

## KRMNI DODACI POVEĆAVAJU KONZUMIRANJE NAJVAŽNIJIH GRMOVA MEDITERANSKE MAKIJE BOGATIH TANINIMA I TERPENIMA

FEED ADDITIVES INCREASE INTAKE OF THE MOST IMPORTANT TANNIN- AND TERPENE-RICH SHRUBS IN THE MEDITERRANEAN MAQUIS

J. Rogošić, T. Šarić, Mia Brkljača, J. Pavličević, S. Ivanković

Izvorni znanstveni članak  
Primljen: 10. ožujka 2010.

### SAŽETAK

U šest pokusa istraživan je učinak energije (ječma), polietilen-glikola (PEG; pokus: 1 – 3), aktivnog ugljena (AU; pokus 4 – 6) i različitog broja ponuđenih vrsta grmova na hranidbene navike ovaca i koza. U prvom pokusu ovcama i kozama ponuđena su 3 grma, u drugom 2 grma i u trećem pokusu 1 grm s visokim sadržajem tanina, dok su na isti način u četvrtom pokusu ovcama i kozama ponuđena tri grma, u petom pokusu dva grma i u šestom pokusu jedan grm s visokim sadržajem terpena. U prvom pokusu, ovce prihranjivane ječmom i PEG-om više su konzumirale ( $P=0,002$ ) biomase grmova *Quercus ilex*, *Arbutus unedo* i *Pistacia lentiscus* u odnosu na kontrolnu skupinu, ali takav učinak nije utvrđen u koza. U drugom pokusu, kada su ovcama i kozama ponuđena 2 grma (*Arbutus unedo* i *Pistacia lentiscus*), dodatak ječma i PEG-a imao je pozitivan učinak ( $P<0,001$ ) na ukupan unos grmova u obje vrste životinja. U trećem pokusu, dodatna prihrana ječmom i PEG-om također je imala značajan učinak ( $P<0,001$ ) na konzumiranje *Pistacia lentiscus* u ovaca i koza. Koze tretirane PEG-om konzumirale su više grma *Pistacia lentiscus* (39,6 g/kg t.m.) nego PEG-om tretirane ovce (28,1 g/kg t.m.), dok su kontrolne skupine ovaca i koza konzumirale podjednake količine biomase istog grma (12,2 g/kg t.m. odnosno 15,3 g/kg t.m.). Dodatak prihrani ječma i AU-a imao je pozitivan učinak na ukupan unos grmova od strane ovaca i koza u sljedeća tri pokusa. U četvrtom pokusu ponuđena su 3 grma (*Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum* i *Juniperus oxycedrus*;  $P=0,002$ ), u petom pokusu ponuđena su dva grma (*Juniperus phoenicea* i *Helichrysum italicum*;  $P<0,001$ ) i u šestom pokusu ponuđen je jedan grm (*Juniperus phoenicea*;  $P=0,02$ ). Isto tako, koze su u sva tri pokusa konzumirale veću količinu grmova ( $P<0,01$ ) od ovaca.

Nadalje, oba krmna dodatka, PEG i AU s ječmom, pozitivno su utjecala na ishranu grmovima kada je životnjama ponuđeno  $3 > 2 > 1$  grma, a isto tako, kombinacija više različitih vrsta grmova ponuđenih životnjama pridonosi većem unosu hrane. Naši rezultati podupiru hipotezu da biološka/biokemijska raznolikost igra važnu ulogu u izboru hrane biljojeda, te im omogućava bolje zadovoljavanje hranidbenih potreba s jedne strane i izbjegavanje trovanja fitotoksinima s druge strane.

Ključne riječi: krmni dodaci, polietilen glikol, aktivni ugljen, mediteranski grmovi, makija, sekundarni metaboliti.

---

Prof. dr. sc. Jozo Rogošić; mr. Tomislav Šarić dr. vet. med.; dr. sc. Mia Brkljača, Odjel za poljodjelstvo i akvakulturu Sredozemlja, Sveučilište u Zadru, M. Pavlinovića bb, 23 000 Zadar, Hrvatska; Doc. dr. Jerko Pavličević; Prof. dr. Stanko Ivanković, Zavod za stočarstvo, Agronomski fakultet, Sveučilište u Mostaru, Biskupa Čule bb, 88000 Mostar, Bosna i Hercegovina.

## UVOD

Mediteranska grmolika vegetacija makije i gariga ili bušika rasprostranjena je u cijelom području mediteranskog bazena, uključujući i jadransko područje Hrvatske. Te pašnjačko-šumske sastojine tradicionalno se iskorištavaju za ispašu i brst, te su značajan izvor krme za ovce i koze, osobito tijekom ljetnog sušnog razdoblja. Većina grmova primorskih sastojina makije, osim značajne hranidbene vrijednosti, sadrži visoke koncentracije sekundarnih metabolita (tanina, terpena, saponina, glokozida i dr.) koje sitnim preživačima ograničavaju njihovo iskorištavanje (Rogošić i sur., 2006; 2007).

Rhoades (1979) iznosi podatak da 80% mediteranskih grmolikih vrsta sadrži tanine, koji su često na razini od 10% ili više u suhoj tvari (Levin, 1976). Tanini (fenolni polimeri) i drugi fenolni spojevi (catehini, epicatehini, galna kiselina, elaginska kiselina) izravno smanjuju probavljivost i konzumiranje biomase najvažnijih grmova sastojina makije *Myrto-Quercetum ilicis*, glavnog i najrasprostranjenijeg tipa vegetacije u jadranskom primorju (Rogošić i sur., 2007). Fenolni spojevi, eterična ulja i terpeni također ograničavaju palatabilnost, probavljivost i konzumiranje dominantnih grmova zajednice bušika ružmarina i vriješa (*Erico-Rosmarinetum officinalis*; Rogošić i Ivanković, 2004).

Terpenoidi su najveća skupina sekundarnih biljnih metabolita, pri čemu je za više od 30.000 terpena određena kemijska struktura (Little i Croteau, 1999). Mnogim je istraživanjima utvrđeno da terpeni *in vitro* smanjuju probavljivost u preživača, mijenjajući mikrobiološku aktivnost, posebno ako mikroorganizmi u buragu nisu prilagođeni terpenskim spojevima (Schwartz i sur., 1980). Ngugi i sur. (1995) izvjestili su da eterično ulje američke komoljike (*Artemisia* sp.) smanjuje broj bakterija u tekućem sadržaju buraga jelena, ali nisu utvrdili nikakve posebne dokaze prilagodbe mikrobne populacije tijekom razgradnje hrane. Stvarni štetni učinci terpena *in vivo* pokazali su se znatno manje značajnima, a razlog za to je gubitak terpena koji nastaje tijekom žvakanja i ruminacije (Cluff i sur., 1982), podrigivanja toplih para (Pederson i Welch, 1982), i / ili smanjenja apsorpcije iz buraga (Freeland i Janzen, 1974). Newbold i sur. (2004) iznijeli su da prehrana različitom smjesom eteričnih ulja u ovaca ne uzrokuje značajne posljedice na fermentaciju, sadržaj amonijaka u buragu, broj protozoa i probavu, iako su utvrdili smanjenu *in sacco* razgradnju proteina.

Brojni spojevi istraženi su u svrhu određivanja njihovog potencijala za smanjenje štetnog djelovanja tanina i terpena, uključujući polietilen glikol (PEG) i aktivni ugljen (AU). PEG ima visoki afinitet za vezanje tanina te je u mnogim istraživanjima potvrđeno da povećava konzumiranje biomase grmova s visokim sadržajem tanina (Pritchard i sur., 1988, Silanikove i sur., 1994). To se u prvom redu događa zbog čvrstog vezanja tanina i PEG-a, pri čemu se ublažavaju nepovoljne posljedice kao što su lezije na sluznicama crijeva (Reed, 1995). Dodatna prihrana ovaca AU-om također je rezultirala povećanim unosom biomase velike američke komoljike (*Artemisia tridentata* - terpenom bogata biljka) od 30% (Banner i sur., 2000).

Primarni cilj naših istraživanja bio je utvrditi u kojem će obimu dodatna prihrana ovaca i koza PEG-om i AU-om u smjesi s ječmom (energijom) utjecati na konzumiranje biomase  $3 > 2 > 1$  taninom i  $3 > 2 > 1$  terpenom bogatih grmova biljne zajednice makije *Myrto-Quercetum ilicis*. Nadalje, u okviru provedenih istraživanja analizirat će se učinak PEG-a i AU-a kada se pokusnim životnjama ponude različite kombinacije grmova s različitim hranidbenim vrijednostima i različitom količinom i koncentracijom sekundarnih metabolita (tanina i terpena). Posebna pažnja обратит će se na učinak PEG-a i AU-a na konzumiranje biomase nisko palatabilnih grmova *Pistacia lentiscus* (visoki sadržaj tanina) i *Juniperus phoenicea* (visoki sadržaj terpena). Znanstvena hipoteza postavljena je tako da će dodatak PEG-a ili AU-a u smjesu s ječmom (energijom) utjecati na povećanje konzumiranja biomase grmova s visokim sadržajem tanina odnosno terpena i da će to povećanje biti izraženije kako se broj grmova u ishrani ovaca i koza bude smanjivao (manja biološka/biohemisika raznolikost).

## MATERIJAL I METODE

### Grmovi i životinje korištene u pokusima

Predstavljena istraživanja provedena su u pokušnoj postaji u kaštelanskoj Zagori, 25 km udaljenoj od Splita (S.G. Š.  $43^{\circ} 52' N$ ; S.G. D.  $16^{\circ} 23' E$ ). U okviru istraživanja ukupno je provedeno 6 pokusa, od kojih je svaki trajao po 10 dana. Israživanjima je obuhvaćeno 6 grmova zajednice mediteranske makije ass. *Myrto-Quercetum ilicis*, s time da su 3 grma sadržavala visoke koncentracije tanina, a druga 3

grma su sadržavala visoke koncentracije terpena. U prva 3 pokusa uključeni su grmovi: *Quercus ilex* L. (Fagaceae), *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) i *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae), dok su u druga tri pokusa uključeni grmovi: *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae), *Helichrysum italicum* (Roth) Guss. (Asteraceae) i *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressaceae). U svih 6 uzastopno provedenih pokusa kao pokusne životinje korištene su ovce i koze. Ovce korištene u pokusima ( $n = 12$ , srednja težina  $23,08 \pm 1,59$  kg) bile su lokalno uzgojeni križanci između hrvatske pasmine Pramenke i Wunterberg pasmine. Koze korištene u pokusima ( $n = 12$ , srednja težina  $19,83 \pm 1,89$  kg) bile su mješanci domaćih koza križanih sa sanskom i alpskom pasminom. Obje vrste životinja imale su približno jednak broj pripadnika oba spola. Sve životinje korištene u istraživanju uzgojene su na istoj farmi na otoku Braču, te su u ispaši na otvorenom koristile mediteransku grmoliku vegetaciju makije. U provođenju pokusa, grmlje ponuđeno ovcama i kozama ručno je brano svaki tjeđan na južnim ekspozicijama planine Kozjak. Ubrano lišće i 10 cm duge jednogodišnje grančice stavljane su u vreće, koje su u trajanju od jednog sata odvezene na eksperimentalnu postaju, gdje je biljni materijal samljeven pomoću mlina čekićara na dužnu čestica do 0,5 cm. Samljeveni biljni materijal svakog pojedinog grma je izmiješan, homogeniziran i stavljen u polietilenske vreće po 5 kg, koje su zatim smještene u hladnjak na temperaturu od  $+4^{\circ}\text{C}$ . Svako jutro prije pokusa iz hladnjaka su vađene vreće s biomasom istraživanih grmova, kojom su hranjene ovce i koze tijekom jednodnevног pokusa.

### Eksperimentalni postupak

Životinje su smještene u pojedinačne žičanom mrežom odvojene obore, veličine  $1,5 \times 2$  m, gdje im je osiguran slobodan pristup svježoj vodi i mješavini mineralne soli. Prije pokusa, u trajanju od 5 dana, određena je osnovica unosa energije na bazi ječma i lucerne za sve pokusne životinje. Nakon što je utvrđena polazna hranidbena osnovica, pokusnim ovcama i kozama ( $n = 12$ ) istovremeno je ponuđeno svih šest grmova u razdoblju od 9:00 do 13:00 h tijekom 5 dana. Nakon što je utvrđena točna količina konzumirane biomase grmova za svaku pokusnu životinju (12 ovaca i 12 koza) načinili smo dvije pokusne skupine po 6 životinja s približno podjednakom količinom konzumirane biomase grmova. Pokusne skupine ostale su nepromijenjene tijekom cijelog

istraživanja, što znači da se istih 12 ovaca i 12 koza odnosno 4 pokusne skupine koristilo u svih 6 pokusa. Između trajana svakog pojedinog pokusa s grmovima, životinje su izuzete od hranjenja grmovima, te su ponovno hranjene lucernom i ječmom u slobodnoj količini tijekom 3 dana.

**Pokus: 1 - 3:** Cilj prva tri pokusa bio je procijeniti učinak PEG-a i energije (ječma) na konzumiranje tri grma s visokim sadržajem tanina. U prvom pokusu ovcama i kozama ponuđena su tri grma (*Quercus ilex*, *Arbutus unedo* i *Pistacia lentiscus*), u drugom pokusu ponuđena su dva grma (*Arbutus unedo* i *Pistacia lentiscus*), dok je u trećem pokusu životnjama ponuđen samo jedan grm (*Pistacia lentiscus*).

**Pokus: 4 - 6:** Cilj slijedeća tri pokusa bio je utvrditi učinak AU i energije (ječma) na konzumiranje tri grma s visokim sadržajem terpena. Isto tako, u četvrtom pokusu ovcama i kozama ponuđena su tri grma (*Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum* i *Juniperus oxycedrus*), u petom pokusu ponuđena su dva grma (*Juniperus phoenicea* i *Helichrysum italicum*), dok je u šestom pokusu ponuđen samo jedan grm (*Juniperus phoenicea*).

Tijekom 10 dana trajanja svakog pokusa, u 8:00 sati svakog jutra, tretirane skupine ovaca i koza dodatno su prihranjivane s 200 g mljevenog ječma pomiješanog sa 20 g PEG-a (pokus: 1 - 3) ili s 20g AU-a (pokus: 4 - 6), dok kontrolna skupina životinja nije dobivala energetsko krmivo u obliku ječma, kao ni PEG odnosno AU. Nakon toga, od 9:00 do 14:00 sati, svim je životnjama istovremeno ponuđeno po 200 g svakog pojedinog grma, u odvojenim posudama za ishranu. Svakih 30 minuta životinje i posude s biomasom grmova provjeravane su, te je mljevena biomasa grmova dodavana u hranidbene posude prema potrebi. Na kraju dnevnog pokusa prikupljeni su ostaci biomase u hranidbenim posudama i na temelju ostatka biomase svakog pojedinog grma i ukupne količine ponuđene biomase izračunato je dnevno konzumiranje za svaki pojedini grm. U 15:00 h svim pusknim životnjama ponuđene su različite količine peletirane lucerne preračunate za svaku pusknu životinju, što im osigurava 50% uzdržnih potreba za energijom (INRA, 1989).

### Statistička analiza

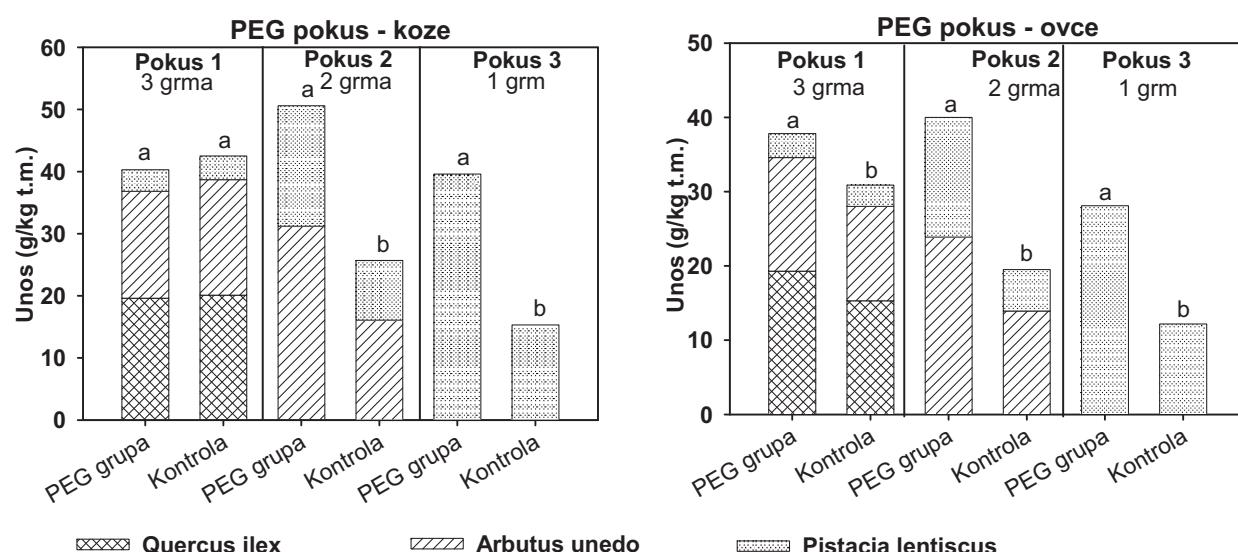
Ukupna dnevna količina konzumirane biomase grmova u svakom provedenom pokusu korištena je

kao zavisna varijabla u ANOVA analizi. Pokusni plan je bio potpuni slučajni raspored. Životinje su bile potpuni slučajni faktori u mješovitom modelu analize (SAS, 2000). Primijenjeni model je uključivao (1) tretmane ((PEG (pokus:1 – 3) i AU (pokus 4 – 6) naspram kontrolne skupine životinja)), (2) vrstu životinja (koze naspram ovaca), te (3) interakcije vrsta x tretman. Životinje su promatrane unutar tretmana i životinske vrste. Model je također uključivao dane kao ponavljanja, analizirane kroz sve ostale interakcije. Svi rezultati koji se odnose na količinu konzumirane biomase grmova preračunati su prema tjelesnoj masi životinja (g/kg t.m.).

## REZULTATI

*Pokus 1: Tri grma s visokim sadržajem tanina ponuđena ovcama i kozama*

Skupina ovaca dodatno prihranjivana PEG-om i ječmom (tretirana skupina) više je pojela ( $P=0.002$ ) ukupne biomase sva tri grma nego ovce iz kontrolne skupine koje nisu dodatno prihranjivane ječmom i PEG-om (sl. 1), dok u tretirane skupine koza učinak PEG-a i ječma na povećanje konzumiranja biomase grmova nije utvrđen. Gledano prosječno po tretmanima, obje vrste životinja, ovce i koze, konzumirale su prilično podjednaku ukupnu količinu biomase grmova (34,4 g/kg t.m. naspram 41,4 g/kg t.m.). Prema prosječnim rezultatima ovce i koze značajno su više voljele *Quercus ilex* (18,58 g/kg t.m.) i *Arbutus unedo* (15,95 g/kg t.m.) u odnosu prema *Pistacia lentiscus* (3,34 g/kg t.m.). Općenito u prvom pokusu, kada su 3 grma ponuđena ovcama i kozama sa ili bez dodatne prihrane PEG-om i ječmom, u obje vrste životinja uočava se tendencija povećanja konzumiranja biomase grmova od prvog prema zadnjem danu pokusa.



**Slika 1.** Ukupan unos grmova ovaca i koza kad su ponuđena tri grma (*Quercus ilex*, *Arbutus unedo*, i *Pistacia lentiscus*), dva grma (*Arbutus unedo*, i *Pistacia lentiscus*), ili jedan grm (*Pistacia lentiscus*) sa ili bez dodatnog prihranjivanja polietilen glikolom (PEG). Različita slova (a, b) pokazuju da se PEG-om tretirane životinje značajno razlikuju od kontrolne skupine koza (pokus 2,  $P<0.001$ ; pokus 3,  $P<0.001$ ) i ovaca (pokus 1,  $P=0.002$ ; pokus 2,  $P<0.001$ ; pokus 3,  $P<0.001$ ).

**Figure 1.** Total shrubs intake when three shrubs (*Quercus ilex*, *Arbutus unedo*, i *Pistacia lentiscus*), two shrubs (*Arbutus unedo*, i *Pistacia lentiscus*), or one shrub (*Pistacia lentiscus*) offered to sheep and goats, with or without supplemental polyethylene glycol (PEG). Different letters (a, b) show that PEG-treated animals significantly differ from control goats (Exp. 2,  $P<0.001$ ; Exp. 3,  $P<0.001$ ) and sheep (Exp: 1,  $P=0.002$ ; Exp: 2,  $P<0.001$ ; Exp: 3,  $P<0.001$ ).

*Pokus 2: Dva grma s visokim sadržajem tanina ponuđena ovcama i kozama*

U drugom pokusu kada su ovcama i kozama ponuđena 2 grma niže palatabilnosti (*Arbutus unedo* i *Pistacia lentiscus*), uočeno je da krmni dodatak PEG-a i ječma pozitivno utječe ( $P<0,001$ ) na ukupno konzumiranje biomase grmova (sl. 1). Sasvim je očito da su obje skupine ovaca i koza, tretirane PEG-om i ječmom konzumirale više biomase *Pistacia lentiscus* (16,12 g/kg t.m.; 19,40 g/kg t.m.) u odnosu na kontrolne skupine životinja (5,58 g/kg t.m.; 9,60 g/kg t.m.) koje nisu dodatno prihranjivane. Postignuti rezultati još više dolaze do izražaja u usporedbi s količinom pojedene biomase *Pistacia lentiscus* u prvom pokusu (tretirane ovce i koze: 3,22 g/kg t.m.; 3,50 g/kg t.m.; kontrolne skupine: 2,89 g/kg t.m.; 3,80 g/kg t.m.).

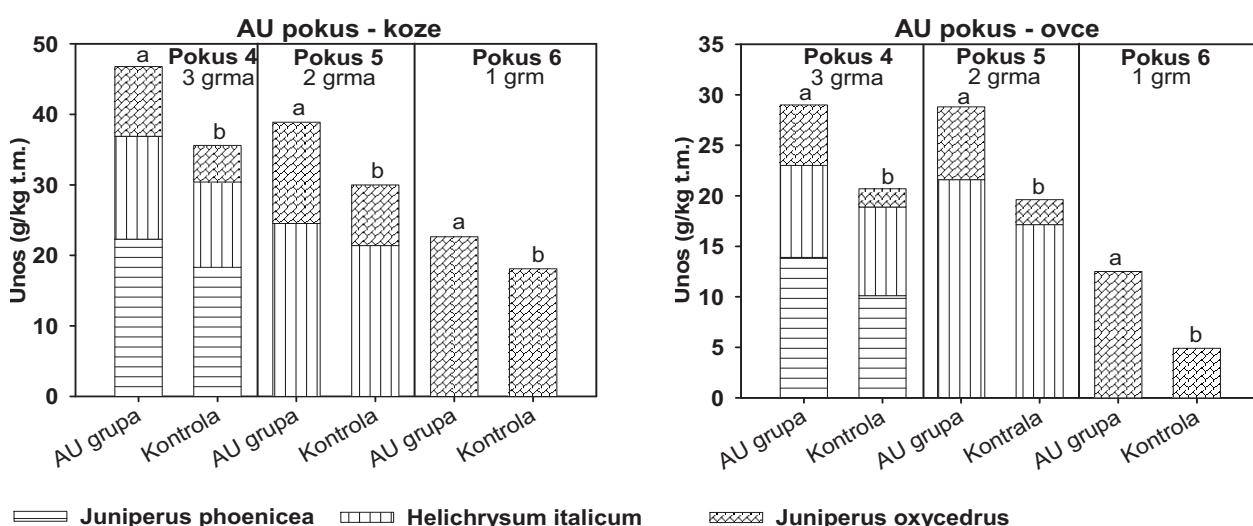
*Pokus 3: Jedan grm s visokim sadržajem tanina ponuđen ovcama i kozama*

U trećem pokusu korišteni krmni dodatak PEG-a i ječma imao je značajno pozitivan učinak ( $P<0,001$ )

na konzumiranje biomase *Pistacia lentiscus* od strane ovaca i koza (33,85 g/kg t.m. naspram 13,74 g/kg t.m.) (sl. 1). Skupina koza prihranjivana PEG-om i ječmom znatno je više konzumirala biomase *Pistacia lentiscus* (39,6 g/kg t.m.) nego skupina ovaca koja je prihranjivana PEG-om i ječmom (28,1 g/kg t.m.), dok su kontrolne skupine ovaca i koza konzumirale podjednake količine biomase *Pistacia lentiscus* (12,2 g/kg t.m.; 15,3 g/kg t.m.).

*Pokus 4: Tri grma s visokim sadržajem terpena ponuđena ovcama i kozama*

Prema rezultatima četvrtog pokusa koze su, kao i u prvom pokusu, konzumirale veću količinu biomase triju grmova (*Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum* i *Juniperus oxycedrus*) nego ovce ( $P<0,01$ ; slika 2). Skupine ovaca i koza koje su dodatno prihranjivane AU-om i ječmom konzumirale su više ukupne biomase grmova ( $P=0,002$ ) nego kontrolne skupine životinja ( $37,9 \pm 1,4$  g/kg t.m. naspram  $28,2 \pm 1,3$  g/kg t.m.). Obje vrste životinja (ovce i koze) razlikuju se u ukupnoj količini konzumiranih grmova,



**Slika 2.** Ukupan unos grmova kad su ovcama i kozama ponuđena tri grma (*Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum*, i *Juniperus oxycedrus*), dva grma (*Juniperus phoenicea* i *Helichrysum italicum*), ili jedan grm (*Juniperus phoenicea*) sa ili bez dodatnog prihranjivanja aktivnim ugljenom (AU). Različita slova (a, b) pokazuju da se AU-om tretirane životinje značajno razlikuju od kontrolne skupine koza (pokus 4,  $P=0,002$ ; pokus 5,  $P<0,001$ ; pokus 6,  $P=0,02$ ) i ovaca (pokus 4,  $P=0,002$ ; pokus 5,  $P<0,001$ ; pokus 6,  $P=0,02$ ).

**Figure 2.** Total shrubs intake when three shrubs (*Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum*, i *Juniperus oxycedrus*), two shrubs (*Juniperus phoenicea* i *Helichrysum italicum*) or one shrub (*Juniperus phoenicea*) offered to sheep and goats, with or without supplemental activated charcoal (AU). Different letters (a, b) show that AU-treated animals significantly differ from controls goats (Exp. 4,  $P=0,002$ ; Exp. 5,  $P<0,001$ ; Exp. 6,  $P=0,02$ ) and sheep (Exp. 4,  $P=0,002$ ; Exp. 5,  $P<0,001$ ; Exp. 6,  $P=0,02$ ).

međutim redoslijed vrsta grmova rangiran prema količini pojedene biomase bio je isti za ovce i koze. Poredak grmova prema prosječnoj količini pojedene biomase grmova u oba tretmana, za obje vrste životinja bio je sljedeći: *Juniperus oxycedrus* (20,35 g/kg t.m.), *Helichrysum italicum* (18,16 g/kg t.m.) i *Juniperus phoenicea* (15,75 g/kg t.m.).

*Pokus 5: Dva grma s visokim sadržajem terpena ponuđena ovcama i kozama*

Kao i u prethodnom pokusu ukupna količina konzumirane biomase dvaju grmova (*Juniperus phoeniceae* i *Helichrysum italicum*) bila je veća u koza nego u ovaca ( $P=0,0003$ ;  $34,5 \pm 0,9$  g/kg t.m. naspram  $24,3 \pm 0,9$  g/kg t.m.; sl. 2). Skupine ovaca i koza tretiranih AU-om i ječmom konzumirale su veću količinu biomase grmova od kontrolnih skupina životinja ( $P<0,001$ ;  $33,9 \pm 0,8$  g/kg t.m. naspram  $24,8 \pm 1,1$  g/kg t.m.).

*Pokus 6: Jedan grm s visokim sadržajem terpena ponuđen ovcama i kozama*

U šestom pokusu ovaca i kozama ponuđen je samo jedan grm (*Juniperus phoenicea*) s iznimno visokim sadržajem terpena. Prema postignutim rezultatima uočavaju se tretman x dan ( $P=0,03$ ) interakcije u obje AU-om i ječmom tretirane skupine životinja, posebice u skupine ovaca, koja se značajno očituje u povećanom unosu biomase *Juniperus phoenicea* tijekom vremena u odnosu na kontrolnu skupinu ovaca (12,50 g/kg t.m. naspram 4,90 g/kg t.m.) (sl. 2). Isto tako, analizom rezultata u šestom pokusu utvrđena je vrsta x dan interakcija ( $P=0,02$ ), budući da su ovce više nego koze povećavale konzumaciju biomase *Juniperus phoenicea* kroz vrijeme, iako su ovce manje pojele ukupne biomase *Juniperus phoenicea* u odnosu na koze (tretirana skupina koza: 22,65 g/kg t.m.; kontrolna grupa: 18,10 g/kg t.m.).

Prema postignutim rezultatima u svih šest provedenih pokusa sasvim se jasno može istaknuti, kako se broj grmova u obroku smanjivao (smanjenje biološke/biokemijske raznolikosti), tako je koncentracija terpena i tanina u obroku rasla. U takvim okolnostima, dodatna prihrana ovaca i koza ječmom, PEG-om i AU-om imala je veći utjecaj na konzumiranje biomase grmova. Konačno, učinci PEG-a i AU-a

tijekom istraživanja bili su podjednaki za ovce i koze, iako su koze u svim pokusima konzumirale veću količinu biomase grmova od ovaca (usp.: sl. 1 i 2).

## RASPRAVA

### 1. Učinak PEG-a na konzumiranje grmova s visokim sadržajem tanina

Ovce i koze su najznačajniji primarni konzumenti mediteranske vegetacije makije i garige ili bušika, a kao takvi oblikuju raznolikost, strukturu i dinamiku tih ekstenzivnih ekosustava. U mnogim tradicionalnim načinima držanja stoke u Mediteranu, stočari većinom drže mješovita stada ovaca i koza kako bi što bolje iskoristili krmni potencijal pašnjačko-šumskih sastojina makije i gariga (Bourbouze i Rubino, 1992). Lako ovce i koze imaju kombinirani način uzimanja hrane (brste i pasu), u uvjetima mješovite ishrane, koze će pojesti veći udio brsta nego ovce, te će mnogo efikasnije iskoristiti grmoliku vegetaciju (Landa i sur., 2000; Rogosic i sur., 2006a). S obzirom da je 80% sredozemnog grmlja bogato taninima različitih vrsta i koncentracija, ti sekundarni metaboliti su glavna prepreka za učinkovito iskorštavanje grmolike vegetacije od sitnih preživača (Silanikove i sur., 1996; Rogosic i sur., 2006b). Tanini su skupina složenih fenolnih polimera široko rasprostranjenih u različitim biljnim vrstama (Silanikove i sur., 1997; Titus i sur., 2000). Na osnovi strukturnih značajki tih spojeva i njihovih reakcija s hidrolitičkim agensima, tanini se dijele na kondenzirane (m.t. 1000-20000) i hidrolizirane tanine (m.t. 500-3000; Mueller-Harvey, 1999). Hidrolizirani tanini imaju ugljikohidratnu jezgru na koju se vežu esteri fenolnih i karboksilnih funkcionalnih skupina, dok kondenzirani tanini nastaju kondenzacijom flavanola ili flavandiola. Hidrolizirani tanini nakon dospijeća u želudac životinje odmah se hidroliziraju na šećerne dijelove i jednostavne fenolne spojeve koji se lako apsorbiraju i u većim koncentracijama mogu uzrokovati različita otrovanja životinja (Jones i Mangan, 1977).

Najvažniji grmovi vegetacije makije i gariga s visokim sadržajem tanina, kao što su *Quercus ilex*, *Arbutus unedo*, *Pistacia lentiscus* utječu na smanjenje proizvodnih sposobnosti ovaca i koza, a u nekim slučajevima dovode do ozbiljnih trovanja životinja (Rogosic i sur., 2003; Rogosic i sur., 2006b). Međutim, provedenim istraživanjima nedvojbeno je potvr-

đeno da PEG značajno utječe na povećanje konzumiranja biomase grmova s visokim sadržajem tanina, a s time u vezi i na smanjenje toksičnog djelovanja tanina. Naime, PEG je polimer koji se u širokom rasponu pH vrijednosti nepovratno veže na tanine i na taj način ublažava njihove negativne učinke (Landau *i sur.*, 2000). Svojim istraživanjima autori Pritchard *i sur.* (1992), Titus *i sur.*, (2000, 2001) u ovaca i koza, te Hanningan i McNeil (1998) u goveda potvrdili su da se dodatkom PEG-a hrani povećava konzumiranje biomase biljaka koje sadrže visoke količine tanina. Ovdje je zanimljivo istaknuti da Rogošić *i sur.* (2007a) nisu utvrdili blagotvoran učinak PEG-a na konzumiranje biomase grmova kada je ovacama i kozama ponuđeno 6 grmova, te u našim istraživanjima kada su kozama ponuđena 3 grma (sl. 1). Međutim, značajan učinak PEG-a ostvaren je kada su ovcama ponuđena 3 grma (pokus 1) i kada su kozama i ovcama ponuđena dva grma (pokus 2) odnosno jedan grm opterećen visokim sadržajem tanina (pokus 3). Općenito gledano, kako se broj grmova u ishrani smanjivao, blagotvorni učinak PEG-a i energije (ječma) na konzumiranje grmova se povećavao. Isto tako, ovdje se može potvrditi da interakcije između hranjivih tvari, biljnih otrova i PEG-a utječu na konzumiranje biomase grmova. Tako na primjer, u drugom pokusu životinje u ishrani nisu izbjegavale relativno neukusan grm *Pistacia lentiscus* koji je bio ponuđen zajedno sa znatno ukusnjim grmom *Arbutus unedo*. Nadalje, u istom pokusu koji je uključivao ishranu ovaca i koza s dva grma, skupine životinja koje su dodatno prihranjivane PEG-om i energijom (ječmom) konzumirale su znatno više biomase svakog od grmova nego kontrolne skupine životinja, što zorno ukazuje na učinkovitost PEG-a i ječma u smanjenju negativnog učinka tanina sadržanog u grmovima *Pistacia lentiscus* i *Arbutus unedo*. U mnogim je radovima potvrđeno da biljojedi odabiru hranu ovisno o njenom hranjivom sastavu (Villalba *i sur.*, 2002a). Međutim, s druge pak strane unos biljnih otrova u tijelo životinje povlači za sobom metabolički utrošak, tako da biljojedi vjerojatno reagiraju promjenom svojih hranidbenih navika (Foley *i sur.*, 1999). Dodavani makronutrienti hrani povećavaju unos hrane koja sadrži različite toksine kao što su litij klorid (Wang i Provenza, 1996), terpeni i tanini (Rogošić *i sur.*, 2007), mentol (Illus i Jessop, 1996), te quebracho tanin (Villalba *i sur.*, 2002a). Prema tome, sposobnost ovaca i koza u konzumiranju biomase grmova s

visokim sadržajem sekundarnih metabolita ovisit će u prvom redu o interakciji između količine i kakvoće dostupnih hranjivih tvari i vrsta biljnih otrova prisutnih u različitoj kombinaciji biljnih vrsta u pašnjačkoj zajednici (Provenza *i sur.* 2003).

## 2. Učinak AU na konzumiranje grmova s visokom sadržajem terpena

Prema postignutim rezultatima u pokusima 4 do 6, AU i ječam značajno povećavaju konzumiranje biomase dominantnih grmova makije koji posjeduju kemijsku obranu od biljojeda. Dosadašnjim proučavanjima potvrđeno je da AU u kombinaciji s energijom apsorbira sekundarne metabolite iz grmova prilikom probave i tako omogućava njihovu sekreciju putem fecesa (Buck i Bratich, 1986; Banner *i sur.*, 2000). Naime, na pozitivno nabijene površine aktivnog ugljena vežu se negativno nabijene molekularne površine većine otrova, te se tako umanjuju biološki štetni učinci otrova (Poage *i sur.*, 2000). U četvrtom pokusu, kada su ovcama i kozama ponuđena 3 grma i kada su tretirane skupine životinja dodatno prihranjivane s 200 g ječma + 20 g AU, dobiveni rezultati pokazuju da su tretirane skupine ovaca i koza značajno više konzumirale biomase grmova nego ovce i koze koje nisu dodatno prihranjivane AU-om i energijom/ječmom (kontrolna skupina). Postignuti rezultati odgovaraju rezultatima pokusa u kojem su janjci dodatno hranjeni kombinacijom ječma i AU-a više konzumirali *Artemisia tridentata* nego janjci dodatno hranjeni samo s ječmom (Banner *i sur.*, 2000).

Prema našim rezultatima, kada su ovcama i kozama ponuđena 3 grma s visokim sadržajem terpena (pokus 4) postojaо je pozitivan učinak mješavine AU-a i ječma na konzumiranje. Isto tako, kada su pokusnim životinjama ponuđena 2 grma u petom pokusu, odnosno 1 grm u šestom pokusu, AU i ječam/energija bitno su povećali unos biomase tih grmova (sl. 2). U svojim istraživanjima Villalba *i sur.* (2004) su dokazali da janjci, koji su se privikli jesti hranu koja sadrži određenu vrstu toksina, konzumiraju više hrane kad mogu odabirati dvije ili više različitih vrsta hrane, a ne samo jednu.

Nadalje, našim istraživanjima je utvrđeno da su koze i ovce koje su dodatno prihranjivane AU-om i ječmom/energijom u pokusima 4 - 6, odnosno kada im je ponuđeno  $3 > 2 > 1$  grm, konzumirale mnogo

više biomase grmova nego kontrolne skupine životinja, što ukazuje na učinkovitost AU i energije/ječma u smanjenju negativnog učinka terpena iz grmova *Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum* i *Juniperus oxycedrus*. Druge studije provedene u SAD-u s *Artemisia tridentata* također pokazuju da dodatna energija u kombinaciji s AU-om povoljno utječe na konzumiranje dotičnog grma (Banner *i sur.*, 2000; Villalba *i sur.*, 2002b).

### **Utjecaj biološke/biokemijske raznolikosti na konzumiranje grmova**

Opće je poznato da velika većina mediteranskih grmova sadrži sekundarne metabolite, te ovce i koze uzimanjem hrane u prirodi ne mogu izbjegći konzumiranje tih otrovnih kemijskih supstanci koje se pojavljuju u različitim biljkama (Rogošić, *i sur.*, 2007). Unesena količina većine tih sekundarnih metaboličkih tvari je preniska za izazivanje akutnih simptoma trovanja i uginuća životinja, niti bilo kojih drugih vidljivih znakova otrovanja. Međutim, ova je studija potvrdila dosada izneseni zajednički stav da raznovrsna ishrana (konzumiranje više biljnih vrsta) poboljšava unos hrane (Freeland i Choquenot, 1990). Različite vrste i koncentracije hranjivih tvari, kao i fitotoksini u različitim mediteranskim grmovima, kojima su hranjene ovce i koze vjerojatno su utjecale na zasićenje fitotoksinsima, što je rezultiralo ukupnom količinom konzumirane biomase istraživanih grmova. Količina konzumirane biomase grmova nije strogo određena, već ima dinamički karakter koji je predodređen fiziološkim stanjem životinje u odnosu na kakvoču i količinu hranjivih tvari i fitotoksinsa sadržanih u biljnim vrstama (Villalba *i sur.*, 2002a). U suštini, fitotoksini tjeraju biljojede na konzumiranje različitih biljnih vrsta kako bi životinje zadovoljile svoje hranidbene potrebe. Osim toga, različiti biljni otrovi imaju različite putove detoksikacije u životinskem organizmu, tako da ne dolazi do zasićenja određenim biljnim otrovom (Foley *i sur.*, 1999). U onim slučajevima kada su životinje prezasićene pojedinim fitotoksinsom, one su primorane pronalaziti alternativne izvore hrane koja sadržava komplementarne hranjive tvari i fitotoksine (Villalba *i sur.*, 2002b). Hipoteza zasićenosti i proizlazeći utjecaji među hranjivim tvarima, zatim među hranjivim tvarima i fitotoksinsima, te među fitotoksinsima pomažu u

razumijevanju dinamike interakcija i prednosti koje pruža raznovrsna ishrana (Provenza *i sur.*, 2003).

U okviru provedenih istraživanja jasno se uočava da sa smanjenjem broja grmova od prvog do trećeg pokusa, kao i od četvrtog do šestog pokusa, a s time u vezi kako se povećavala koncentracija tanina i terpena u biomasi grmova ponuđenih životinjama, tako se ukupna biomasa konzumiranih grmova smanjivala za ovce i koze. Drugim riječima, postignuti rezultati jasno ukazuju na činjenicu da kombinacija većeg broja ponuđenih grmova potiče ovce i koze na veću konzumaciju biomase grmova. Prikazani rezultati potpuno su u skladu s hipotezom zasićenosti (Provenza *i sur.*, 2003) koja govori o toma da interakcije između okusa, hranjivih tvari i fitotoksina (sekundarnih metabolita) dovode do poboljšanja učinka uzimanja hrane, pa čak i onih grmova niže preferentnosti, kao što su, u okviru naših istraživanja, grmovi *Juniperus phoenicea* i *Pistacia lentiscus*.

Ovisno o prevladavajućim uvjetima u pašnjačko-šumskoj sastojini mediteranske makije koja uključuje između 20 i 25 grmolikih vrsta, ovce i koze hraneći se tim tipom prirodne vegetacije, bit će u mogućnosti izabrati takvu kombinaciju grmova kojom će osigurati dovoljno energije i proteina s jedne strane, a smanjiti opterećenja fitotoksinsima s druge strane. Grmolike vrste ponuđene u okviru provedenih pokusa variraju u količini i koncentraciji makrohranjiva (Rogošić *i sur.*, 2006), ali i u količini i koncentraciji sekundarnih metabolita, kao što su terpeni (*Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum* i *Juniperus oxycedrus*) i tanini (*Arbutus unedo*, *Quercus ilex* i *Pistacia lentiscus*).

Rezultati naših istraživanja jasno pokazuju da interakcije između makrohranjiva, PEG-a (pokus 1 - 3) i AU-a (pokus 4 - 6), okusa i fitotoksina utječu na hranidbeno ponašanje ovaca i koza, to jest utječu na to kako odabirom različitih količina biomase grmova kombiniraju svoju prehranu. Isto tako, dodatno prihranjivane životinje makrohranjivima poboljšava konzumiranje grmova koji sadrže visoke koncentracije terpena i tanina. Različite količine hranjivih tvari u biljnim vrstama mogu imati sasvim različite učinke na izbor hrane/biljne vrste od strane ovaca i koza. To u prvom redu ovisi o klasama i koncentracijama fitotoksina sadržanih u dominantnim biljnim vrstama koje izgrađuju biljne sastojine primorske makije.

## ZAHVALA

Ovo istraživanje je dio projekta WB 06/06 potpomognutog od norveškog Centra za međunarodnu suradnju u visokom obrazovanju (SIU).

## ZAKLJUČAK

Mediteranske pašnjačko-šumske sastojine maki i gariga ili bušika rasprostranjene su diljem mediteranskog bazena, uključujući i jadransko primorje Hrvatske. Ispaša ovaca i koza je ekološki i ekonomski ispravan način iskorištavanja krmnog potencijala tih grmolikih ekosustava. Povećanje konzumiranja grmova s visokim sadržajem sekundarnih metabolita dovesti će do otvaranja i prorjeđivanja grmolike vegetacije što će pospješiti rast i razvoj travolike i zeljaste vegetacije u prizemnom sloju i tako stvoriti biološki/biokemijski raznolikiju sastojinu biljnih vrsta. Ispaša i brst sitnih preživača u ekstenzivnim grmolikim ekosustavima izravno utječe na smanjenje mogućnosti izbjivanja požara koji je čest i nepovoljan ekološki čimbenik u našem jadranskom području.

Većina grmova mediteranske makije sadrži velike količine i koncentracije sekundarnih metabolita koji djeluju ograničavajuće na ishranu ovaca i koza, te ih prisiljavaju na uzimanje druge vrste hrane iako isti grmovi posjeduju značajnu hranidbenu vrijednost. Našim je istraživanjima utvrđeno, kako se broj različitih vrsta grmova u ishrani obiju vrsta životinja (ovaca i koza) smanjivao  $3 > 2 > 1$  (pokus 1 - 3; pokus 4 - 6) tako se smanjivala količina konzumirane biomase grmova. Dodatno prihranjivanje životinja PEG-om i AU-om u smjesi s ječmom pozitivno je utjecalo na povećanje konzumacije biomase grmova u našim pokusima. Oba krmna dodatka imala su približno sličan učinak na konzumiranje grmova od ovaca i koza, te je njihov najveći učinak ostvaren kada je izbor različitih grmova smanjen s 3 na 2 odnosno 1 grm. Naši rezultati sugeriraju da biološka/biokemijska raznolikost igra vrlo važnu ulogu u izboru hrane biljoždera i tako životinjama omogućuje bolje zadovoljavanje prehrambenih potreba s jedne strane i izbjegavanje trovanja sekundarnim metabolitima s druge strane.

## LITERATURA

- Banner, R. E., Rogosic, J., Burrit, E. A., Provenza, F. D. (2000): Supplemental barley and charcoal increase intake of sagebrush by lambs. *J. Range Manage.* 53:415-420.
- Bourbouze, A., Rubino, R. (1992): Grandeur, decadence et renouveau sur les terres utilisees en commun dans de la Mediterranee. U: A. Bourbouze and R. Rubino (ur.), *Terres collectives en Mediterranee*. Pub. Ars Grafica. Villa d'Agri (Italian).
- Buck, W. B., Bratich, P. M. (1986): Activated charcoal: Preventing unnecessary death by poisoning. *Vet. Med. January* 73-77.
- Cluff, L. K., Welch, B. L., Pederson, J., C., Brotherson, J. D. (1982): Concentration of monoterpenoids in rumen ingesta of wild mule deer. *J. Range Manage.* 35:192-194.
- Freeland, W. J., Janzen, D. H. (1974): Strategies in herbivory by mammals: The role of plant secondary compounds. *Am. Nat.* 108:269-288.
- Freeland, W. J., Choquenot, D. (1990): Determinants of herbivore carrying capacity: Plants, nutrients, and *Equus asinus* in northern Australia. *Ecology* 71:589-597.
- Foley W. J., Iason, G. R., McArthur, C. (1999): Role of plant secondary metabolites in the nutritional ecology of mammalian herbivores: How far have we come in 25 years? U: Jung HJG, Fahey Jr GC, urednici, *Nutritional Ecology of Herbivores*, Proc 5th Int Symp on the Nutrition of Herbivores, Amer. Soc. Anim. Sci., Savoy, IL, 130-209.
- Hannigan, N. A., Mc Neil, D. M. (1998): Cattle preference for two genotypes of fresh leucaena following the manipulation of their tannin content with polyethylene glycol. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 22:401.
- Illus, A. W., Jessop, N. S. (1996): Metabolic constraints on voluntary intake in ruminants. *J. Anim. Sci.* 74:3052-3062.
- Jones, W. T., Mangan, J. L. (1977): Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis vicifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J. Sci. Food Agric.* 28:126-136.
- INRA (1989): Ruminant nutrition: recommended allowances and feed tables. Urednik Jarrige R, Paris-London: INRA & J. Linney Eurotext 389.
- Landau, S., Perevolotsky, A., Bonfil, D., Barkai, D., Silanikove, N. (2000): Utilization of low-quality resources by small ruminants in Mediterranean agro-

- pastoral systems: the case of browse and aftermath cereal stubble. *Livest. Prod. Sci.* 64:39-49.
13. Levin, D. A. (1976): The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores, *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 7:121-159.
14. Little, D. B., Croteau, R. B. (1999): Biochemistry of essential oil terpenes. In: Teranishi R, editor, *Flavor Chemistry: 30 Years of Progress*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publ. 239-253.
15. Mueller-Harvey, I. (1999): Tannins: Their Nature and Biological Significance. U knjizi: Secondary Plant Product (ur. J.C. Calygrill and I. Mueller-Harvey). Pp 17-41.
16. Newbold, C. J., McIntosh, F. M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R. J. (2004): Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Tech.* 114:105-112.
17. Ngugi, R. K., Hinds, F. C., Powell, J. (1995): Mountain big sagebrush browse decreases dry matter intake, digestibility, and nutritive quality of sheep diets. *J. Range Manage.* 48:487-492.
18. Pederson, J. C., Welch, B. L. (1982): Effects of monoterpenoid exposure on ability of rumen inocula to digest a set of forages. *J. Range Manage.* 35:500-502.
19. Poage, G. W., Scott, C. B., Bisson, M. G., Hartman, F. S. (2000): Activated charcoal attenuates bitterweed toxicosis in sheep. *J. Range Manage.* 53:73-78.
20. Prichard, D. A., Stocks, D. C., O'Sullivan, B. M., Martins, P. R., Hurwood, I. S., O'Rourke, P. K. (1988): The effect of polyethylene glycol (PEG) on wool growth and live weight of sheep consuming a Mulga (*Acacia aneura*) diet. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* 17:290-293.
21. Pritchard, D. A., Martin, P. R., O'Rourke, P. K. (1992): The role of condensed tannins in the nutritional value of mulga (*Acacia aneura*) for sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 42:1739-1746.
22. Provenza, F. D., Villalba, J. J., Dziba, L. E., Atwood, S. B., Banner, R. E. (2003): Linking herbivore experience, varied diets and plant biochemical diversity. *Small Rum. Res.* 49:257-274.
23. Reed, J. D. (1995): Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Animal Sci.* 73:1516-1528.
24. Rhoades, D. F. (1979): Evolution of plant chemical defense against herbivores. In: Rosenthal GA, Janzen DH, editors, *Herbivores: their interaction with secondary plant metabolites*. New York: Academic Press 4-48.
25. Rogosic, J., Pfister, J. A., Provenza, F. D. (2003): Interaction of tannins and saponins in herbivore diets. VII International Rangel. Congr. Durban, South Africa. pp.103-105.
26. Rogosic, J., Ivankovic, S. (2004): Forage value of the rosemary garrigues plant community, International Symposium: Sustainable utilization of the indigenous plant and animals genetic resources in the Mediterranean region. Mostar, Oct. 14-16, 31.
27. Rogosic, J., Pfister, J. A., Provenza, F. D., Grbesa, D. (2006): Sheep and goats preference for and nutritional value of Mediterranean maquis shrubs. *Small Rum. Res.* 64:169-179.
28. Rogosic, J., Estell, R. E., Skobic, D., Martinovic, A., Maric, S. (2006a): Role of species diversity and secondary compound complementarity on diet selection on Mediterranean shrubs by goats. *J. Chem. Ecol.* 32:1279-1287.
29. Rogosic, J., Pfister, J. A., Provenza, F. D., Grbesa, D. (2006b): Sheep and goats preference for and nutritional value of Mediterranean Maquis shrubs. *Small Rum. Res.* 64:169-179.
30. Rogosic, J., Estell, R. E., Ivankovic, S., Kezic, J., Razov, J. (2007): Potential mechanisms to increase shrub intake and livestock performance in Mediterranean shrubby ecosystems. *Small Rum. Res.* 74:1-15.
31. Rogosic, J., Pfister, J. A., Provenza, F. D. (2007a): The effect of polyethylene glycol and number of species offered on intake of Mediterranean shrubs by sheep and goats. *Amer. J. Animal Sci.* (in press).
32. SAS (2000): Statistical Analysis System, SAS/STAT User's Guide. Ver 8. Vol 2. Cary, NC.
33. Schwartz, C. C., Nagy, J. G., Regelin, W. L. (1980): Juniper oil yield terpenoid concentration and antimicrobial effects on deer. *J. Wild Manage.* 44:107-113.
34. Silanikove, N., Nitsan, Z., Perelovsky, A. (1994): Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*) by sheep. *J. Agric. Food Chem.* 42:2844-2847.
35. Silanikove, N., Gilboa, N., Nir, I., Perelovsky, A., Nistan, Z. (1996): Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannins-containing leaves (*Quercus calliprinos*, *Pistacia lentiscus* and *Ceratonia siliqua*) by goats. *J. Agric. Food Chem.* 44:199-205.
36. Silanikove, N., Gilboa, N., Perevolotsky, A., Nitzan, Z. (1997): Goats fed tannin-containing leaves do not exhibit toxic syndromes. *Small Rumin. Res.* 21:195-201.
37. Titus, C. H., Provenza, F. D., Burrit, E. A., Prevolotsky, A., Silanikove, N. (2000): Supplemental for food varying in macronutrients and tannins by lambs

- supplemented with polyethylene glycol. *J. Anim. Sci.* 78:1443-1449.
38. Titus, C. H., Provenza, F. D., Perelovotsky, A., Silanikove, N., Rogosic, J. (2001): Supplemental polyethylene glycol influences preferences of goats browsing blackbrush. *J. Range Manage.* 54:161-165.
39. Villalba, J. J., Provenza, F. D., Banner, R. E. (2002a): Influence of macronutrients and polyethylene glycol on utilization of toxic-containing food by sheep and goats. II. Responses to quebracho tannin. *J. Anim. Sci.* 80:3154-164.
40. Villalba, J. J., Provenza, F. D., Banner, R. E. (2002b): Influence of macronutrients and activated charcoal on intake of sagebrush by sheep and goats. *J. Anim. Sci.* 80:2099-2109.
41. Villalba, J. J., Provenza, F. D., Han, G. (2004): Experience influences diet mixing by herbivores: implications for plant biochemical diversity. *OIKOS* 107:100–109.
42. Wang, J., Provenza, F. D. (1996): Food deprivation affect preference of sheep for foods varying in nutrients and a toxin. *J. Chem. Ecol.* 23:275-288.

## SUMMARY

In six trials, the effect of energy (barley), polyethylene glycol (PEG; trials 1- 3), activated charcoal (Ach; trials 4 -6) and number of Mediterranean shrubs offered to sheep and goats was examined. Three shrubs with high tannin content were offered in trial 1, 2 shrubs in trial 2 and 1 shrub in trial 3, likewise 3 shrubs with a high terpene content in trial 4, 2 shrubs in trial 5 and 1 shrub in trial 6. In trial 1, sheep receiving both PEG and barley ate more ( $P=0.002$ ) total shrubs (*Quercus ilex*, *Arbutus unedo* and *Pistacia lentiscus*) than did controls, but no such treatment effect was found for goats. In trial 2, supplemental PEG and barley had a positive effect ( $P<0.001$ ) on total shrub intake for both sheep and goats when only 2 shrubs (*Arbutus unedo* and *Pistacia lentiscus*) were offered. In trial 3, supplemental PEG and barley had a marked positive effect ( $P<0.001$ ) on intake of *Pistacia lentiscus* in both sheep and goats. PEG supplemented goats ate more *Pistacia lentiscus* (39.6 g/kg bw) than did PEG supplemented sheep (28.1 g/kg bw), whereas control sheep and goats ate similar amounts (12.2 and 15.3 g/kg bw, respectively). Supplemental barley and Ach had a positive effect on total shrub intake by both sheep and goats in all 3 trials, in trial 4, when we initially offered 3 shrubs (*Juniperus phoenicea*, *Helichrysum italicum* and *Juniperus oxycedrus*;  $P=0.002$ ), then 2 shrubs (*Juniperus phoenicea* and *Helichrysum italicum*;  $P<0.001$ ) in trial 5, and finally 1 shrub (*Juniperus phoenicea*;  $P=0.02$ ) in trial 6, likewise goats ate more shrubs than did sheep in all 3 trials ( $P<0.01$ ). According to results, both, PEG and Ach supplement with barley, positively influenced shrub intake when offered 3 > 2 > 1 shrubs to animals and also combinations of more shrubs offered to animals promoted greater intake. Our findings suggest that biological/biochemical diversity plays a very important role in herbivore's diet selection, enabling animals to better meet their nutritional needs and avoid toxicity.

Key words: feed additives, polyethylene glycol, activated charcoal, mediterranean shrubs, maquis, secondary metabolites.

