sup>[18]</sup>  $C_{33}$  alkanı kullanarak yaptıkları sindirilebilirlik hesaplamalarında oldukça başarılı sonuçlar elde etmişlerdir. Hendricksen ve ark.<sup>[20]</sup> sığırlarda yaptıkları beslenme çalışmasında gerçek KMS oranını %49.1 ve KMSt oranını %52.6 olarak belirlemiş olup, en iyi KMSt'nin  $C_{33}$  alkanı ile yapılan hesaplamalarla elde edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda gerçek KMS'inden (0.62) en farklı sonuç 0.65 ile sabah numunesinde alkan  $C_{32}$  ile yapılan KMSt hesaplamalarından alınmıştır. KMS ve KMSt arasındaki fark (0.03) bahsi geçen çalışmanın sonuçları ile karşılaştırıldığında elde edilen KMSt gerçek KMS'e daha yakın bir sonuçtur. Bu sonuç alkan  $C_{32}$  ile de başarılı KMSt yapılabileceğini göstermektedir.

Alkan indikatör metodunda KMT için hayvanın tükettiği kaba yemdeki alkan konsantrasyonları hesaplamalar için çok önemli olup, bu numunelerin tüketilen kaba yemi en iyi şekilde temsil etmesi gerekmektedir. Kapalı mekânda kontrollü yemleme yapıldığı için söz konusu numunenin alımı kolay olmaktadır. Mera çalışmalarında ise hayvanlar bitkiyi seçerek tüketmektedirler. Dolayısıyla rastgele el ile meradan alınacak numunelerin hayvanın tükettiği otları tam olarak temsil edememe ihtimali vardır. Bu da hesaplamalarda yanlışlığa yol açabilmektedir. Geçmişte geleneksel indikatör yöntemlerinde (lignin, silika, ADF gibi) özafagus fistüllü hayvanlar kullanılmıştır. Ancak bu yöntemin sadece homojen meralarda kullanılabileceği ve günlük alınması gereken numune sayısının fazla olması gerektiği bildirilmiştir <sup>[8,31]</sup>. Bu çalışmada ise bir yenilik olarak el ile alınan numuneye ek olarak, hayvanların otlama esnasında yakalanarak yerden kopardığı ve henüz yutmadığı ağızdaki otlardan numuneler alınmış ve bitki alkan konsantrasyonu analizi için kullanılmıştır. Yerden alınan numuneler ise otlayan hayvanlar gözlemlenerek hayvanın kopardığı otun yerde kalan bölümlerinden alınmıştır. Bu numunelerde alkan konsantrasyonları bir farklılık göstermemiştir.

Beş dönem halinde yürütülen mera çalışmasında hayvanların ortalama olarak (4 KMT'ti ortalamaları) dönemlere göre sırasıyla 5.201, 4.105, 5.809, 5.585 ve 4.293 KM kg/gün düzeyinde taze mera otu tükettikleri hesap edilmiştir. KMT'nin 2. ve 5. dönemlerde ani bir düşüş gösterdiği tespit edilmiştir. Paralel şekilde KMS'liğinde de aynı dönemlerde düşüş olduğu gözlenmiştir. Mera 2 döneminde tüketimin az olmasının muhtemel sebebi, yüksek seyreden hava sıcaklıkları olabilir. Bu döneme rastlayan tarihlerde hayvanlar, saat 11:00-15:00 arasında meraya salınmayıp gölgeliği bulunan padoklarda tutulmuşlardır. Yine son dönemde, meranın yeşilliğini kaybetmesi ve bitkinin lignifikasyonunun artması sonucu ot tüketiminin ve sindirilebilirliğinin azaldığı düşünülmektedir.

Mera denemesinde toplam dışkı toplama yöntemi uygulanmadığı için gerçek KMS tespiti yapılamamıştır.

KMSt'leri dönemlere göre ortalama olarak sırasıyla 0.76, 0.68, 0.75, 0.72 ve 0.49 olarak hesap edilmiştir. İkinci ve üçüncü dönemlerde tüm numunelerle yapılan KMSt'lerinin birbirine yakın olduğu ve aralarında istatistiki fark olmadığı gözlenmiştir. Yine tüm dönemlerde aynı alkanla yapılan KMSt'lerinin sabah ve akşam numuneleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bu sonuç numune alım saatinin KMSt'ni etkilemediğini göstermekle birlikte, kesin karar verebilmek için gün içerisinde değişik saatlerde daha fazla numune alınarak yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir. Tüm dönemlerde Alkan  $C_{33}$  ve  $C_{36}$  ile yapılan KMSt'lerinin birbirine yakın olduğu gözlenmiştir. Alkan indikatör çalışmalarında KMSt'lerinde, bitkide hazır olması ve genellikle tüm bitkilerde de konsantrasyonunun yüksek olması nedeniyle alkan  $C_{33}$  daha çok kullanılmıştır <sup>[8,18,20]</sup>. Bunun bir diğer nedeni de alkan  $C_{33}$ 'ün GA'nin yüksek olmasıdır. Mayes ve ark.<sup>[6]</sup> ve Dove ve Mayes <sup>[8]</sup> de KMSt'i için en doğru sonuçların alkan  $C_{33}$  ile alındığını bildirmişlerdir. Ayrıca alkan  $C_{36}$  ile daha başarılı sonuçlar alındığını bildiren çalışmalar da literatürde mevcuttur <sup>[17]</sup>. Çalışmamızda  $C_{33}$  ve  $C_{36}$  alkanlarıyla yapılan KMSt lerinin birbirine yakın olması bahsi geçen araştırmaları destekler niteliktedir.

Haziran ve Ağustos aylarında 3 ay boyunca elde edilen KMT'leri hayvanların kuru madde ihtiyaçlarını meradan karşılayabildiğini göstermektedir. Eylül ayından sonra mera kalitesinin azalmasıyla (Tablo 1) ve denemenin son döneminde KMSt'lerinde gözlenen ani düşüş (Tablo 6) bu dönemde hayvanların meradan yeterince faydalanamadığını göstermektedir. Görsel olarak da Ağustos sonu ve Eylül ayından sonra meraların yeşil rengini kaybedip sararması bunu doğrular niteliktedir. Halbuki, Kars ve çevresinde hayvan yetiştiricilerinin genel olarak 15 Mayıs-30 Kasım tarihlerini içerecek şekilde hayvanlarını merada tuttuğu gözlenmektedir. Haziran ayından önce hayvanların meraya salınması otlar yeterince uzamadığı için mera kalitesini düşürmektedir ve ayrıca hayvanlar merada yeterince ot zaten bulamamaktadır. Eylül ayından sonra da merada tutulan hayvanlara ise yem takviyesi yapılması gerektiğini bu çalışma sonuçları ortaya koymaktadır. Çünkü çalışmanın yapıldığı son döneme rastlayan 20 Ağustos - 09 Eylül tarihlerinde, dönem başında hayvanların 216 kg olduğu ve hayvanların yaşama payı besin madde ihtiyaçlarını karşılayabilmek için KMT'lerinin canlı ağırlıklarının %2.5'i olması gerektiği düşünülürse günlük 5.4 kg/gün KM tüketmeleri gerekmektedir. Ancak bu dönemde hayvanların ortalama 4.293 kg/gün KM tüketmişlerdir.

Mera çalışmasında hayvanların deneme başı ortalama canlı ağırlıkları 164.88±1.52 kg ve deneme sonu canlı ağırlıkları 216.00±5.82 kg olarak tespit edilmiştir. Tüm deneme boyunca hayvanlar günlük 0.64±0.07 kg/gün canlı ağırlık artışı sağlamışlardır. KMT'leri tüm dönemlerin ortalaması 4.999 kg/gün olarak hesap edilmiştir. Deneme başı ve sonu canlı ağırlıklarının ortalaması 190.4 kg ve 1 yaşlı danalar için ortalama KMT canlı ağırlıklarının %2.5'i

alınırsa hayvanların normal bir tüketim gösterdiği görülmektedir. Hendricksen ve ark.<sup>[20]</sup> ise 215 kg ağırlığında 1.5 yaşlı erkek dana ve kuru ot ile ahırda yapmış oldukları iki çalışmada, gerçek KMT'lerini 3.45 ve 3.24 kg/gün olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen KMT'lerinin bahsi geçen çalışmada elde edilen sonuçlara göre oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum bahsi geçen çalışmalarda hayvanların kuru ot ile beslenmesine bağlanabileceği gibi hayvanların otlamayıp kapalı mekânda beslenmesine de bağlanabilir.

Sonuç olarak ahır denemesinde elde edilen veriler AİK'lerin alkan indikatör metodunda dozlama amacıyla başarıyla kullanılabileceğini göstermektedir. Mera çalışmasında hayvanların Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında meradan kuru madde ihtiyaçlarını karşılayabildikleri, ancak Eylül ayı başından sonra ihtiyaçların tam olarak karşılanmadığı ortaya çıkmaktadır. Bu konuda kesin karar verebilmek için Eylül, Ekim hatta Kasım ayını da içine alacak yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu hipotez doğrulanırsa Eylül-Kasım aylarında merada tutulacak hayvanlara yarı entansif besi şeklinde yem takviyesi gerekecektir. Böylece bölgede hayvansal üretim daha verimli bir şekilde yapılabilecektir.

## KAYNAKLAR

- 1. Ordakowski AL, Kronfeld DS, Holland JL, Hargreaves BJ, Gay LS, Harris PA, Dove H, Sklan D:** Alkanes as internal markers to estimate digestibility of hay or hay plus concentrate diets in horses. *J Anim Sci*, 79, 1516-1522, 2001.
- 2. Lippke H:** Estimation of forage intake by ruminants on pasture. *Crop Sci*, 42, 869-872, 2002.
- 3. Gudmundsson O, Thorhallsdottir AG:** Evaluation of n-alkanes for intake and digestibility determination in horses. Techniques for investigating intake and ingestive behaviour by farm animals. *IX<sup>th</sup> European Intake Workshop*, 18-20 November, Devon-UK, 1-4, 1998.
- 4. Hatt JM, Gisler R, Mayes RW, Lechner-Doll M, Clauss M, Liesegang A, Wanner M:** The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of intake, digestibility, mean retention time and diet selection in galapagos tortoises (*Geochelone nigra*). *Herpetol J*, 12, 45-54, 2002.
- 5. Ünal Y:** Alkan indikatör tekniği kullanılarak yem tüketimi ve sindirilebilirlik tahmini. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*, 44 (2): 53-59, 2004.
- 6. Mayes RW, Lamb CS, Colgrove PM:** The use of dosed and herbage n-alkanes as markers for the determination of herbage intake. *J Agr Sci, Cambridge*, 107, 161-170, 1986.
- 7. Dillon P, Stakelum G:** The use of n-alkanes and chromic oxide as markers for determining feed intake, faecal output and digestibility in dairy cows. **In**, *Proceedings of the 12<sup>th</sup> General Meeting of the European Grassland Federation*, Madrid-Spain, 154-158, 1988.
- 8. Dove H, Mayes RW:** The use of plant wax alkanes as marker substances in studies of the nutrition of herbivores. A review. *Austr J Agr Res*, 42, 913-952, 1991.
- 9. Unal Y, Garnsworthy PC, Gorton P:** The use of n-alkanes for prediction of intake in dairy cows. **In**, *Proceedings of the British Society of Animal Science*, March 1997, Scarborough-UK, 137, 1997.
- 10. Mayes RW, Lamp CS, Colgrove PM:** Determination of herbage intake of sucking lambs using long-chain n-alkanes as markers. *Anim Prod*, 42, 457, 1986.
- 11. Dove H, Freer M, Foot JZ:** Alkane capsules for measuring pasture intake. *Proc Nutr Soc Aust*, 13, 131, 1988.
- 12. Unal Y, Garnsworthy PC:** An alternative method of administering alkane markers for estimating intake in dairy cows. **In**, *Proceedings of the British Society of Animal Science*, March 1998, Scarborough-UK, 91, 1999.
- 13. CAPTEC:** <http://www.captcec.info/web/captcecinfo/captcecinfohp.nsf/web/index.html>, Accessed: 28.07.2007.
- 14. AOAC:** Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1990.
- 15. Unal Y, Garnsworthy PC:** Estimating of intake and digestibility of forage-based diets in group-fed dairy cows using alkanes as markers. *J Agr Sci*, 133 (4): 419-426, 1999.
- 16. SPSS 19 (for MacOS X):** SPSS Inc, New York, USA.
- 17. Gedir JV, Hudson RJ:** Estimating dry matter digestibility and intake in wapiti (*Cervus elaphus canadensis*) using the double n-alkane ratio technique. *Small Rumin Res*, 36, 57-62, 2000.
- 18. Berry NR, Scheeder MRL, Sutter F, Kröber TF, Kreuzer M:** The accuracy of intake estimation based on the use of alkane controlled-release capsules and faeces grab sampling in cows. *Ann Zootech*, 49, 3-13, 2000.
- 19. Ferreira LMM, Garcia U, Rodrigues MAM, Celaya R, Dias-da-Silva A, Osoro K:** Estimation of feed intake and apparent digestibility of equines and cattle grazing on heathland vegetation communities using the n-alkane markers. *Livest Sci*, 110, 46-56, 2007.
- 20. Hendricksen RE, Reich MM, Robertson RF, Reid DJ, Gazzola C, Rideout JA, Hill RA:** Estimating the voluntary intake and digestibility of buffel-grass and lucerne hays offered to Brahman-cross cattle using n-alkanes. *Anim Sci*, 74, 567-577, 2002.
- 21. Olivan M, Ferreira LMM, Celaya R, Osoro K:** Accuracy of the n-alkane technique for intake estimates in beef cattle using different sampling procedures and feeding levels. *Livest Sci*, 106, 28-40, 2007.
- 22. Malossini F, Piasentier E, Bovolenta S:** N-alkane content of some forages. *J Sci Food Agr*, 53, 405-409, 1990.
- 23. Dove H, Mayes RW:** Plant wax components: A new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. *J Nutr*, 126, 13-26, 1996.
- 24. Genro TGM, Thiago LRL De S, Prates ER, Herrero M, Sabatel V:** Determination of n-alkanes at different stratum heights in a pasture of *Panicum maximum* cv. Mombaca, **In**, *Proc 19<sup>th</sup> Int Grassl Congr*, February 2001, Piracicaba-Brazil (Abstr.), 401, 2001.
- 25. Oliveira DE, Manella MQ, Tedeschi LO, Silva SC, Lanna DPD:** N-Alkanes to estimate voluntary forage intake of cattle using controlled-release capsules. *Sci Agric (Piracicaba, Braz)*, 65 (3): 230-238, 2008.
- 26. Vulich SA, Hanrahan JP, O'Riordan EG:** Pasture sampling for the estimation of herbage intake using n-alkanes: Evaluation of alternative sampling procedure. *Irish J Agr Food Res*, 32, 1-11, 1993.
- 27. Casson T, Rowe JB, Thorn CW, Harris D:** The use of natural n-alkanes in medic and clover as indigestible markers. *Proc Aust Soc Anim Prod*, 18, 462 (Abstr.), 1990.
- 28. Vulich SA, Hanrahan JP:** Sources of variation associated with the n-alkane technique for estimating herbage intake. **In**, *Proceedings of the 18<sup>th</sup> Annual Research Meeting*. April 1992, April, Irish Grassland and Animal Production Association, 89-90, 1992.
- 29. Smit HJ, Taweel HZ, Tas BM, Tamminga S, Elgersma A:** Comparison of techniques for estimating herbage intake of grazing dairy cows. *J Dairy Sci*, 88, 1827-1836, 2005.
- 30. Vulich SA, Hanrahan JP:** Estimation of intake by the grazing animal with special reference to the n-alkane technique. **In**, *Proceedings of the 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of the European Association of Animal Production*. September 1992, Madrid, Spain, Paper 53.1, 1992.
- 31. Langlands JP:** Techniques for estimating nutrient intake and its utilization by the grazing ruminant. **In**, McDonald IW, Warner ACI (Eds): *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. 320-332, University of New England Publishing Unit, Armidale, 1975.