

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

Пољопривредни факултет

Мирјана П. Петровић

**МОРФО-АНАТОМСКА И ХЕМИЈСКА
СВОЈСТВА ПРИРОДНИХ
ПОПУЛАЦИЈА ВРСТА РОДА
TRIFOLIUM L.**

Докторска дисертација

Београд, 2015

UNIVERSITY OF BELGRADE

Faculty of Agriculture

Mirjana P. Petrović

**MORPHO-ANATOMICAL AND
CHEMICAL TRAITS OF NATURAL
POPULATIONS OF SPECIES OF GENUS
TRIFOLIUM L.**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2015

Пољопривредни факултет - Београд

Ментор:

др Зора Дајић-Стевановић, редовни професор,
Пољопривредни факултет Универзитет у Београду

Чланови комисије:

др Зоран Лугић, научни саветник,
Институт за крмно биље, Крушевац

др Јасмина Радовић, виши научни сарадник,
Институт за крмно биље, Крушевац

др Сања Васиљевић, виши научни сарадник,
Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад

др Саво Вучковић, редовни професор,
Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду

Датум одбране: _____

Захвалница

Желим да се захвалим ментору проф. др Зори Дајић-Стевановић најпре на коректном и пријатељском односу а затим и на свесрдној помоћи од почетка до краја израде дисертације.

Захваљујем се члановима комисије на корисним сугестијама везаним за спроводјење експерименталног дела доктората, прикупљање литературе и израду целокупне тезе.

Спроводјење експеримента не би било могуће без помоћи колега са Института за крмно биље у Глободеру, на чему сам им веома захвална.

Делови истраживања спроведени су у другим институцијама тако да се веома захваљујем на помоћи у раду: колеги Раденку Радошевићу, са Пољопривредног факултета у Земуну за анализе анатомије листа, др Милану Станковићу са Биолошког факултета у Крагујевцу за спектрофотометријске анализе, као и колегиницама др Јелени Цвејић и др Мири Бурсаћ са Фармацеутског факултета у Новом Саду за одредјивање садржаје изофлавона. Сви ови резултати су обогатили докторат и значајно побољшали његов квалитет.

*Захваљујем се колеги Томашу Вимислицком на помоћи у изради дескриптора врсте *Trifolium montanum* L.*

На крају се захваљујем породици, на првом месту свом мужу Милошу Петровићу на пруженој подршци, стрпљењу и конкретној помоћи у виду статистичке анализе и обраде текста саме дисертације.

Аутор

Ова докторска дисертација је реализована у оквиру пројекта: ТР 31057 „Побољшање генетичког потенцијала и технологија производње крмног биља у функцији одрживог развоја сточарства” који је финансиран од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Морфо-анатомска и хемијска својства природних популација врста рода *Trifolium* L.

Резиме:

Испитиване су морфолошке, анатомске и хемијске особине пет врста рода *Trifolium*: *T. pratense* L., *T. repens* L., *T. hybridum* L., *T. pannonicum* Jack. и *T. montanum* L. Свака врста је била заступљена са већим бројем самониклих популација (минимално 5), различитог географског порекла унутар простора Републике Србије.

Праћено је десет морфолошких параметара на појединачним биљкама које су узгајане у пољским условима. Састав суве материје утврђен је из просечног узорка *Weende* системом анализе. Анатомске карактеристике листа одређиване су анализом трајних препарата попречних пресека средње лиске тролиска (5 понављања по популацији). Садржај секундарних метаболита утврђен је применом спектрофотометријске методе (укупни феноли, флавоноиди и антиоксидативна активност), као и HPLC методом (изофлавонони: даидзеин, генистеин, биоханин А и формонетин). Сви подаци обрађени су у програму Статистика 10 (StatSoft).

Утврђено је постојање варијабилности проучаваног материјала. Разлике су се јавиле по свим групама особина, између врста, али и унутар врста (разлике између популација).

Упоредном анализом је показано да је највиши просечан принос зелене масе по биљци (820 g) као и највећи број изданака (73.3) у двогодишњем истраживању дала је шведска детелина (*T. hybridum*); док су најмање вредности испољене код *T. montanum* (зелена маса – 55.07 g и 12.2 изданка). Ово су и најваријабилније особине, јер коефицијент варијације показује нашири опсег вредности. Шведска детелина (*T. hybridum*) се такође одликује највећим бројем интернодија (6.76 просек за две године) и највећим бројем бочних грана (6.55 просек за две године).

Принос зелене масе опада из године у годину код црвене (*T. pratense*) и шведске детелине (*T. hybridum*), док код осталих врста расте или нема статистички значајних промена, што је случај са *T. montanum*. Највеће разлике у приносу забележене су код *T. pannonicum* (просечна промена у 2011.-ој је

292%). По квалитету суве материје издваја се бела детелина (*T. repens*), јер је садржај протеина био највиши а садржај целулозе најнижи. По приносу суве материје издваја се *T. rannonicum* – 251.8 g.

T. rannonicum је имао најдужи лист и током 2010. као и током 2011. године.

Најдебљи лист измерен је код врсте *T. rannonicum* (241.0 μm), а највећа дебљина листа у нивоу централног нерва измерена код *T. montanum* (536.1 μm). Популације *Trifolium rannonicum* су се у просеку одликовале највишим садржајем флавоноида и антиоксидативном активношћу.

Укупан највиши садржај изофлавона у надземном делу биљке имале су популације црвене детелине: 0.9473 mg/g (цвет), 4.1837 mg/g (лист), 1.2132 mg/g (стабљика). Код исте врсте лист као биљни орган је предњачио у количини изофлавона. Код свих врста биоханин А је био најприсутнији изофлавон.

Кључне речи: детелине, зелена маса, висина, лист, протеини, феноли, антиоксидативна активност, фитоестрогени

Научна област: Биотехничке науке

Ужа научна област: Ратарство и повртарство

УДК: 633.32(043.3)

Morpho-anatomical and chemical traits of natural populations of selected species of genus *Trifolium* L.

Summary:

Morphological, anatomical and chemical traits of five species of the genus *Trifolium* were studied. Researched species included: *T. pratense* L., *T. repens* L., *T. hybridum* L., *T. pannonicum* Jack., and *T. montanum* L. In the experimental study, each species was represented by a high number of wild population (at least 5) of a different geographical origin within the area of the Republic of Serbia.

Ten morphological parameters were studied on individual plants grown in the field conditions. The composition of dry matter was determined from the average sample by Weende analysis system. Leaf anatomical traits were studied by analyzes of the cross section of middle leaflet of trifoliate leaves (5 repetitions per population). The content of secondary metabolites was determined by spectrophotometry (total phenols, flavonoids and antioxidant activity) and HPLC (isoflavones: daidzein, genistein, biohanin A and formononetin). All data were processed in the computer program Statistika 10 (StatSoft).

It was determined that there is expressed variability in the studied material. There were differences in all groups of traits, both inter- and intra-species (differences between populations).

The comparative analysis showed that the highest average yield of green mass per plant (820 g) as well as the largest number of tillers (73.3), in the two-year study, was obtained in the Swedish clover (*T. hybridum*), while *T. montanum* exhibited the lowest values (weight was 55.07 g and the number of tillers was 12.2). These were the most variable traits upon the coefficients of variation. Alsike clover (*T. hybridum*) was characterized by the highest number of internodes (6.76 average for two years) and the highest number of side branches (6.55 average for two years).

Yield of green mass decreased from year to year in the red clover (*T. pratense*) and alsike clover (*T. hybridum*), while in the other studied species it increased or had no statistically significant change such in the case of *T. montanum*. The biggest differences in the yield were found in *T. pannonicum* (average change in 2011. was 292%). Considering the quality of dry matter, white clover (*T. repens*) was

notable. It had the highest protein content and the lowest cellulose content. *T. pannonicum* was most distinguished considering the yield of dry matter - 251.8 g.

T. pannonicum had the longest leaflet in 2010. and in 2011.

Thickest leaflet was measured in the species *T. pannonicum* (241.0 µm), whereas the highest value for leaf thickness in the central nerve level was measured in *T. montanum* (536.1 µm). Populations of *Trifolium pannonicum*, on average, exhibited the highest content of flavonoids and the highest antioxidant activity.

The highest total isoflavone content in above-ground part of the plants was found in the populations of red clover: 0.9473 mg/g (flower), 4.1837 mg/g (leaf), 1.2132 mg/g (stem). In the same species the leaf exhibited the highest vaule of isoflavones. In all studied species, biohanin A was the most prevalent plant isoflavone.

Keywords: clover, green matter, plant hight, leaf, crude proteins, phenolics, antioxidant activity, fitoestrogens.

Scientific field: Biotechnology sciences

Scientific discipline: Field and vegetable crops

UDC: 633.32(043.3)

Садржај

1. УВОД.....	1
1.1. Генетички ресурси крмних биљака, стање и перспе ктива	1
1.2. Опште карактеристике фамилије <i>Fabaceae</i>	4
1.3. Опште карактеристике рода <i>Trifolium</i> L.....	7
1.3.1. Карактеристике врсте <i>Trifolium pratense</i> L.....	12
1.3.2. Карактеристике врсте <i>Trifolium repens</i> L.	14
1.3.3. Карактеристике врсте <i>Trifolium hybridum</i> L.....	18
1.3.4. Карактеристике врсте <i>Trifolium pannonicum</i> Jacq.	20
1.3.5. Карактеристике врсте <i>Trifolium montanum</i> L.....	22
1.4. Секундарни метаболити и биолошки активне материје код врста рода <i>Trifolium</i>	24
2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	29
3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	30
3.1. Биљни материјал.....	30
3.2. Опис огледа.....	34
3.3. Параметри који се прате у експерименталном раду.....	36
3.3.1. Анализа морфолошких карактеристика	36
3.3.2. Анализа анатомских карактеристика листа.....	37
3.3.3. Анализа квалитета суве масе	37
3.3.4. Анализа фенола, флавоноида и антиоксидативне активности.....	38
3.3.5. Анализа изофлавона (фитоестрогена).....	41
3.4. Супстанце и реагенси коришћени у раду	43
3.5. Статистичка обрада резултата истраживања.....	44
4. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА.....	46
4.1. Резултати анализе врсте <i>Trifolium pratense</i>	46
4.1.1. Морфолошке особине.....	46
4.1.2. Хемијски састав суве материје	62
4.1.3. Анатомија листа.....	64
4.1.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност	67
4.1.4.1. Изофлавони (фитоестрогени).....	69
4.2. Резултати анализе врсте <i>Trifolium repens</i>	72
4.2.1. Морфолошке особине.....	72

4.2.2. Хемијски састав суве материје	83
4.2.3. Анатомија листа.....	85
4.2.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност.....	89
4.2.4.1. Изофлавонони (фитоестрогени).....	90
4.3. Резултати анализе врсте <i>Trifolium hybridum</i>	92
4.3.1. Морфолошке карактеристике	92
4.3.2. Хемијски састав суве материје	106
4.3.3. Анатомија листа.....	108
4.3.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност.....	111
4.3.4.1. Изофлавонони (фитоестрогени).....	113
4.4. Резултати анализе врсте <i>Trifolium pratense</i>	115
4.4.1. Морфолошке карактеристике	115
4.4.2. Хемијски састав суве материје	129
4.4.3. Анатомија листа.....	130
4.4.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност.....	134
4.4.4.1. Изофлавонони (фитоестрогени).....	136
4.5. Резултати анализе врсте <i>Trifolium montanum</i>	139
4.5.1. Морфолошке особине.....	140
4.5.2. Хемијски састав суве материје.....	154
4.5.3. Анатомија листа врсте <i>Trifolium montanum</i>	156
4.5.4. Секундарни метаболити.....	158
4.5.4.1. Изофлавонони (фитоестрогени).....	160
5. ДИСКУСИЈА.....	162
5.1. Морфолошки параметри.....	162
5.2. Параметри анатомских карактеристика листа.....	177
5.3. Хемијски параметри	178
6. УПОРЕДНА АНАЛИЗА СА ДИСКУСИЈОМ	188
6.1. Упоредна анализа морфолошких особина	188
6.2. Упоредна анализа хемијских особина.....	198
6.3. Упоредна анализа анатомских особина листа	202
6.4. Упоредна анализа секундарних метаболита	204
6.5. Упоредна анализа садржаја изофлавонона.....	206
7. ЗАКЉУЧЦИ.....	213

8. ЛИТЕРАТУРА	216
9. ПРИЛОЗИ.....	244
10. БИОГРАФИЈА	252

1. Увод

1.1. Генетички ресурси крмних биљака, стање и перспектива

По дефиницији коју је објавила Организација за пољопривреду и храну Уједињених нација (ФАО) 1997. године биљни генетички ресурси за храну и пољопривреду састоје се из генетичког материјала који обухвата традиционалне варијетете и сорте формиране у скоријем периоду, које узгајају пољопривредни произвођачи; као и дивље сроднике усева и друге самоникле биљне врсте које могу да се користе у људској исхрани, исхрани домаћих животиња, за прављење одеће, за огрев, дрвну грађу, добијање енергије, лековите сировине, итд.

Чувена реченица Harlan-а (1970), једне од првих особа која је почела да указује на ерозију генетичког диверзитета биљних врста гласи: „Богатство варијабилности биљака које хране и облаче свет измиче пред нашим очима, и људска врста једноставно не може себи да дозволи да их изгуби”.

Ова реченица је настала у периоду када је Зелена револуција у Сједињеним Америчким Државама и појединим државама Западне Европе била скоро потпуно завршена. Укрупњавање поседа са применом монокултура и малог броја високо продуктивних сорти, чиме су замењене мале фарме на којима се узгајао велики број локалних сорти и варијетета, увођење тешке механизације, наводњавање као и интензивна примена минералних ђубрива утицали су да се животна средина наруши и створени су потпуно другачији агроеколошки услови, што је све скупа утицало на смањење генетичког диверзитета гајених култура. Како би се задовољиле потребе произвођача, повећаване су површине под појединим високо заступљеним културама. На рачун тога смањивани су им природни ареали распрострањења, што је водило и њиховом потпуном нестанку.

Подручја на којима је индустријска производња и укрупњавање поседа мање заступљено, као на пример Балкан, чине значајан извор дивљих популација и локалних сорти врста које се користе у пољопривреди.

Балканско полуострво, на коме је већим делом смештена територија Републике Србије, представља у фитогеографском погледу природни продужетак Медитеранског региона. Медитеран је проглашен једном од 34 „врхуће тачке” настанка и развоја целокупног живог света на планети. Један од битних критеријума је да су то региони у којима се јављају дивљи сродници гајених биљака и доместификованих животиња, па су самим тим то генетички резервати. Сматра се да медитеранска флора обухвата око 24 000 биљних врста (Greuter, 1991), док се према најновијим истраживањима Балканска флора процењује на преко 8000 таксономских категорија у рангу врста и подврста, од којих је 2600 до 2700 ендемичних биљних таксона (Stevanović et al., 2007). И само подручје Србије је јако богато биљним врстама па се процењује да тај број износи око 4000 врста (2%) укупне флоре, распоређене у 5 биорегиона од укупно 6 у Европи). Изузев богатства у врстама, Србија се одликује и разноликошћу станишта, на којима се развио и већи број нижих таксономских категорија које представљају богат извор разноликих, корисних генских алела.

Генетички ресурси су неопходни да би селекција уопште отпочела као и када дође до исцрпљивања материјала (варијабилност се јако смањи) њиховим уносом добија се прилика за почетак новог циклуса.

У времену брзих промена у животној средини, са углавном негативним последицама, неопходно је очување разноврсности и богатства генетичких ресурса.

Разликују се четири категорије генетичких ресурса крмних врста: дивљи сродници, екотипови, локалне гајене популације и сорте (Boller и Vetelainen, 2009). Како наводе ови аутори, екотипови и локалне гајене популације су категорије које се одржавају у природном окружењу али развијају се, мењају и обликују под умереним утицајем човека. Њихов значај је показан приликом рада на различитим врстама (Skovmand et al., 2001; Tosti и Negri, 2002).

Чување генетичких ресурса се остварује на два начина: *in situ* и *ex situ* (Boller и Green, 2010). *In situ* очување аутохтоних и култивисаних врста врши се

у њиховом природном окружењу или местима где су развили специфичне особине. Подразумева заштиту конкретног подручја на коме је врста/популација/сорта нађена. Станиште мора бити очувано у целини, не сме доћи до његове фрагментације како би проток гена био задржан. Ово је истовремено најзначајнији извор гена за оплемењиваче јер се тим путем развијају одређена својства, несметано, на отвореном простору са минималним деловањем човека. Сакупљање и чување *in situ* материјала већине крмних врста умереног подручја врши се на (полу)природним травњацима. Један облик *in situ* очување јесте и чување старих сорти и локалних гајених популација на пољопривредним газдинствима - *on farm*. Овако узгајани генотипови су углавном доброг приноса, отпорни на болести и високо прилагођени локалним временским условима. *Ex situ* очување подразумева чување генетичких ресурса изван њихових природних станишта. Обавља се превасходно у банкама гена, али и појединачним научним установама. Семе или вегетативни материјал се узима из природе, након чега се чува, умножава, а уколико је у питању таксон који је на ивици изумирања и нестанка из природе покушава се и његова реинтродукција на одговарајућа станишта.

Последњих деценија врши се сакупљање, умножавање, вредновање (евалуација) и опис (карактеризација) генетског материјала. У свету је спроведено низ сакупљачких похода: Chorlton et al. (2000) извештавају о експедицији спроведеној у Португалу током које је сакупљено 166 узорака крмних врста; током сакупљачке мисије у Бугарској 90-их од укупно 246 узорака, сакупљен је велики број узорака (50) различитих врста из рода *Trifolium* (Pederson et al., 1999). Snowball et al. (2012) извештавају о колекционисању семена трава и легуминоза у Еритреји.

За потребе оплемењивачког рада у Србији такође је вршено сакупљање семенског материјала. Локалне популације су биле основни почетни материјал за стварање првих сорти луцерке, црвене детелине и звездана (Lugić et al., 2010). Међутим прва већа акција колекционисања семена крмних врста извршена је 1987. године и то је резултирало формирањем колекције у банци гена и другим институцијама (Tomić et al., 2005).

Место обитавања крмних врста јесу травњаци. Веће површине под травњацима налазе се углавном у шумској зони, и одржавају се под утицајем човека. Око 40% копна, (53 милиона километара квадратних) је под травним покривачем, у чијој биомаси је везана трећина копнених резерви угљеника (Scholefield et al., 2007). Као елементи травњака незамењиви су део животињских оброка. Захваљујући оваквој исхрани добија се тридесет процената млека и говеђег меса (Conant et al., 2001).

Крмне врсте налазе примену и у другим областима привреде (биоремедијација, смањење последица поплава) (Вучковић, 2004). Основ данас веома заговаране органске пољопривреде јесу вишекомпонентни травњаци, са бар једном легуминозном врстом у саставу (Spors et al., 2010). Поред тога врсте родова *Trifolium*, *Medicago*, *Astragalus* и др. налазе широку примену у фитофармацији.

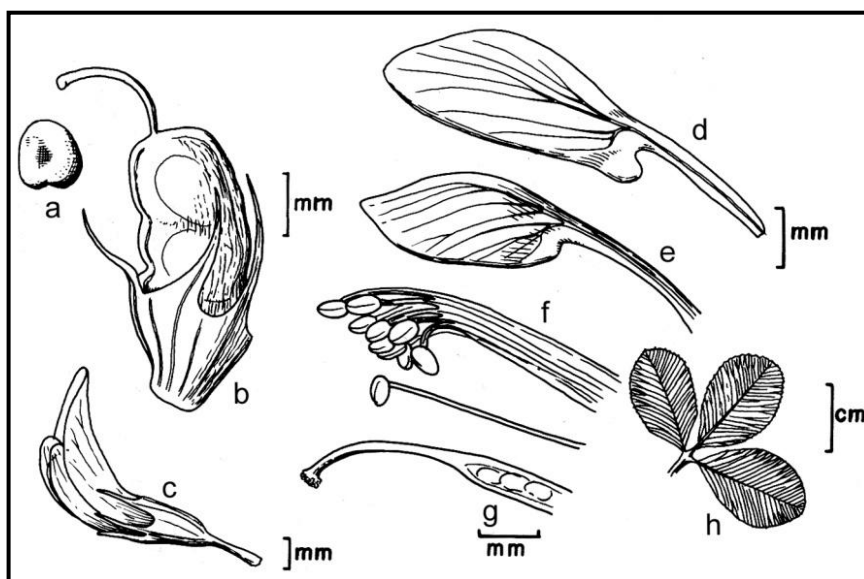
Иако се највећи напори у проучавању генетичких ресурса предузимају како би се исти укључили у неки селекциони програм са циљем повећања количине хране, у последње две деценије се све већи број врста испитује и са аспекта присуства биолошки активних материја. Биолошки активне материје су секундарни метаболити, који имају широк опсег деловања и најчешће се јављају као резултат адаптације биљке на услове животне средине, а могу имати значајне ефекте на здравље људи и животиња.

1.2. Опште карактеристике фамилије *Fabaceae*

Фамилија *Fabaceae* је трећа по величини фамилија међу цветницама. Припадници ове фамилије се сврставају у три потфамилије: *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae* и *Papilionatae*. Обухвата 727 родова и 19 327 врста, које се јављају у виду различитих животних форми (једногодишње и вишегодишње зељасте биљке, жбунови, дрвеће, лијане, а постоји и неколико акватичних врста) распрострањених широм света, нарочито у тропским кишним шумама (Lewis et al., 2005).

Листови су сложени, ређе прости и цели, са залисцима. На стаблу листови су најчешће наизменично распоређени, врло ретко наспрамни или

пршљенасти; са лисном дршком или су седећи. Листићи целог обода, неназубљени или ређе назубљени, каткад са два мала залиска. Залиски често развијени, остају трајно при основи лисне дршке или временом опадају, често преображени у трнове, или одсуствују, када њихово место заузима доњи пар листића. Цветови најчешће сложени у гроздасте, метличасте, главичасте и класасте цвасти, често скоро штитасте, постављене у пазуху лисова или вршно; ређе су цвасти сиромашне цветовима. Цветови су типични и готово стандардни за целу фамилију, изразито зигоморфне симетрије, најчешће двополни (Слика 1.). Ређе су полисиметрични, актиноморфни, каткад једнополни, а биљке једнодоме или дводоме. Чашица је састављена од пет листића, много ређе 4, већином мање-више сраслих, по облику цеваста или звонаста, мање-више зигоморфна. Круница се углавном састоји од пет листића, који некада закржљају или остаје само један. Ови листићи су најчешће слободни, или су неки од њих срасли (што је случај са врстама из потфамилије *Papilionatae*). Цветови припадника ове потфамилије подсећају донекле на лептира, отуда стари назив у народу – лептирњаче.



Слика 1. Грађа цвета, семе, махуна и лист врсте *T. hybridum* L. Делови: а)семе, б)махуна, с)цвет, д)крило, е)чунџ, ф)девет груписаних и један издвојени прашник, г)тучак, х)лист (Taylor, 1985)

Крунични листићи су постављени два у основи, срасли врхом а раздвојени у дну (формирају структуру која се назива чунџ), два су постављена бочно - крилца, и један, највећи са горње стране - заставица. Прашника је најчешће 10, ређе 5 или 4, или више од 10; прашнички конци

слободни или чешће сви срасли филаментима у издужену цев, или је 9 срасло а један остаје слободан. Плодника један, надцветан, изграђен од једног оплодног листића, ретко их има више. Стубић је скоро увек вршни, са главичастим или одсеченим жигом. Плод је махуна (*legumen*) – отуда назив легуминозе. Махуна се отвара уз помоћ леђног и трбушног шава, или само дуж трбушног.

Легуминозе укључују велики број врста које се користе у људској и животињској исхрани у виду следећих производа: уља, влакна, гориво, ђубриво, дрвна грађа, у медицинске сврхе као и за уређење простора (хортикултура) (Lewis et al., 2005). По свом економском значају једино чланови фамилије *Roaceae* имају већи значај од легуминоза.

Већ хиљадама година легуминозе имају велики значај у пољопривреди. Доместификација врсте *Lens esculenta* (сочиво) је започела у Ирану пре више од 8000 година, пасуљ (*Phaseolus vulgaris*) се на територији америчког континента користи већ више од 3000 година, а у Римском царству легуминозе су коришћене као извор хране и како би побољшале квалитет земљишта (Graham and Vance, 2003). Од XV-ог века услед интензивнијег кретања становништва поједине врсте легуминоза попримају скоро „космополитско” распрострањење. По подацима из 2004. године узгајају се на 13% обрадивих површина (Gepts et al., 2005).

Лептирњаче ступају у симбиотске односе са микроорганизмима који врше фиксацију елементарног азота из ваздуха, обогаћујући на тај начин земљиште азотом чиме се поспешује производња усева (Wachendorf et al., 2004). Ова особина легуминоза је нарочито значајна у органској пољопривреди где су врсте фамилије *Fabaceae* заступљене са 20-50% (Biewer et al., 2009).

У скорије време легуминозама се посвећује пажња у контексту њиховог потенцијала у успоравању климатских промена. Наиме, оне смањују емисију најбитнијих гасова стаклене баште (CO_2 и N_2O), умањују коришћење фосилних енергената у производњи хране и утичу на задржавање угљеника у земљишту (Jensen et al., 2012).

Неки од најраспрострањенијих родова, чије врсте се користе као пољопривредне културе су *Medicago*, *Trifolium*, *Vicia*, *Onobrichys*, *Pisum*, *Phaseolus*, *Astragalus*, *Glycine* итд.

Предмет овог истраживања су врсте рода *Trifolium* L. са аспекта карактеризације природних популација у погледу морфо-анатомских, хемијских и фитохемијских својстава. Највећи број врста које су обухваћене у овом истраживању су припадници самоникле флоре. До сада им је посвећена мала пажња, како са аспекта исхране животиња, тако и из угла експлоатације биолошки активних материја.

1.3. Опште карактеристике рода *Trifolium* L.

Таксономске карактеристике рода *Trifolium* L.

Латински назив рода потиче од речи *tres* – три и *folium* – лист. Сви припадници рода *Trifolium* су једногодишње или вишегодишње усправне или полегле зељасте биљке, доста често у доњем делу мање – више одрвенеле; које ретко прелазе више од 50 cm висине. Надземна стабла скоро увек једногодишња, усправна, устајућа или полегла. Листови ових врста су трочлани, ретко пето или деветочлани, слабо назубљени до целог обода, најчешће алтернирајући. Цветови су типично грађени за фамилију, ситни и сакупљени у главичасту, гроздасту или штитасту цваст. Цвасти су бочно или терминално постављене, округлог до издуженог облика, са дршком или седеће, а број појединачних цветова у њима се креће од 3, 4 па до преко 100. Чашица цваста или звонаста. Крунични листићи жути, бели или светло црвени до тамно црвени. Плод садржи углавном 1-2 семенке, али може их бити до 9. Семе срцасто, лоптасто или сочивасто. Залисци су у доњем делу спојени са лисном дршком, док су у горњем слободни; ободом цели или назубљени. Лисне дршке имају тенденцију да се скраћују од основе ка врху, премда могу да буду екстремно кратке или чак одсутне. Поједине врсте су голе док су друге пак густо длакаве. Подземни део може бити веома разнолик: у виду осовинског или жиличастог корена, често дрвенаст, праћен развојем ризома (Диклић, 1972; Zohary и Heller, 1984). Врсте рода *Trifolium* су подељене у осам секција на основу морфолошких особина: *Lotoidea*, *Paramesus*, *Mystillus*, *Vesicaria*, *Chronosemium*, *Trifolium*, *Trichocephalum* и *Involucrarium* (Zohary и Heller, 1984). Секција *Lotoidea* се сматра предачком, како на основу великог ареала, тако и због великог броја

врста које улазе у њен састав (преко 90) (Zohary и Heller, 1984). Поред тога, присуство примитивних особина као што су просте рацемозне цвасти, цветови са брактејама и дугачким дршкама, као и вишесемена махуна иду у прилог оваквог мишљења (Watson et al., 2000). Шест секција се јавља на простору Евроазије, са појединим врстама које су распрострањене и у Африци, док је само једна секција – *Involucrarium* ограничена на простор Северне и Јужне Америке (Watson et al., 2000). Новијим истраживањима Ellison et al. (2006) и Watson et al. (2000) предлаже се смањење броја секција и измештање врста мањих секција у веће секције.

Како наводе Ellison et al. (2006), осамдесет процената врста овог рода су диплоидне $2n=16$, са основним бројем хромозома $x=8$ (Goldblatt, 1981). Двадесет четири врсте су полиплоидне, од којих су шест искључиво тетраплоидне (4x), две су хексаплоидне (6x) и једна је додекаплоидна (12x).

Анатомске особине

Листови детелина су фотосинтетички активни органи, који се зачињу на периферији вегетационе купе од лисних примордија. Одликују се ограниченим растом и бифацијалном грађом. Припадници овог рода имају најједноставнији тип сложеног листа. Листови рода *Trifolium* су потпуни листови, који се састоје из лисне дршке и лисне плоче. Лисна плоча се састоји из три мање лиске које лисна дршка поставља у најповољнији положај у односу на Сунце. Укупна површина листова на једној биљци је веома велика. Засад црвене детелине од 1 ha, развија лишће које би прекрило 25 ha површине (Tatić и Petković, 1988).

Први подаци о грађи листа врста рода *Trifolium* се могу наћи у монографији Metcalfe и Chalk (1957). Листови су дорзивентралне грађе, између горњег (адаксијални) и доњег (абаксијални) епидермиса налази се мезофил; тип стома је амфистоматичан, а листови могу бити голи или са присутним жлезданим или нежлезданим длакама. Паренхим је диференциран. Проводни снопићи су у једном низу. У ћелијама мезофила уз проводне снопиће уочавају се и појединачни кристали. Епидермис је најчешће у виду једноћелијског слоја, без хлоропласта и без међућелијских шупљина (Bolhàr-Nordenkampf и Draxler, 1993).

Листови су најквалитетнији и најсварљивији делови биљке. Тако висок степен сварљивости условљен је присуством коленхима, односно одсуством других механичких ткива. Ћелије коленхима не садрже лигнин (Вухтон и Redfearn, 1996), врше фотосинтезу и постављене су непосредно испод епидермиса. Друге структуре које су нешто ниже сварљивости у листу су кутикула спољног зида епидермиса, ликина влакна и задебљале ћелије ксилема у проводном снопићу.

Географско порекло рода *Trifolium* и његово распрострањење

Род *Trifolium* садржи око 250 врста широко распрострањених у свету. Постоје три примарна центра диверзитета детелина: Евроазијски са 150-160 врста, Амерички са 60-65 врста и Афрички са 25-30 врста, али како је највећи диверзитет присутан у Медитеранском подручју Евроазијске области, сматра се да је то прави центар порекла овог рода (Taylor, 1985). Потврда оваквог мишљења добијена је у раду Watson et al. (2000) коришћењем молекуларних маркера. Многе врсте рода *Trifolium*, нарочито оне чији је центар диверзитета Медитеран, су инвазивне врсте на другим деловима планете, особито у јужној хемисфери (Gravuer, 2004).

Укупан број таксономских категорија у оквиру рода *Trifolium* у флори Србије износи 75 (50 врста, 6 подврста, 14 варијетета и 5 форми) (Mrfat-Vukelić, 2003).

Типови станишта

Врсте рода *Trifolium* насељавају већи број различитих станишта: ливаде и пашњаке, површине са жбунастом вегетацијом, шумске прогале и шуме, обрадиве површине, слатине, рудералне просторе, као и морске обале. Заједничка особина ових станишта је висок ниво сунчевог зрачења; мали број врста детелина толерише сенку. Што се тиче висинског градијента, како наводе Fotiadis et al. (2010), највећи број врста се јавља испод 1000 m надморске висине, док са порастом висине број врста опада, а само неколико их је нађено на преко 2500 m надморске висине (међу којима су и црвена и бела детелина).

Значај рода у пољопривреди

Род *Trifolium* је један од најзначајнијих родова фамилије *Fabaceae*, како услед своје пољопривредне вредности тако и због своје бројности (Zohary и Heller, 1984).

Како наводи Taylor (1985), допринос детелина квалитету земљишта препознали су и описали још 1918. године Boss и Arny који наводе да коренов систем: а) чини земљиште погоднијим за развој корена других врста, б) ствара повољне услове за развој земљишних микроорганизама, ц) повећава капаците воде у земљишту, д) утиче на повећавање дебљине ораничног слоја као и на добру дренажу земљишта. Поред израженог механичког деловања врсте овог рода имају велики значај у фиксацији атмосферског азота; доказано је присуство нодула код преко 125 врста (Sprent, 2001). Процесом азотофиксације ове врсте обогаћују земљиште азотом (Rasmussen et al., 2012), што за последицу има смањену употребу минералних ђубрива и деградацију екосистема.

Детелине утичу на квалитет пашњака, посредно силаже и сена, поспешују сварљивост хранива (Knight, 1977) побољшавајући тако здравље животиња, квалитет млека, количину меса. Lazarević et al. (2010) наводе да је продуктивност и квалитет произведене сточне хране у позитивној корелацији са учешћем легуминоза у смеши, тј. посебно са врстама рода *Trifolium*.

Данас се барем 16 врста активно узгаја у свету (Gillett и Taylor, 2001); поред њих велики је број дивљих врста које стока користи на пашњацима (Crampton, 1985). Иако су детелине значајне крмне врсте, оне су и медоносне биљке (McGregor, 1976). Ово њихово својство је искоришћено како би се повећао број инсеката опрашивача поред већих површина под пасуљем, црвеном детелином итд. (Nicholls и Altieri, 2013). Исти аутори наводе да узгајање детелина као међуусева спречава масовнију појаву корова.

У севернијим крајевима планете, три најзначајније врсте су: црвена, бела и шведска детелина (Molle et al., 2008). Поред њих препоручује се коришћење и појединих врста из самоникле флоре као што су: *T. resupinatum* и *T. alexandrinum*. Користе се да би се пашњаци обогатили легуминозама (Fraser et al., 2004), док *T. ambiguum* може да се користи за заштиту еродираних површина (Vilčinskis, 2010).

Квалитет и примена крме рода *Trifolium*

Поред рода *Medicago*, род *Trifolium* је најзначајнији у оквиру фамилије легуминоза за производњу сточне хране (Ђорђевић и Динић, 2007). Крма добијена од биљака овог рода сврстава се у волуминозну сточну храну, са високим процентом воде и сирове целулозе. Добијена хранива се користе у исхрани преживара и не преживара. Основна анализа хемијског састава животињских хранива подразумева одређивање садржаја примарних метаболита од којих зависи раст и развој биљке. У ту групу се сврставају шећери, масти и протеини. Угљени хидрати код биљака имају улогу и структурне и резервне материје. Резервне материје се нагомилавају у семенима у облику скроба, док су у стабљикама и лишћу структурне материје - целулоза. Иако се луцерка сматра квалитетнијом крмном храном, црвена детелина има нижи садржај целулозе у истој фенолошкој фази, па тиме и већу енергетску вредност (Ђорђевић и Динић, 2007). У укупној количини сирових протеина, прави протеини се налазе од 45-85%, док су остало амиди, које преживари такође могу да искористе. Младе биљке се за разлику од зрелијих одликују повољнијим аминокиселинским саставом. И сам распоред протеина у биљци није уједначен. Више протеина има у листовима него у стабљици, па је из тог разлога пожељно да се приликом конзервасања сачува што већи удео листа у животињском оброку. Зрневље махунарки се убраја у хранива биљног порекла веома богата протеинима. Удео сирових масти у биљкама је мали и износи од 4-5%. У ову групу се сврставају и једињења која нису масти као нпр. етарска уља, воскови, биљни пигменти, витамини растворљиви у мастима (Ђорђевић и сар., 2003). Састав пепела зависи од количине и врсте микро и макроелемената у подлози. Код легуминоза се нагомилава доста калцијума у лишћу, што је јако значајно за сточну храну. Легуминозе па тиме и детелине су веома значајне због високог садржаја β каротина, као и естрогених материја које могу да утичу на повећање млечности крава (Ђорђевић и сар., 2009).

Главни начини искоришћавања детелина су испаша и кошење. Најповољнији период за кошење детелина је фаза пупољења и почтека цветања. Садржај целулозе је тада најнижи, јер је и удео листа највиши. Касније расте и садржај лигнина у ћелијама који је потпуно несварљива компонента.

Поред овога врши се и припрема силаже, која се махом добија силирањем црвене детелине и италијанског љуља. Тако се добија уравнотежен животињски оброк по садржају протеина и угљених хидрата. Иако се бела детелина одликује повољнијим хемијским саставом од црвене детелине, ређе се користи за припрему силаже, али постоји могућност и њеног силирања (Dinić i sar., 1994)

1.3.1. Карактеристике врсте *Trifolium pratense* L.

Trifolium pratense (црвена детелина) је зељаста, вишегодишња (2-3 године) врста која се најчешће посматра као лектотип тј. типски представник рода (Слика 2). Диплоидна ($2n=14$) је и страно оплодна врста. Одликује се снажним вретенастим кореном и јаким бочним кореновима, као и кратким ризомима. Стабла су усправна, само при основи устајућа, неразграната или слабо граната, обично 20-50 cm (ретко 100 cm) висока. Доњи листови на лисним дршкама, горњи на краћим, скоро седећим. Листићи са врло кратким дршкама, 1.5-3 (5) cm дуги и упола толико широки, јајасте или дугуљасти, скоро целог обода, са обе или само са доње стране са прилеглим меким длакама, са горње стране често са светлозеленим или црвено мрким мрљама. Цветне главице појединачне или по две у паровима, седеће, лоптасте до јајасте, ређе на дршкама, са 30-90 цветова. Цветови су седећи, 1.5-1.8 cm дуги; чашица беличасто зелена, круница црвена, ређе бела. Махуна јајаста, једносемена.

По класификацији Zohary и Heller (1984), црвена детелина је смештена у секцију *Trifolium* Zoh. Евроазијски је флорни елемент.

Тип станишта и распрострањење

Што се тиче станишта јавља се на бујним и влажним ливадама, у светлим шумама и пољима, од низина па до алпског појаса (Диклић, 1972). Иако је настала у Средоземном басену, услед интензивне примене и низа предности које поседује као крмна биљка сада је, како наводе Taylor и Quesenberry (1996), јако распрострањена у свим подручјима умерене климе у свету: од Медитерана до Севера Скандинавије, од Флориде до Аљаске, од равница Чилеа и Аргентине до висоравни Перуа и Мексика, од Новог Зеланда и Аустралије до северне Кине и Јапана, и заузима простор од око 20 милиона

хектара. Количина падавина које толерише током године крећу се од 310 до 1910 mm (Smith et al., 1985).



Слика 2. Хабитус врсте *Trifolium pratense*.

Употреба кроз историју

То је једна од врста рода *Trifolium* која је најраније ушла у употребу, било да је у питању исхрана животиња, или пак лечење болести код људи (Kolodziejczyk-Czepas, 2012). Црвена детелина је узгајана у Европи у трећем и четвртм веку нове ере (Whyte et al., 1953). Постоје забелешке из много каснијег периода (од 16. до 18. века) да се гајила у различитим деловима Европе (Taylor, 1985). Из Шпаније је пренета у северни део Европе, 1566. у Фландрију и око 1645. у Енглеску. Затим се око 1776. јавља у Русији, а колонизацијом је пренета у друге делове света (Америку, Аустралију).

Скоро 300 година нису чињени никакви оплемењивачки напори, популације црвене детелине су само благо побољшане како би могле дуже да се користе и биле отпорније на болести. До 50-их година 20-ог века, у употреби су биле природно адаптиране популације или екотипови који су добијени вишегодишњим одабиром на фармама (Kongkiatngam, 1991). Између два светска рата, добијене су сорте отпорније на антракнозу и нематоду, али тек шездесетих година прошлог века, у продаји се нашло семе тих сорти (Taylor и Quesenberry, 1996). У периоду после Другог светског рата коришћењем прикупљеног материјала, како у Европи тако и у Америци, пуно нових сорти је

ушло у употребу, у виду монокултура или у смеши са травама. Формиране су, како диплоидне, тако и тетраплоидне сорте, па се истраживања углавном оријентишу у правцу поређења агрономских особина ове две групе варијетета црвене детелине (Mittelholzer, 1956).

Пољопривредни значај

Статус једне од најзначајнијих крмних легуминоза добила је захваљујући својој високој адаптабилности - може се узгајати на широком опсегу различитих земљишних типова и срединских услова, при чему даје задовољавајући принос у областима које нису погодне за узгајање луцерке зато што је земљиште сувише влажно или сувише кисело (Kongkiatngam, 1995). При томе, може се узгајати у монокултури или у смеши, у конвенционалној или органској пољопривреди (Snops et al., 2010). Може се користити у свежем или конзервираном стању, применом силиране хране побољшава се вредност животињског оброка, а за узврат количина и квалитет млека и меса (Dewhurst et al., 2003).

Азотофиксација

Као и бројне друге легуминозе, формира симбиотски однос са азотофиксаторима из рода *Rizobium*, и како наводе LaRue и Patterson (1981) процењена количина азота која може бити везана на површини са црвеном детелином се креће од 125 до 220 kg ha⁻¹ годишње. У истраживањима Voller и Nösberger (1987) наводи се да количина азота коју може да веже црвена детелина (узгајана у виду травно-легуминозне смеше) достиже вредност од 373 kg ha⁻¹ N. Услед своје интензивне примене у пољопривредној производњи, створен је велики број сорти, махом у Европи и Северној Америци, које су доступне на тржишту.

1.3.2. Карактеристике врсте *Trifolium repens* L.

Бела детелина је зељаста, вишегодишња биљка, са развијеним кореном и мање више разгранатим ризомом (Слика 3). Главно стабло пузеће, (30-40 cm) на чворовима се укорењује, голо. Листови с голим, врло дугим

дршкама, до 20 cm. Листићи 1-2 (3) cm дуги и мало ужи од ових димензија, обично слабо усечени, скоро по читавом ободу назубљени. Залисци кожасти, широки, јајасте, већином беличасти са црвенољубичастим или зеленим нервима. Главице на дугим дршкама, округле, растресите, са 40-80 цветова, око 2 cm широке. После цветања, наниже оборени цветови. Чашаца звонаста. Круница 8-13 mm дуга, бела или ружичаста, после цветања мрка. Махуна линеарно спљоштена, с танким омотачем и 3 - 4 семена. Семе јајасто до округласто или бубрежасто, сумпорно до наранџасто-жуто, касније мрко.

Странооплодна врста, алотетраплоид, опрашује се инсектима, са високим нивоом генетичког диверзитета унутар природних популација (Williams, 1987). Једна је од ретких врста рода која је настала укрштањем друге две врсте. Сматра се да је настала укрштањем *T. pallescens* и *T. occidentale* у раном Миоцену. Према истраживању (Ellison et al., 2006), од 218 врста овог рода, само је пет врста настало хибридизацијом.

По класификацији Zohari и Heler, (1984) смештена је у секцију *Lotoidea*, али по новијим истраживањима представља елемент секције *Trifoliastrum* (Ellison et al., 2006).



Слика 3. Хабитус врсте *Trifolium repens*.

Сваки сегмент садржи чвор (нодус), интернодију, лист и бочни пупољак. Из бочног пупољка могу да се развијају: бочна грана, цваст или адвентивни корен (Black et al., 2009).

Хабитус ове врсте превасходно је одређен развојем столона, а одликује се и адвентивним типом кореновог система (Frame et al., 1998).

Развој беле детелине је специфичан. Наиме, клијанци формирају главни корен. Највећи део корена се простире до дубине од 60 cm који угине за око 2 године (Brock et al., 2000). За то време, на главној стабљиви се формирају бочне гране које прелазе у столоне; када се веза између примарне стабљике и столона прекине настаје нова биљка, па се за белу детелину каже да формира клонове (Black et al., 2009). Помоћу столона се шири што доприноси успешном одржавању травњака (Вучковић, 2004). Карактеристика беле детелине је висок проценат столона у односу на суву тежину биљке. Столони су место акумулације угљених хидрата који се користе током зиме (Harris et al., 1983) и након случајева дефолијације (Murphy, 1982). Поред тога, у њима се врши нагомилавање и минералних материја, али вероватно не и азота (Нау et al., 1985).

Тип станишта и распрострањење

Станишта која насељава: баште, њиве, поред путева, влажне ливаде, обале река и потока, од низија до алпијског регијона. Добро успева на земљишту богатом хранљивим материјама са пуно влаге. Евроазијски је флорни елемент (Диклић, 1972). Широко је распрострањена у свету, од Арктичког круга до тропских планина (Taylor, 1985). Њено природно станиште се протеже од медитеранског басена, укључујући Северну Африку, као и Северну Европу, Малу Азију, регион Кавказа и западну Азију, ширећи се чак до северо-западне Кине. Узгајање је утицало да се прошири у друге умерене и суптропске делове планете, нарочито на јужној хемисфери (Richards, 2011).

Употреба кроз историју

Бела детелина је цењена као средство против злих духова код Келта. По Evans-у (1957) ови пагански обичаји су настављени од стране ранохришћанских вођа, и постала је симбол светог тројства за Ирски народ. Поред тога она је дуго времена била једна од најцењенијих врста детелина за производњу меда који је до скоријег периода био једини облик концентрованог шећера (Taylor, 1985).

Почетак узгајања детелина се везује за 1000 годину у Шпанији. У XVII и XVIII веку када је европској пољопривреди претио пад у производњи услед недостатка азота у земљишту, детелине су постале неопходне како би се исхранила растућа популација. То је био период када су детелине (црвена и бела) назване „пољопривредни еквивалент угља“. „Као што су димњаци из којих се пушио угљ мењали пејзаж, то су исто чинила и пространа поља под белом и црвеном детелином“ (Kjærgaard, 2003).

Пољопривредни значај

Бела детелина се убраја у једну од најквалитетнијих крмних врста. Њена крма је богата протеинима, одликује се и добром сварљивошћу, тако да је веома погодна за исхрану животиња.

Најчешће се узгаја на травњацима као пратилац трава, обично љуљева, где се користи за испашу оваца и крупне стоке. Сама врста је јако погодна за испашу услед свог ниског раста, добро развијене мреже столона по подлози, на којима се развијају пупољци (тачке раста) које животиња не може да оштети. Оптимална производња беле детелине се постиже при рН 6-7, иако је врло успешна и на киселијој подлози. Међутим, оно што је главна и најбитнија одредница опстанка и продуктивности беле детелине у пољским условима, јесте количина влаге у подлози (Hoglund et al., 1979).

Мрежом столона које ствара, везује подлогу и спречава спирање земљишта. Бела детелина је добра за рекултивацију земљишта, смеша која се показала као успешна у рекултивацији депонија састоји се 70% од детелина (бела и шведска), 30% од травних врста (италијански љуљ) (Vondráčková, 2008).

У умереном подручју света главни начин опстанка беле детелине на пашњацима је вегетативно размножавање (Нау, 1994).

Азотофиксација

Истраживања из Велике Британије и Ирске показују да количина азота коју бела детелина може да веже, када се узгаја у смеши са *Lolium perenne* L., се крећу од 30 до 170 kg ha⁻¹ годишње (McNeill и Wood, 1990). По другим ауторима те вредности за чист усев, или смешу се крећу од 100 до 350 kg ha⁻¹

годишње (Hoglund et al., 1979; Caradus, 1990; Ledgard et al., 1990). Чак је у истраживању Sears et al., (1965) забележена вредност од 680 kg ha^{-1} N годишње.

У поређењу са друге две најзаступљеније крмне легуминозе (црвена детелина и луцерка), бела детелина ослобађа највећу количину азота у земљишту. Наиме како се размножаваће одвија углавном столонима, не постоји потреба да се азот чува у корену за обнову биљке после испаше или кошења. Такође њен осовински корен је кратак у поређењу са друге две врсте, тако да је олакшан и физички приступ коренима суседних врста. Добро развијен корен луцерке и црвене детелине онемогућава да биљке примаоци азота, приђу довољно близу сопственим кореном. Поред тога бела детелина јако мало прима азот из околног земљишта па је веома слаб компетитор, за разлику од црвене детелине која у великој мери везује азот који потиче од легуминоза, нарочито беле детелине (Pirhofer-Walzl et al., 2012).

1.3.3. Карактеристике врсте *Trifolium hybridum* L.

Вишегодишња врста са снажним кореном и развијеним столонима. Стабло од 10-70 cm високо, право или устајуће, голо или у горњем делу мало длакаво, неразгранато или мање-више разгранато (Слика 4).



Слика 4. Хабитус врсте *Trifolium hybridum*.

Листови са дугом дршком, залисци 1-2.5 cm дуги, троугласти, чекињасто ушиљени, приљубљени за лисну дршку до њене трећине. Лисна дршка до 10 cm дуга. Лисна плоча 1-3 x 1-1.8 cm, овална, ретко ромбична, врхом заобљена, скоро по целом ободу назубљена, са многобројним рачвастим бочним нервима. Цваст 1-2.5 cm у пречнику, округлог облика, на биљци их може бити од 10 па навише. Чашица до 4 mm дужине, гола, с 5 нерава. Круница 0.7-1 cm дужине бела до ружичаста, после цветања мрка. Махуна елиптична, гола, с 2 до 4 семена. Цвета од маја до септембра. Страно оплодна је врста, са диплоидним бројем хромозома $2n=16$ (Zohary и Heller, 1984). По истим ауторима смештена је у секцију *Lotoidea*. Евроазијски флорни елемент.

Латински назив ове врсте потиче из некадашње погрешне претпоставке да је настала укрштањем црвене и беле детелине.

Тип станишта и распрострањење

Јавља се на отвореним, травним површинама, поред путева, на местима где се више задржава вода у подлози. Потиче са севера Европе, а данас се узгаја у умереним и субарктичким зонама Европе, Азије и Америке. Шведска детелина је у употреби као крмна врста у Европи и Канади од прве половине XIX-ог века (Fairey, 1986).

Пољопривредни значај

Једна је од економски значајних врста рода *Trifolium* (Malaviya et al., 2005), чија је хранљива вредност нешто нижа него код црвене или беле детелине (Papralskiene и Dabkevičiene, 2012) али поседује неке предности - дуже опстаје на травњацима, боље подноси кисела и влажна земљишта од црвене детелине, добро презимљава, а толерантна је и на мразеве (Daugėlienė, 2000). Краткоживећа је врста, опстаје око две године у условима искоришћавања травњака, али како доноси пуно семена, подсејавањем може знатно дуже да опстане на неком простору. Због њених позитивних особина постала је уобичајени део травно-легуминозних смеша северних крајева северне полулопте али њене позитивне производне особине уочене су и на јужној полулопти - Нови Зеланд (Widdup и Ryan, 1994)

Медоносна је врста и производи више нектара од црвене и беле детелине, а и сама производња је стабилнија (Paprlauskiene и Dabkevičiene, 2012).

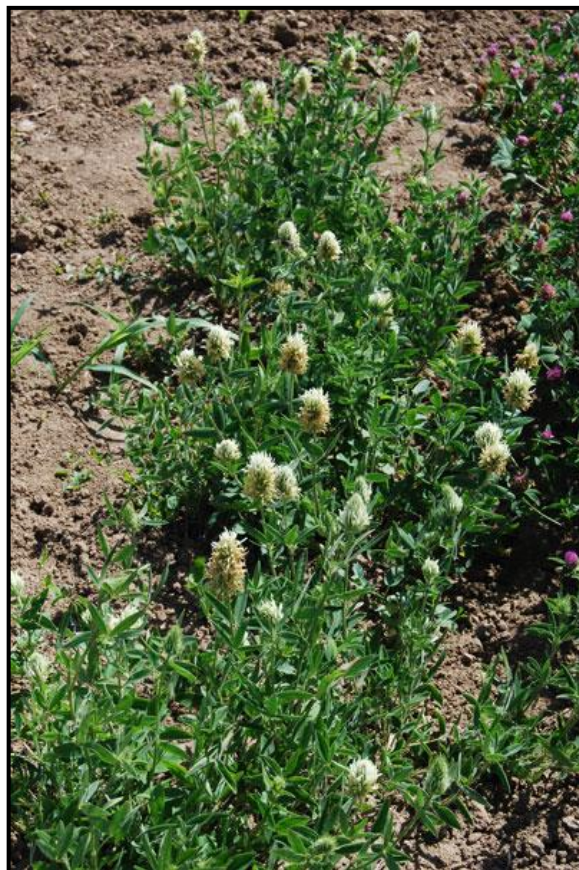
Шведска детелина је такође једна од врста фамилије *Fabaceae* која се показала као ефикасна у ширењу на отпадним површинама рудника. Како наводе Dancer et al. (1977) ова врста је препоручљива за места са јаловином на којима је испаша део агротехничких мера.

1.3.4. Карактеристике врсте *Trifolium pannonicum* Jacq.

Вишегодишња биљка са кратким пузећим ризомом. Стабло усправно, од 20-50 cm дуго, неразгранато или мање више разгранато, дебело, округло, касније шупље (Слика 5). Доњи листови на дужим, горњи на краћим дршкама. Листићи доњих листова мали, објајастии, они горњи дугуљасто ланцетасти, 3-8 cm дуги и до 2 cm широки; лисне дршке као и листићи са обе стране са грубим длакама. Залисци узани, кожасти, с дугим линеарним врховима, зелени, срасли са лисном дршком. Главице велике, до 5 (8) cm дуге и до 3 cm широке на дугим дршкама. Цветови седећи, до преко 2.5 cm дуги. Чашица са 10 нерава, густо длакава, круница жућкастобела, касније мрка. Махуна с једним семеном које је светлозелено.

Припада секцији *Trifolium* Zoh. Понтско-субмедитерански флорни елемент (Диклић, 1972).

Trifolium pannonicum Jacq. се сматра крајњим исходом полиплоидије у роду *Trifolium*. Постоје подаци о различитом броју хромозома код ове врсте: $2n = 28, 49, 60, 65, 125, 126, 130$ па чак и 180 (Szabo, 1987). То је једна од најмлађих врста рода, претпоставља се да се јавила у постгацијалном периоду, као резултат насељавања неког подручја у процесу дупликације гена (Lazany, 1983). Организам са новом генетском структуром је компетитивно снажнији у борби за ново станиште и постепено у таквим условима од краткоживећих настају дугоживеће врсте.



Слика 5. Хабитус врсте *Trifolium pannonicum*.

Тип станишта и распрострањење

Јавља се на ливадама, пашњацима, шикарама, у светлим шумама. Углавном су то екотони између травне заједнице *Festuco rubrae*–*Agrostietum tenuis* и мешовите шумске заједнице *Quercetum petraeae*–*cerris* (Szabo, 1987). Распрострањење: јужна и југоисточна Европа, Балканско полуострво, Мађарска, средња Русија, Украјина, Мала Азија, Кавказ (Диклић, 1972). Јавља се на надморској висини од 300 до 2300 метара (Sahin-Demirbag, 2008).

Употреба кроз историју

У Анадолији (Турска) је широко распрострањена крмна врста која се користи за припрему сена (Sahin-Demirbag, 2008). Узгајање или пак покушаји узгајања су забележени у земљама које не припадају природном ареалу распрострањења ове врсте, већ је накнадно интродукована: Немачка (Bonstedt, 1931; Dierbach, 1939; Schultze-Motel, 1986), Швајцарска (Stebler, 1913), Аустрија (Janchen, 1960), Француска (Fournier, 1961).

Оплемењивање ове врсте први пут је забележено у Цириху, давне 1888. године. Циљ је био добити дугоживећу, робусну сорту детелине која би заменила луцерку. Добијени генотип је давао два откоса годишње и био дуготрајан (6-10 година искоришћавања). Поред беле детелине ово је врста која може најдуже да се искоришћава, стока је радо једе због доброг укуса и на природном станишту хербивори је радо користе упркос густом длакавом покривачу на листовима и стабљници (Szabo, 1987).

Даје малу количину семена (120 kg ha^{-1}) због недостатка опрашивача и високог удела стерилних цветова.

Пољопривредни значај

Препоручује се узгајање са травама (*Festuca arundinacea* L.) ради производње крме (Szabo, 1987), за попуњавање биолошки нарушених простора, озелењавање обала, и као украсна врста (Bonstedt, 1931).

Једна је од најбољих дивљих врста са аспекта исхране стоке (Вучковић, 2004). Ово је потврђено и стварањем сорте у Чешкој под називом Панон (Pelikán, 2012). Одликује се високом производњом нектара ($2.7 \mu\text{g}$ по цвету, на супрот рецимо црвеној детелини која даје $1 \mu\text{g}$), али има малу вредност у производњи меда јер је чашична цев превише дуга за пчеле (Nyarady, 1959).

1.3.5. Карактеристике врсте *Trifolium montanum* L.

T. montanum (планинска детелина) је вишегодишња зељаста врста, са дебелим дрвенастим ризомом на коме постоји једна или више розета опкољених остацима лисних рукаваца из којих полази више стабала. Стабла усправна, скоро неграната, длакава или гола, одрвенелих изданак а у основи, 15-80 cm висине (Слика 6).

Доњи листови су на дугим дршкама (до 20 cm), горњи са кратким дршкама или седећи. Залисци око 1 cm дужине, мембранозни, овални, кожастии, длакави, они при основи стабла преобраћени у чврсте саре. Листови 2-7 cm дуги, 0.8 x 2.5 cm широки, елиптични, овални до ланцетастии, по ободу тестерасти, одоздо сивозелени са многим разгранатим бочним нервима. Цветне главице 1.5-3 cm у пречнику, спарене 2-3 заједно, са великим бројем цветића,

округлог до овалног облика, а у периоду прецветавања се издужују у форму шиљка (3x2 cm). Дршке цвасти 4-15 cm дуге. Чашица 6-8 mm дуга, облика звончића, длакава до гола, са 10 нерава, зубићи исте дужине или нешто дужи од сраслог дела чашице. Круница до 1.5 cm дужине, бела или жућкаста, ретко розе боје, после цветања мрка; цвет садржи 1-2 семенке, 2 mm дужине, браон боје. Биљка цвета у периоду од јуна до августа (Диклић, 1972). Број хромозома може бити $2n = 16, 32$. (Zohary и Heller, 1984). Припада секцији *Lotoidea*.

Центар настанка је медитеранско подручје.



Слика 6. Хабитус врсте *Trifolium montanum*.

Тип станишта и распрострањење

Сушне ливаде, светле лишћарске и четинарске шуме, утрине; од брдског до субалпијског појаса, у низинама ређе.

Јавља се на кречњачким ливадама, опрашује се пчелама и бумбарима (Schleuning et al., 2009; Oberdorfer et al., 1994). Цвета од маја до јула (Aeschimann et al., 2004). Разношење семена готово да не постоји и ограничено је на кратка растојања (Schleuning et al., 2009), када махуне попуцају семе пада око биљке (барохорија) (Hahn et al., 2013).

Природни је становник ливада класе *Festuco-Brometea* (Br.-Bl. et Tx. 1943), асоцијације *Chrysopogonietum grylli serbicum*, субасоцијације *trifolietosum montanae* subass. n. 2003. *Trifolium montanum* је врста која припада карактеристичном скупу заједнице *Chrysopogonietum*, која се као једна веома

стабилна заједница одржава под антропогеним утицајем (кошењем) дуги низ година (Којић i sar., 2004).

Пољопривредни значај

У ранијим фазама развоја *T. montanum* даје крму доброг квалитета, а када престари крма губи квалитет. Добро подноси испашу, стока је радо једе када је млада. Применом агротехничких мера, превасходно ђубрења, удео травних врста се повећава, оне заузимају више простора и смањују количину светлости у нижим слојевима травњака, чинећи да се ова врста постепено повлачи (Вучковић, 2004).

1.4. Секундарни метаболити и биолошки активне материје код врста рода *Trifolium*

Иако се највећи напори у проучавању генетичких ресурса предузимају како би се исти укључили у неки селекциони програм са циљем повећања количине хране, у последње две деценије се све већи број врста испитује и са аспекта присуства биолошки активних материја. Биолошки активне материје су секундарни метаболити, које имају широк опсег деловања и најчешће се јављају као резултат адаптације биљке на услове животне средине и испољавају ефекте на биолошке системе, као што су антимикуробно, антивирално, антиканцерогено, антиоксидативно, имуно-стимулирајуће или имуно-модулирајуће деловање, као и многа друга дејства.

Улога

Секундарни метаболити учествују у интеракцији биљака са другим организмима, штите их од напада паразита (фитоалексини), предатора, имају улогу у процесу зоофилије и зоохорије, учествују у одговору биљке на неповољне абиотичке услове средине. У зависности од врсте и концентрације могу бити веома отровна, нешкодљива или пак тешко сварљива једињења (танини, лигнин).

Већина организама ствара пуно врста секундарних метаболита, и на тај начин се повећава вероватноћа њиховог опстанка. Ова једињења најчешће потичу из листова, корена или одбачених делова. Једињења која имају веома изражен алелопатски ефекат (негативно деловање) су лако растворљиви феноли (Stevanović и Janković, 2001).

Када је биљка нападнута микроорганизмима луче се одбрамбена једињења – фитоалексини; специфични су за групе биљака, па се они које испуштају детелине зову медикарпини. Захваљујући томе приписује им се хемотаксономски значај. Када су биљке из фамилије *Fabaceae* нападнуте пужевицама голаћима оне луче цијаногеничне гликозиде (Stevanović и Janković, 2001).

Поједине излучевине могу имати и благотворно дејство на околинду те тако из корена беле детелине се ослобађају метаболити који поспешују узимање фосфора код траве *Anthoxanthum odoratum* (Newman и Miller, 1977).

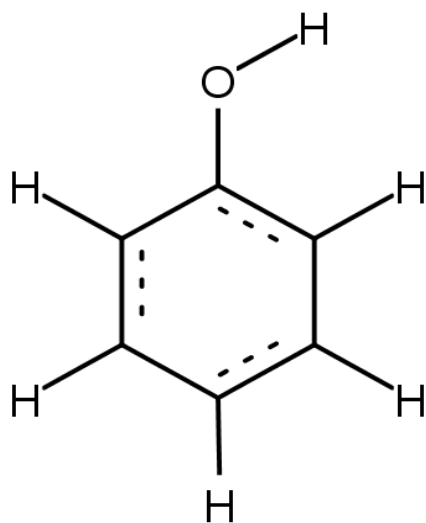
Врло је занимљив симбионтски однос легуминоза и бактерија – азотофиксатора. Симбиоза не би постојала да се из корена не луче једињења која активирају *nod* гене бактерија, који су одговорни за образовање нодула (квржица). Али свака биљка домаћин лучи специфичан „коктејл једињења“, тако да бактерије које нормално изазивају образовање квржица код беле детелине, неће образовати нодуле на корену соје, и обратно (Jensen et al., 2012).

Биолошка активност и подела секундарних метаболита

Ефекат секундарних метаболита се најчешће испољава путем контроле ензимских реакција, контролом хормонске активности, генске експресије, ћелијског транспорта, ћелијске деобе, имуног одговора, и низом других физиолошких процеса у организму (Станковић, 2012).

Основна структурна подела секундарних метаболита је направљена на основу присуства или одсуства азота у једињењу. Предмет истраживања су молекули који не садрже атоме азота - феноли (Quideau et al., 2011). Феноли су циклична једињења код којих је -ОН група директно везана за ароматично језгро (Слика 7). Подељени су у две велике групе: фенолна једињења и флавоноиде. Име су добили по свом најједноставнијем представнику C_6H_5OH - фенолу.

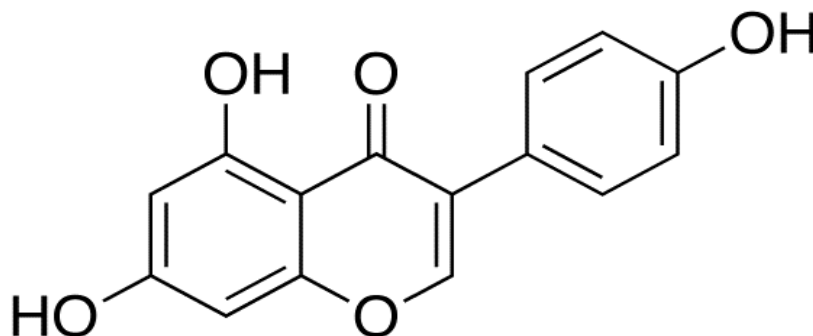
Феноли имају изражено физиолошко дејство па налазе примену у медицини и као хербициди, али и као важни индустријски материјали. У медицини се користе захваљујући специфичности структуре њихових молекула, којом им је омогућена антиоксидативна, антимикробна и антиканцерогена активност (Rice-Evans et al., 1997; Middleton et al., 2000; Spencer, 2008).



Слика 7. Молекуларна структура фенола

Једна од подгрупа фенолних једињења јесу и флавоноиди (Слика 8). Флавоноиди су веома заступљени секундарни метаболити код биљака, жуте су боје (флавус-жут) или пак безбојни (Harborne и Williams, 2000). Широко су распрострањени у семенима, листовима и цветовима; до сада је идентификовано око 4000 флавоноида код биљака (Heim et al., 2002). Веома су значајни као пигменти (Tanaka et al., 2008), представљају заштиту против УВ зрачења, патогених организама и хербивора (Harborn и Williams, 2000). Неки од најзаступљенијих флавоноида су генистеин, метаболит појединих врста фамилије *Fabaceae*, цијанидин присутан у тамно обојеном бобичавом воћу (Hertog et al., 1993; Ribas-Agustí et al., 2011) и други. Медицинским истраживањима показало се да значајан унос флавоноида исхраном снижава морталитет узрокован кардио-васкуларним обољењима, смањује појаву инфаркта миокарда код старијих особа (Hertog et al., 1993), и смањује ризик од коронарних болести за 38% код жена у менопаузи (Yochum et al., 1999).

Коришћење флавоноида у исхрани крупне стоке може позитивно да утиче на процес ферментације и смањење киселости у румену. Овакав утицај флавоноида може бити делимично објашњен појавом микроорганизама у румену који се хране млечном киселином (Balcells et al., 2012). Флавоноиди су предложени као алтернатива коришћењу антибиотика (Broudicou и Lassal, 2000).



Слика 8. Молекуларна структура флавоноида из групе изофлавона (генистеин)

Флавоноиди су подељени у већи број група. Изофлавоноиди и куместани су најзначајнији флавоноиди, уобичајени у фамилији *Fabaceae*, али су такође присутни и у другим биљним фамилијама (Kaufman et al. 1997; Reynaud et al. 2005). Изофлавоноиди се називају и фитоестрогени, услед сличне структуре као људски полни хормон 17β -естрадиол. Наиме, потреба за увођењем биљних продуката у лечење жена у менопаузи се појавила када је установљено да коришћење естрогена у терапеутске сврхе има и негативних појава. Иако естроген унет у организам позитивно утиче на ћелије кортекса, његова дуготрајна примена је повезана са порастом вероватноће јављања рака материце и повећањем бројности неоплазми у грудима (Grady et al., 1995). Из тог разлога тражене су друге материје које би имале мање нус ефеката, па су тако почеле да се примењују биљне материје, тзв. фитоестрогени. Фитоестрогени су структурно слични ендегеном естрогену и везују се за естрогенске рецепторе. Истраживања показују да фитоестрогени могу да послуже у превенцији канцера (Barnes, 1997), као антиоксиданси (Naim, 1976), у снижавању холестерола (Carroll et al., 1995) и др. Најзаступљенији фитоестрогени су: формонетин и биоханин А, а у мањој концентрацији се јављају даидзеин и генистеин. Формонетин и биоханин А су метиловани облици даидзеина и генистеина, који нису приступачни организму (због величине метил - групе не могу да се вежу за рецепторе, па је неопходно да се

изврши супституција хидроксилном групом). Управо ти облици који поседују -ОН групу могу да подлегну реакцијама у организму под утицајем ензима гастро-интестиналног тракта. Врсте из којих се изолују ова једињења су соја, црвена детелина и *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi - куцу.

Наиме, већ вековима су поједине врсте рода *Trifolium* у примени у народној медицини. Црвена детелина је врста која се убедљиво највише користила, пример су жене Ирокваја које су је употребљавале током менопаузе (Herrick, 1977). Sabudak et al. (2009) наводе значај црвене детелине у турској народној медицини где се користи као аналгетик, антисептик, у случају реуматских обољења. На Оријенту и код европских култура *T. pratense* се користи у лечењу екцема и псоријаза (Klejduk et al., 2001). Као што се из навода види ова врста је дуго већ била у примени и на старом као и на новом континенту, а последњих деценија интензивирана је њена примена и у фармацеутској индустрији. У поређењу са сојом која садржи генистеин, даидзеин и глицитеин црвена детелина садржи бар још седам додатних изофлавона (Wu et al., 2003). Поред црвене детелине и други представници рода се користе већ дуже време у народној медицини. На пример *T. repens* се користи у народној медицини Нага племена у Индији. Активност супстанци изолованих из ове врсте је потврђена експериментима на животињама (Tangru et al., 2004).

2. Циљ и хипотезе истраживања

Основни циљеви истраживања односе се на:

1. Испитивање варијабилности унутар сваке појединачне врсте рода *Trifolium*, као и између врста поређењем морфолошких, анатомских и хемијских особина.
2. Одабирање најперспективнијих популација у смислу испољавања најповољнијих морфо-анатомских и хемијских особина крме у условима пољског огледа, које би се користиле у будућим селекционим програмима.
3. Процену антиоксидативних ефеката надземних делова биљака и издвајања популације и/или врсте са највећим антиоксидативним дејством биљне дроге, као и највећим садржајем изофлавона, тј. потенцијалних фитоестрогена.
4. Уколико се покаже да материјал садржи компоненте примењиве у фармацеутској индустрији, посебно са аспекта количине и квалитета фитоестрогена, предложити наставак истраживања на тим популацијама.

При изради плана и програма истраживања пошло се од следећих претпоставки:

1. Како је испитивани материјал прикупљен у различитим подручјима земље и са различитих станишта, претпоставка је да ће се међу испитиваним популацијама испољити разлике на нивоу морфо-анатомских и хемијских карактеристика, а с тим у вези и разлике у квалитету крме.
2. Претпоставка је да популације различитог географског порекла, као и популације различитих врста неће испољити исти или значајан антиоксидативни потенцијал, као и садржај изофлавона али и да ће се издвојити неколико перспективних популација, на којима ће се наставити фитохемијска и фармаколошка истраживања.

3. Материјали и методе истраживања

3.1. Биљни материјал

У оквиру ових истраживања проучаване су дивље популације врста: *Trifolium pratense* L., *Trifolium repens* L., *Trifolium pannonicum* Jacq., *Trifolium montanum* L. и *Trifolium hybridum* L.

Биљни материјал који је коришћен у овим истраживањима је део колекције Института за крмно биље прикупљен у ранијим експедицијама (чува се у хладној комори на +4°C). Поред тога, део самониклих популација је додатно прикупљен током сакупљачких експедиција за намену експеримента. На основу количине сакупљеног семена и његове клијавости, за испитивање у пољским огледима одабрано је минимум пет популација од сваке врсте, пореклом са различитих локалитета. У табелама 1, 2, 3, 4 и 5 су наведене све популације које су ушле у пољски оглед, док су тамнијом бојом (Bold) означене популације на којима је вршена анализа.

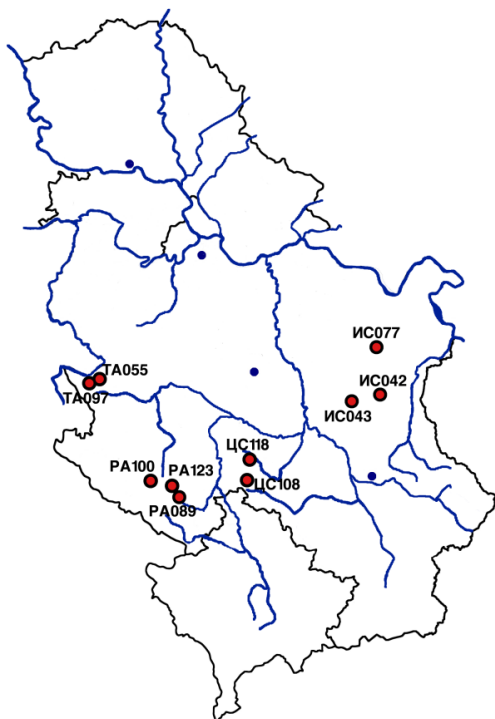
Табела 1. Географски подаци локалитета са којих је узорковано семе врсте *Trifolium pratense* L.

Ознака локалитета	Назив локалитета	Географска ширина	Географска дужина	Надморска висина (m)
ИС042	Бољевац 1	43° 50.4337'	22° 00.2110'	420
ИС043	Честобродица 2	43° 48.1530'	21° 45.3527'	425
ИС047	Бољевац 2	43° 49.8262'	22° 03.6603'	470
ИС077	Црни Врх 1	44° 08.3621'	21° 58.6408'	770
ИС086	Црни Врх 2	44° 10.0418'	21° 57.0274'	860
РА089	Осоје	43° 12.1248'	20° 17.0448'	890
РА100	Доња Вапа	43° 17.5624'	20° 01.7826'	996
РА116	Дуга Пољана 2	43° 16.2666'	20° 10.6904'	1140
РА123	Дуга Пољана 1	43° 16.1972'	20° 13.4084'	1230
ТА055	Тара 5	43° 56.0453'	19° 34.2191'	550
ТА089	Тара 3	43° 56.9775'	19° 25.1799'	890
ТА097	Тара 2	43° 54.3181'	19° 30.4594'	970
ЦС072	Жељин	43° 30.0990'	20° 51.6492'	727
ЦС108	Национални парк	43° 18.3800'	20° 52.1896'	1080
ЦС118	Нерађе	43° 26.4881'	20° 53.0006'	1185
ЦС146	Сребрнац	43° 18.9151'	20° 51.2528'	1465
ЦС172	Конаци	43° 17.4090'	20° 48.8841'	1720

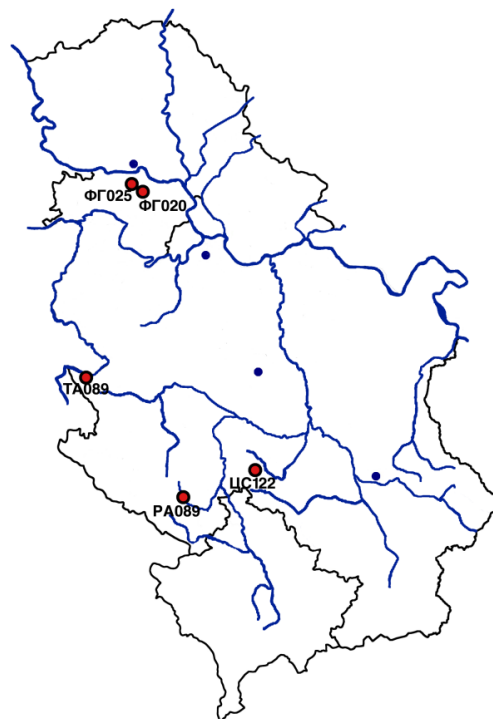
Географске координате анализираних популација приказане су на сликама 9, 10, 11, 12 и 13.

Табела 2. Географски подаци локалитета са којих је узорковано семе врсте *Trifolium repens* L.

Ознака локалитета	Назив локалитета	Географска ширина	Географска дужина	Надморска висина (m)
ВЛ078	Власина 1	42° 39.6931'	22° 17.9928'	1053
ВЛ120	Власина Нарцис	42° 45.6736'	22° 19.1430'	1200
РА089	Осоје	43° 12.1248'	20° 17.0448'	890
РА116	Дуга Пољана 2	43° 16.2666'	20° 10.6904'	1140
ТА089	Тара 3	43° 56.9775'	19° 25.1799'	890
ФГ020	Ирички Венац	45° 05.5418'	19° 52.0775'	196
ФГ025	Врдник	45° 07.8368'	19° 46.7754'	258
ЦС016	Гавез	43° 37.7431'	21° 19.0617'	168
ЦС047	Јастребац	43° 43.3046'	21° 37.1411'	470
ЦС056	Јастребац	43° 43.5021'	21° 37.2023'	560
ЦС122	Крива Река	43° 22.7104'	20° 52.5240'	1210



Слика 9. Локалитети са којих је узорковано семе врсте *Trifolium pratense*.



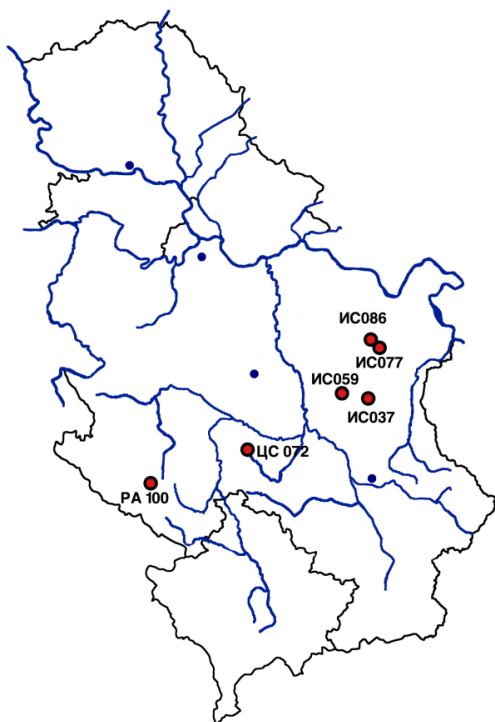
Слика 10. Локалитети са којих је узорковано семе врсте *Trifolium repens*.

Табела 3. Географски подаци локалитета са којих је узорковано семе врсте *Trifolium hybridum* L.

Ознака локалитета	Назив локалитета	Географска ширина	Географска дужина	Надморска висина (m)
ВЛ120	Власина Нарцис	42° 45.6736'	22° 19.1430'	1200
ВЛ130	Власина фарма	42° 42.8231'	22° 22.7126'	1303
ВЛ135	Власина кривина	42° 41.5157'	22° 21.8594'	1350
ИС037	Балашевић	43° 48.8746'	21° 54.2695'	371
ИС043	Честобродица 2	43° 48.1530'	21° 45.3527'	425
ИС047	Бољевац 2	43° 49.8262'	22° 03.6603'	470
ИС059	Честобродица 1	43° 50.5721'	21° 40.5952'	587
ИС077	Црни Врх 1	44° 08.3621'	21° 58.6408'	770
ИС086	Црни Врх 2	44° 10.0418'	21° 57.0274'	860
РА100	Доња Вапа	43° 17.5624'	20° 01.7826'	996
ЦС072	Жељин	43° 30.0990'	20° 51.6492'	727

Табела 4. Географски подаци локалитета са којих је узорковано семе врсте *Trifolium ranunculifolium* Jacq.

Ознака локалитета	Назив локалитета	Географска ширина	Географска дужина	Надморска висина (m)
ВЛ105	Власина 2	42° 39.6931'	22° 17.9928'	1053
ИС047	Бољевац 2	43° 49.8262'	22° 03.6603'	470
ИС059	Честобродица 1	43° 50.5721'	21° 40.5952'	587
РА100	Доња Вапа	43° 17.5624'	20° 01.7826'	996
РА123	Дуга Пољана 1	43° 16.1972'	20° 13.4084'	1230
ТА097	Тара 2	43° 54.3181'	19° 30.4594'	970
ЦС091	Станишинци 1	43° 32.6246'	20° 53.9164'	911
ЦС105	Равниште	43° 16.1452'	20° 52.3682'	1068
ЦС119	Плоча	43° 26.5037'	20° 53.0167'	1186
ЦС131	Бела Река	43° 17.5978'	20° 51.7979'	1310
ЦС146	Сребрнац	43° 18.9151'	20° 51.2528'	1465



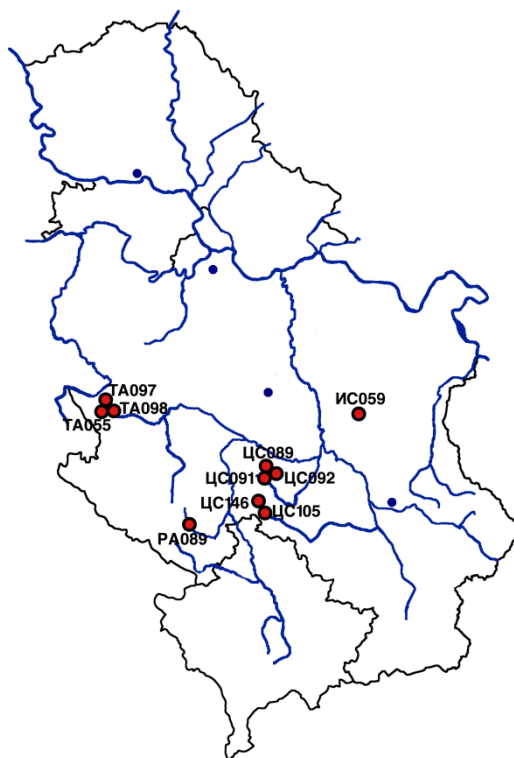
Слика 11. Локалитети са којих је узорковано семе врсте *Trifolium hybridum* L.



Слика 12. Локалитети са којих је узорковано семе врсте *Trifolium pannonicum* Jacq.

Табела 5. Географски подаци локалитета са којих је узорковано семе врсте *Trifolium montanum* L.

Ознака локалитета	Назив локалитета	Географска ширина	Географска дужина	Надморска висина (m)
ФГ025	Врдник	45° 07.8368'	19° 46.7754'	258
ИС059	Честобродица 1	43° 50.5721'	21° 40.5952'	587
РА089	Осоје	43° 12.1248'	20° 17.0448'	890
РА100	Доња Вапа	43° 17.5624'	20° 01.7826'	996
ТА097	Тара 2	43°54.3181'	19° 30.4594'	970
ТА098	Тара 1	43° 53.4282'	19° 31.8322'	984
ТА104	Тара 6	43° 53.3652'	19° 32.4597'	1043
ЦС068	Митрово Поље	43° 30.6158'	20° 52.6651'	677
ЦС089	Станишинци 3	43° 32.2709'	20° 54.6409'	893
ЦС091	Станишинци 1	43° 32.6246'	20° 53.9164'	911
ЦС092	Станишинци 2	43° 32.9580'	20° 53.9828'	914
ЦС105	Равниште	43° 16.1452'	20° 52.3682'	1068
ЦС119	Плоча чесма	43°26.5037'	20°53.0167'	1186
ЦС146	Сребрнац	43° 18.9151'	20° 51.2528'	1465



Слика 13. Локалитети са којих је узорковано семе врсте *Trifolium montanum* L.

3.2. Опис огледа

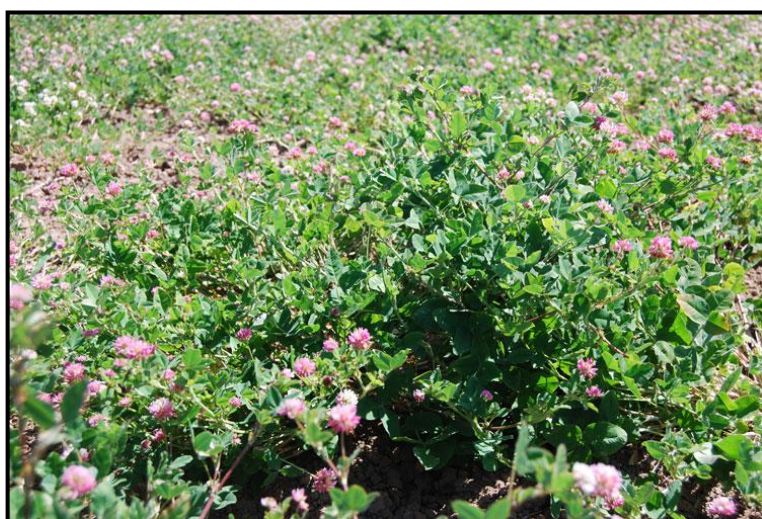
Пољски оглед са самониклим популацијама одабраних врста рода *Trifolium* је постављен на имању Института за крмно биље у Глободеру (149 m н.в.) код Крушевца, 2009. године. Семе одабраних популација је крајем августа, због великог процента тврдих зрна скарификовано, и посејано у контејнере за исклијавање (Слика 14). Када су биљке достигле стадијум 3 - 4 стална листа расађене су у матичњак појединачних биљака. Популације беле детелине су расађене на растојање 1 x 1 m, јер бела детелина јако бокори и тешко је разликовати појединачне биљке на мањем растојању (Слика 15). Свака популација, сваке врсте била је заступљена са 60 биљака. Растојање између биљака остале четири врсте, у реду, као и међуредно растојање је било 60 cm. Од наведених популација, анализа је вршена бар на пет популација сваке врсте. За морфо-анатомске и хемијске анализе коришћене су 40 биљака по популацији.



Слика 14. Клијанци различитих врста рода *Trifolium* у контејнерима.



Слика 15. Део пољског огледа са биљкама врсте *T. repens*.



Слика 16. Део пољског огледа са биљкама врсте *T. hybridum* у пуном развоју.

Анализа материјала

Анализа материјала вршена је у следећим лабораторијама: анатомска анализа листа обављена је у Хистолошкој лабораторији Пољопривредног факултета у Београду, морфолошке и хемијске анализе квалитета крме у лабораторији Института за крмно биље, Глободер; док је у лабораторији Природно - математичког факултета у Крагујевцу био испитиван садржај као и антиоксидативна активност узорака. На одсеку за Фармацију, Медицинског факултета, Универзитета у Новом Саду извршене су квалитативне и квантитативне анализе изофлавона код више популација одабраних врста рода *Trifolium*.

3.3. Параметри који се прате у експерименталном раду

3.3.1. Анализа морфолошких карактеристика

Биљни материјал је узоркован у периоду друге половине маја до прве половине јуна месеца (први откос, фаза почетка цветања биљака) током друге и треће године истраживања (2010, 2011); изузев за врсту *T. montanum* код које је узорковање спроведено 2011. и 2012. године. На појединачним биљкама рађене су анализе следећих параметара: а) висина појединачних биљака (cm) – мерена као дужина стабљике; б) број изданака (изражен по биљци); в) дужина средње лиске у тролиску (мерен је трећи лист од врха биљке) (cm); г) ширина средње лиске у тролиску (мерен је трећи лист од врха биљке) (cm); д) број бочних грана по стабљници; ђ) број интернодија по стабљници; ж) зелена маса по биљци (g) - из првог откоса; з) сува материја по биљци из првог откоса (g), и) број цвасти по биљци и ј) пречник бокора (cm). Последња два параметра су праћена само на белој детелини током 2011. године.

3.3.2. Анализа анатомских карактеристика листа

Листови за анатомску анализу узорковани су у фази пуног цветања, током треће године истраживања, из сваке популације и фиксирани у 50% етанолу. Микроскопски препарати за светлосни микроскоп припремани су парафинском методом (Ruzin, 1999). Дехидратација је обављена спровођењем кроз серију етанола различите концентрације, затим кроз ксилол до калупљења у парафин. Парафински калупи су сечени на микротому LEICA SM 2000 R, а добијени пресеци дебљине 6-10 μm су бојени сафранином и алцијан плавим. Микроскопски препарати су посматрани светлосним микроскопом LEICA DMLS и фотографисани дигиталном камером LEICA DC 300, а мерења анатомских пресека листова вршено је коришћењем софтверског пакета IM 1000.

Из сваке популације направљено је 40 препарата, узето је десет средњих листова тролистака са различитих биљака, а на сваком листу направљена су четири пресека (три бочна и један у нивоу централног нерва). Анатомски параметари листа који су мерени за морфолошку анализу на сваком пресеку су следећи: а) висина епидермиса лица листа (μm), б) висина епидермиса наличја листа (μm), ц) дебљина палисадног ткива (μm), д) дебљина сунђерастог ткива (μm), е) дебљина целог листа (μm), ф) дебљина листа у нивоу главног нерва (μm).

3.3.3. Анализа квалитета суве масе

Показатељи квалитета суве масе анализирани су из три просечна узорка сваке популације. Материјал је узоркован током друге године истраживања, у фази почетка цветања првог откоса. Анализа узорка вршена је *Weende* системом анализе: а) садржај сировог пепела је одређен сувим спаљивањем на 550 степени; б) садржај сирових протеина је одређен индиректно-преко количине укупног азота, множењем са фактором 6.25-модификација по Bremner-у; ц) садржај сирове целулозе је одређен сукцесивном анализом узорка разблаженим раствором H_2SO_4 у NaOH (Henneberg and Stohman, 1859); д) садржај сирових масти је одређен екстракцијом по Soxhlet-у; е) безазотне екстрактивне супстанце су израчунате одузимањем од 1000 g суве супстанце збира: сировог пепела, сирових масти, сирових протеина и сирове целулозе.

3.3.4. Анализа фенола, флавоноида и антиоксидативне активности

Узорковање биљног материјала (целих биљака) је обављено у фази почетка цветања (до 30% цветова), током треће године истраживања. Узорци (користи се „bulk” узорак из целе популације) су у лабораторијским условима припремани за процес сушења. Биљни материјал је осушен у целости, у танком слоју на промајном и тамном месту где се температура кретала од 18 до 22 °С, а влажност ваздуха од 55 до 65%. Процес сушења је био редовно контролисан при чему су уклањани оштећени примерци и они који су променили боју. После процеса сушења у трајању од 7 дана, суви биљни материјал је уситњен и спакован у тамне стаклене посуде до процеса екстракције.

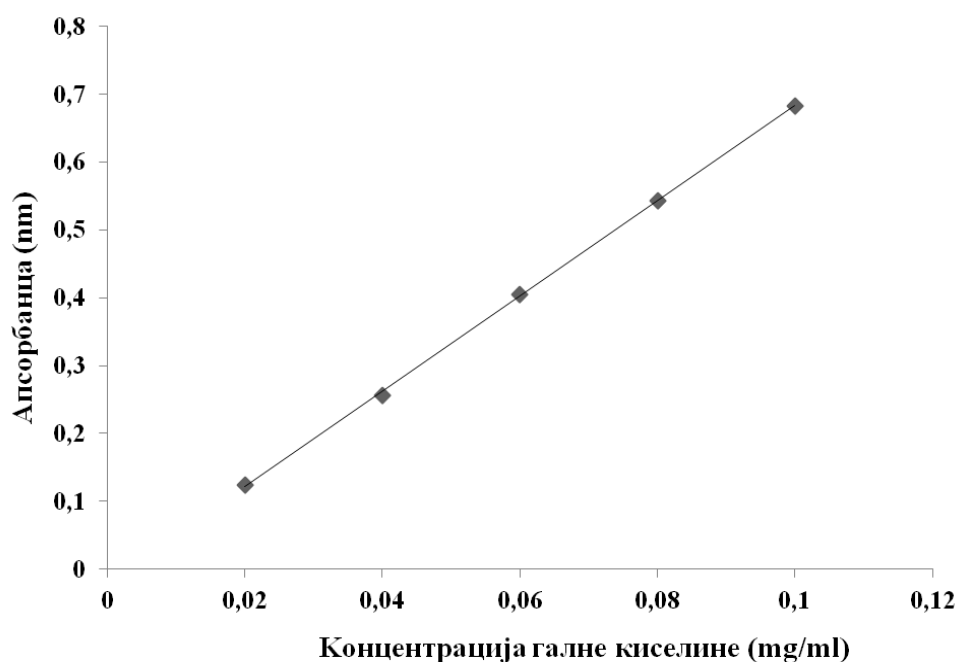
Од припремљеног биљног материјала одмерено је 10 g узорка који је екстрахован са 200 ml метанола. После 24 h екстракт је профилиран помоћу Whatman No. 1. филтер папира, а процес екстракције поновљен са још 200 ml растварача. После 48 h поступак филтрирања је поновљен а добијен екстракт упараван на ротационом вакуум упаривачу (ИКА Rotary Evaporator - WU-28710-00), при температури од 40°C до сувог стања. Добијени екстракти су чувани у тамним реагенс бочицама у фрижидеру, на температури од +4°C до употребе. Од сваког екстракта је за анализе припремљен стартни метанолски раствор концентрације 1 mg/ml.

Одређивање укупне количине фенолних једињења

Садржај укупних фенолних једињења у екстрактима одређиван је спектрофотометријском методом, коришћењем Folin-Ciocalteu реагенса (Singleton et al., 1999). Метода се заснива на одређивању редукујућег капацитета фенолних једињења из раствореног екстракта, где њиховим дисосовањем настаје протон и феноксидни анјон који редукује Folin-Ciocalteu реагенс до јона који даје плаво обојење. За анализу је коришћен метанолски раствор екстракта концентрације 1 mg/ml. Узорак је припреман мешањем:

- 0.5 ml метанолског раствора екстракта,
- 2.5 ml 10% Folin-Ciocalteu реагенса,
- 2.5 ml раствора NaHCO₃.

Контролни узорак је припреман мешањем 0.5 ml метанола, 2.5 ml 10% Folin-Ciocalteu реагенса и 2.5 ml раствора NaHCO_3 . Узорци су инкубирани 15 min на 45°C . Апсорбанца је одређивана спектрофотометром (ISKRA, MA 9523-SPEKOL 211) на таласној дужини $\lambda_{\text{max}} = 765 \text{ nm}$. За сваку анализу припремана су три узорка и добијена је средња вредност апсорбанце. На основу измерених апсорбанци, са калибрационе праве (Графикон 1) очитана је количина фенолних једињења у екстрактима изражена као еквивалент галне киселине (mg GA/g екстракта).



Графикон 1. Калибрациона права за прерачунавање вредности укупне количине фенолних једињења

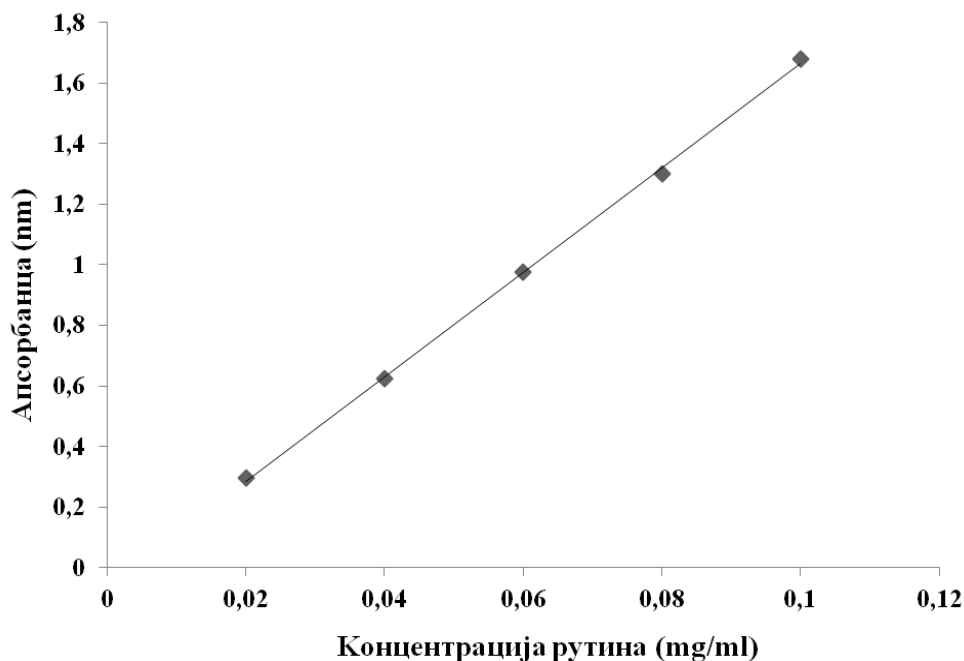
Одређивање укупне количине флавоноида

Количина флавоноида у испитиваним екстрактима одређивана је спектрофотометријском методом коришћењем AlCl_3 (Quettier et al., 2000). Метода се заснива на реакцији флавоноида и метала где као резултат реакције настају металокомплекси. За анализу је коришћен метанолски раствор екстракта концентрације 1 mg/ml. Узорак је припреман мешањем:

- 1 ml метанолског раствора екстракта,
- 1 ml раствора AlCl_3 .

Узорци су инкубирани 1 h на температури од 22°C . Апсорбанца је одређивана спектрофотометром (ISKRA, MA 9523-SPEKOL 211) на таласној

дужини $\lambda_{\max} = 415 \text{ nm}$. За сваку анализу припремљена су три узорка и добијена је средња вредност апсорбанце. На основу измерених апсорбанци, са калибрационе праве (Графикон 2) очитана је количина флавоноида у екстрактима изражена као еквивалент рутина (mg Ru/g екстракта).



Графикон 2. Калибрациона права за прерачунавање вредности количине флавоноида

Испитивање антиоксидативне активности применом DPPH реагенса

Антиоксидативна активност секундарних метаболита испитиваних врста утврђена је мерењем степена неутрализације 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH) радикала спектрофотометријском методом (Teкао et al., 1994. са модификацијама по Kumarasamy et al., 2007).

DPPH - 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил радикал је кристални прах љубичасте боје, кога чине стабилни слободни радикали. Због оштрог пика апсорпције на 517 nm, DPPH радикал има тамно-љубичасту боју у раствору, а постаје безбојан или жут када се редукује (неутрализује). Једињења са антиоксидативном активношћу која у ствари представљају доноре водониковог атома редукују стабилни 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил радикал трансформишући га у 1,1-дифенил-2-(2,4,6-тринитрофенил)-хидразин. Приликом овог процеса, љубичаста боја стартног раствора која потиче од DPPH

радикала прелази у жуту која потиче од дифенил пикрилхидразина што доводи до смањења апсорбанције на 517 nm. Интензитет промене боје је у корелацији са антиоксидативним потенцијалом биљног екстракта.

За сваки екстракт, почев од концентрације 1 mg/ml метанолског раствора припремљена је серија разблажења у концентрацијама до 0.97 µg/ml. Узорци су припремљени мешањем:

- 1 ml раствора екстракта одговарајућег разблажења,
- 1 ml раствора DPPH.

Припремљени узорци су инкубирани 30 min на собној температури. Апсорбанца је одређивана спектрофотометром на таласној дужини $\lambda_{\max} = 517$ nm. За сваку анализу припремљена су три узорка и добијена је средња вредност апсорбанце. Процент инхибиције одређен је преко једначине:

$$\% \text{ инхибиције} = \left(\frac{A_1 - A_2}{A_1} \right) \times 100$$

где A_1 представља апсорбанцу контролног узорка, односно узорка без раствора екстракта на 517 nm а A_2 представља апсорбанцу узорка са раствором екстракта на 517 nm. На основу утврђених процената инхибиције при одређеној концентрацији, за сваки узорак и сваки екстракт, помоћу једначине линеарне регресије одређена је масена концентрација при којој је редуковано 50% радикала, односно, IC_{50} вредност.

3.3.5. Анализа изофлавона (фитоестрогена)

Припрема узорака за анализу изофлавона (фитоестрогена)

Количина самлевоног биљног материјала износила је од 0.3-1 g (лист, цвет или стабљика). Сваки узорак је помешан са 2 ml воде и инкубиран у воденом купатилу 30 минута на 37°C. Након инкубирања додато је 16 ml етанола и 2 ml 3M хлороводоничне киселине, и узорци су уз мешање загревани до кључања. После хлађења екстракти су филтрирани кроз филтер хартију.

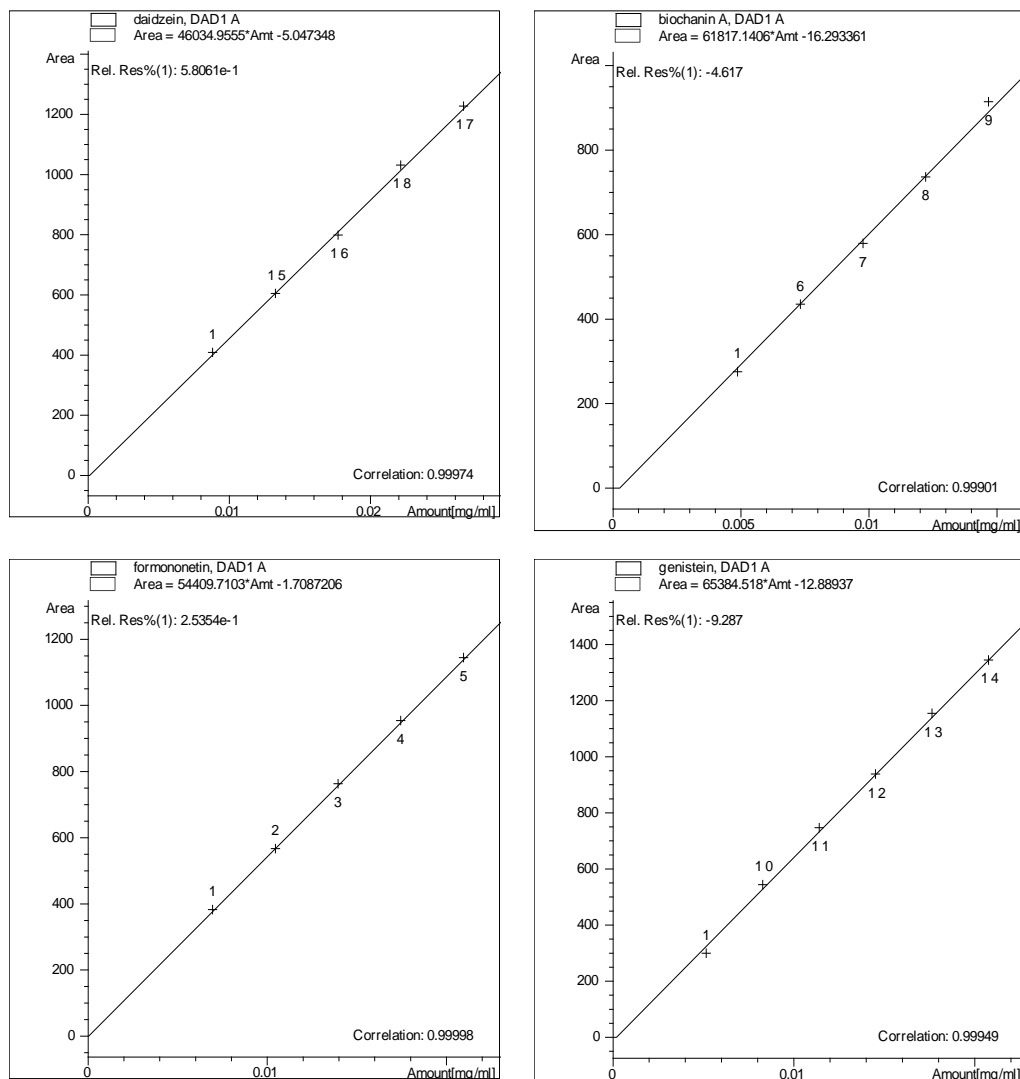
По потреби за даље пречишћавање екстраката пре HPLC анализе коришћен је метод екстракције на чврстој фази (SPE-Solid Phase Extraction). Agilent Sampli QOPT кертрици кондиционирани су са 3 ml метанола и

еквилибрисани са 3 ml дестиловане воде. Додато је 0.5 ml екстракта листа, односно 1 ml екстракта цвета или стабљике са 2 ml воде. Испирање је вршено са 3 ml 5% метанола, а елуција са 3 ml 80% метанола, 2 ml 90% метанола и 5 ml 100% метанола (170). Пре HPLC анализе добијени екстракти филтрирани су кроз мембранске филтере (0.45 μm).

HPLC анализа изофлавона

Зорбах СБЦ18 колоном (4.6 x 250 mm, 5 μm) вршена је сепарација изофлавона. Мобилна фаза са стојала се од два растварача: А (вода подешена на $\text{pH}=2.7$ са сумпорном киселином) и Б (ацетонитрил). Услови HPLC анализе били су као у раду Krenn et al. (2002). Примењен је следећи градијентни програм: 0-35 min од 20 до 35% Б, 35-45 min од 37 до 100% Б, 45-50 min 100% Б, 50-51 min од 100 до 20% Б, 51-61 min 20% Б, уз пост тиме од 15 min 20% Б. Проток је био 1 ml/min, а таласна дужина детекције 254 nm. Ињекциони волумен износио је 10 μl , а анализа је вршена при константној температури од 25°C.

На основу ретенционог времена и УВ спектра одговарајућих стандардних супстанци утврђени су изофлавони – даидзеин, генистеин, формонетин, биоханин А. Стандарди су растворани у 80% етанолу, а од основних раствора припремана су одређена разблажења за калибрацију. Конструисане су калибрационе криве од пет тачака за сваки стандард, са коефицијентом корелације $r \geq 0.999$. Изофлавони у узорцима су квантификовани преко калибрационих крива.



Графикон 3. Калибрационе праве за прерачунавање вредности количине даидзеина, биоханина А, формононетина и генистеина

3.4. Супстанце и реагенси коришћени у раду

У раду су коришћени:

1. Ацетонитрил HPLC чистоће – J.T. Baker (Холандија),
2. Етанол (96%) – Зорка фарм (Србија),
3. Сумпорна киселина п.а. - РТБ (Србија),
4. Хлороводонична киселина (35%) – РОСН (Пољска),
5. Дестилована вода, ТКА систем за пречишћавање воде тип 05.30С 7-DEN, Завод за фармацију, Нови Сад,
6. Стандардне супстанце: даидзеин, генистеин - ChromaDex (SAD),

7. Стандардне супстанце: формонетин ($\geq 99\%$), биоханин А - Sigma-Aldrich,
8. Метанол и натријум хидрогенкарбонат (NaHCO_3) добијени су од „Зорка фарма” Шабац, Србија,
9. Гална киселина, рутин хидрат и 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (DPPH) реагенс добијени су од Sigma Chemicals Co., St Louis, MO, USA,
10. Folin-Ciocalteu реагенс, 3-терц-бутил-4-хидроксианизол (BHA) и алуминијум хлорид (AlCl_3) су од произвођача Fluka Chemie AG, Buchs, Швајцарска.

3.5. Статистичка обрада резултата истраживања

Статистичка анализа добијених података извршена је применом програмског пакета Statistica 10 (StatSoft).

Поређење средњих вредности испитиваних морфолошких параметара је вршено једнофакторијалном анализом варијансе, за обе посматране године посебно. За особине код којих се ANOVA-ом утврдило постојање статистички значајних разлика између популација, на нивоу $p < 0.01$, урађен је post hoc тест. За податке из прве године, где је број анализираних биљака био једнак код свих популација, је коришћен Фишеров LSD тест док је за податке из друге године коришћен unequal N HSD тест. За поређење средњих вредности једне популације у различитим годинама није могуће користити класичну анализу варијанси зато што поновљена мерења нису независна. Због тога је за ову намену коришћена анализа варијанси са поновљеним мерењима (repeated measure ANOVA) и одговарајући unequal N HSD тест.

Како би се утврдила корелација између особина независно од анализираних популација, урађен је парцијални коефицијент корелације.

Метода главних компоненти (PCA) и кластер анализа је примењена на матрицу средњих вредности морфолошких особина, добијених у обе посматране године. Помоћу ове методе се јасније уочава однос популација и особина унутар сваке године а такође се уочавају и разлике између појединих година. Графички су приказане осе чије су сопствене вредности веће од 1.

Да би се утврдио значај сваке од морфолошких особине на разликовање (раздвајање) популација извршена је једнофакторијална МАНОВА и одговарајућа дискриминантна анализа. Најважнији резултат МАНОВЕ је вредност параметра Wilks' lambda (Λ) помоћу којег се тестира хипотеза да постоји статистички значајна разлика између средина уколико посматрамо све морфолошке параметре обједињено. Wilks' lambda узима вредност између нуле и јединице при чему вредности блиске нули указују на постојање статистички значајних разлика између популација. Дискриминантном анализом је утврђен допринос сваке појединачне особине на раздвајање популација. Ова анализа се своди на израчунавање параметра Wilks' lambda модела у коме је посматрана особине избачена. Високе вредности овако израчунатог параметра Wilks' lambda указују на то да је избацивањем посматране особине дошло до знатног уједначавања популација што указује на висок значај посматране особине на раздвајање популација. Уколико пак, применом дискриминантне анализе Wilks' lambda има ниску вредност, закључујемо да брисањем посматране особине није дошло до значајног уједначавања популација, што указује на то да дотична особина не утиче значајно на раздвајање.

Анализа свих анатомских особина листа (осим дебљине централног нерва) је извршена применом једнофакторијалне АНОВА-е са поновљеним мерењима (one-way repeated measure ANOVA), при чему је за фактор узета популација, док су појединачни лисни пресеци узети за поновљена мерења. Дебљина централног нерва је анализирана једнофакторијалном анализом варијанси. Матрица са просечним вредностима анатомских особина листа је анализирана методом главних компоненти.

Анализа хемијских параметара суве масе, количине секундарних метаболита и изофлавона је извршена методом главних компоненти.

4. Резултати истраживања

4.1. Резултати анализе врсте *Trifolium pratense*

Од почетних 18 популација које су укључене у пољски експеримент, за анализу је одабрано 10 (ИС042, ИС043, ИС077, РА089, РА100, РА123, ТА055, ТА097, ЦС108 и ЦС118). У 2010. години је анализирано 40 биљака по популацији. Процент преживелих биљака по популацији у 2011. години је дат у табели 6.

Табела 6. Процент преживелих биљака популација врсте *Trifolium pratense* у 2011. години.

популација	ИС042	ИС043	ИС077	РА089	РА100	РА123	ТА055	ТА097	ЦС108	ЦС118
% преживелих у 2011. год.	80 %	88 %	88 %	88 %	93 %	88 %	93 %	100 %	88 %	80 %

4.1.1. Морфолошке особине

За сваку од посматраних морфолошких особина и сваку годину је извршена једнофакторијална анализа варијансе. Резултати су дати у табели 7. Статистички значајна разлика између популација, на прагу значајности $p < 0.01$, се јавила код свих особина у обе посматране године.

Табела 7. Једнофакторијална анализа варијансе праћених морфолошких особина врсте *Trifolium pratense*.

особина	2010. година		2011. година	
	F	p	F	p
зелена маса	22.4	0.0000	10.3	0.0000
висина	19.7	0.0000	4.8	0.0000
број изданака	8.5	0.0000	10.1	0.0000
број интернодија	8.8	0.0000	3.5	0.0007
број грана	8.9	0.0000	3.3	0.0012
дужина листа	10.7	0.0000	3.8	0.0003
ширина листа	11.6	0.0000	4.6	0.0000

Принос зелене масе

У табели 8 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем зелене масе појединачних биљака врсте *T. pratense*.

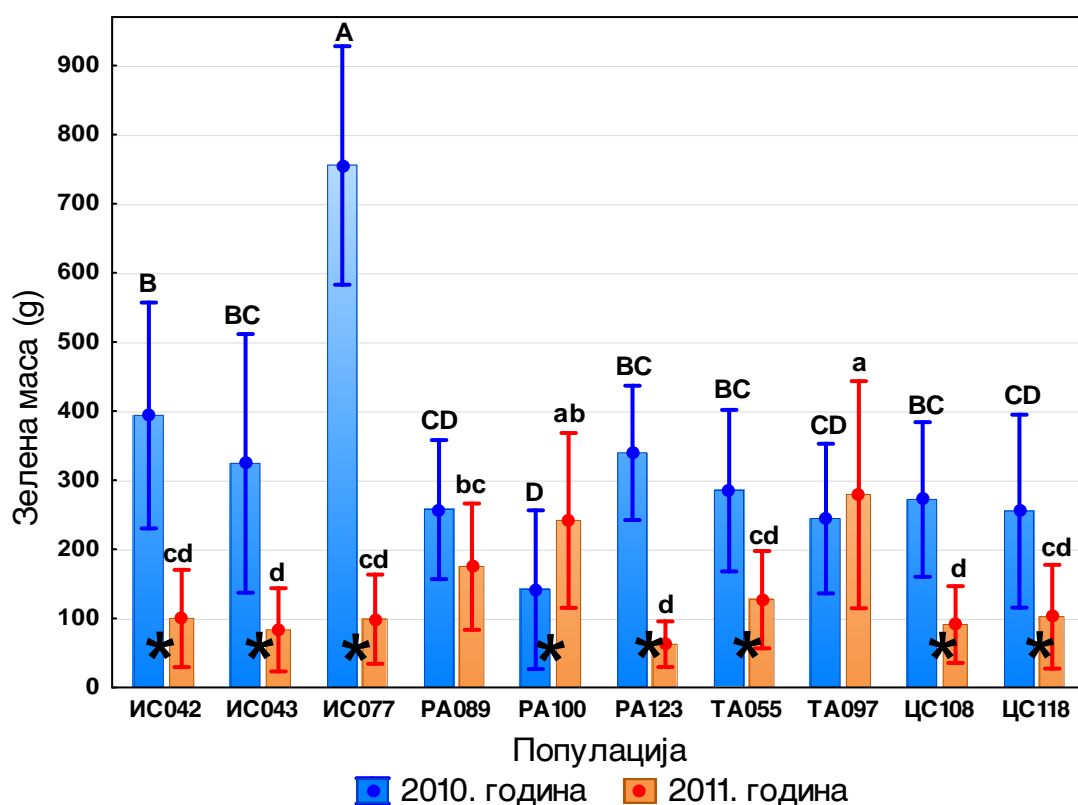
Табела 8. Просечне вредности зелене масе (g), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	394 ± 163 (42%)	100 ± 70 (71%)	-75 %
ИС043	324 ± 187 (58%)	83 ± 60 (72%)	-74 %
ИС077	755 ± 173 (23%)	99 ± 64 (65%)	-87 %
РА089	257 ± 101 (39%)	175 ± 91 (52%)	-32 %
РА100	142 ± 115 (81%)	242 ± 126 (52%)	70 %
РА123	339 ± 97 (29%)	63 ± 33 (53%)	-81 %
ТА055	285 ± 117 (41%)	127 ± 70 (55%)	-55 %
ТА097	244 ± 108 (44%)	279 ± 164 (59%)	14 %
ЦС108	272 ± 112 (41%)	91 ± 56 (61%)	-67 %
ЦС118	255 ± 140 (55%)	102 ± 75 (73%)	-60 %
просек	326.7	136.1	-58%

У 2010. години просечан принос зелене масе варира у опсегу од 142 g (РА100) до 755 g (ИС077). Највећи коефицијент варијације има популација РА100 и он износи 81%, али и код већег броја других популација се запажају такође високе вредности овог параметра (ИС043 – 58%, ЦС118 – 55%). Најмања варијабилност у зеленој маси појединачних биљака се јавља унутар популације ИС077 (23%). Са графикона 4 се уочава да је у 2010. години статистички значајно виши просечни принос зелене масе имала популација ИС077 (755 g) у поређењу са осталим популацијама.

Просечан принос зелене масе креће се у опсегу од 63 g (РА123) до 279 g (ТА097) током 2011. Коефицијенти варијације узимају вредности од 52% (РА089 и РА100) до 73% (ЦС118). Коефицијент варијације у 2011. години се повећао код свих популација осим код РА100. У 2011. години статистички најбоље резултате имају ТА097 (279 g) и РА100 (242 g).

У 2011. години само РА100 и ТА097 бележе повећање просечног приноса зелене масе при чему је ово повећање статистички значајно код РА100. Код осталих популација је забележено смањење просечног приноса зелене масе. Ово смањење није статистички значајно једино код РА089. Статистички значајне разлике између година су приказане на графикону 4.



Графикон 4. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за зелену масу (g) популација врсте *T. pratense*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Принос суве материје

Принос суве материје код популација црвене детелине у 2010. години се кретао од 34.1 g (РА100) до 188.8 g (ИС077) (Табела 9).

Табела 9. Просечне вредности суве материје (g) по популацији, приказане за 2010. и 2011. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	98.5 ± 40.8	20.0 ± 14.0	-80%
ИС043	77.8 ± 44.9	16.2 ± 11.7	-79%
ИС077	188.8 ± 43.3	19.0 ± 12.3	-90%
РА089	64.3 ± 25.3	37.6 ± 19.6	-42%
РА100	34.1 ± 27.6	48.4 ± 25.2	42%
РА123	91.5 ± 26.2	13.2 ± 6.9	-86%
ТА055	68.4 ± 28.1	27.9 ± 15.4	-59%
ТА097	53.7 ± 23.8	61.4 ± 36.1	14%
ЦС108	78.9 ± 32.5	19.7 ± 12.1	-75%
ЦС118	71.4 ± 39.2	21.3 ± 15.7	-70%
просек	82.7	28.5	-65%

Поред популације ИС077 добрим приносом суве материје одликују се и популације ИС042 (98.5 g) и РА123 (91.5 g). Са падом вредности зелене масе сразмерно опада и вредност суве материје у 2011. години. Највише суве материје добијено је у популацији ТА097 (61.4 g) док је најмање измерено у популацији РА123 (13.2 g).

Висина биљака

У табели 10 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем висине појединачних биљака врсте *T. pratense*.

Табела 10. Просечне вредности висине (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

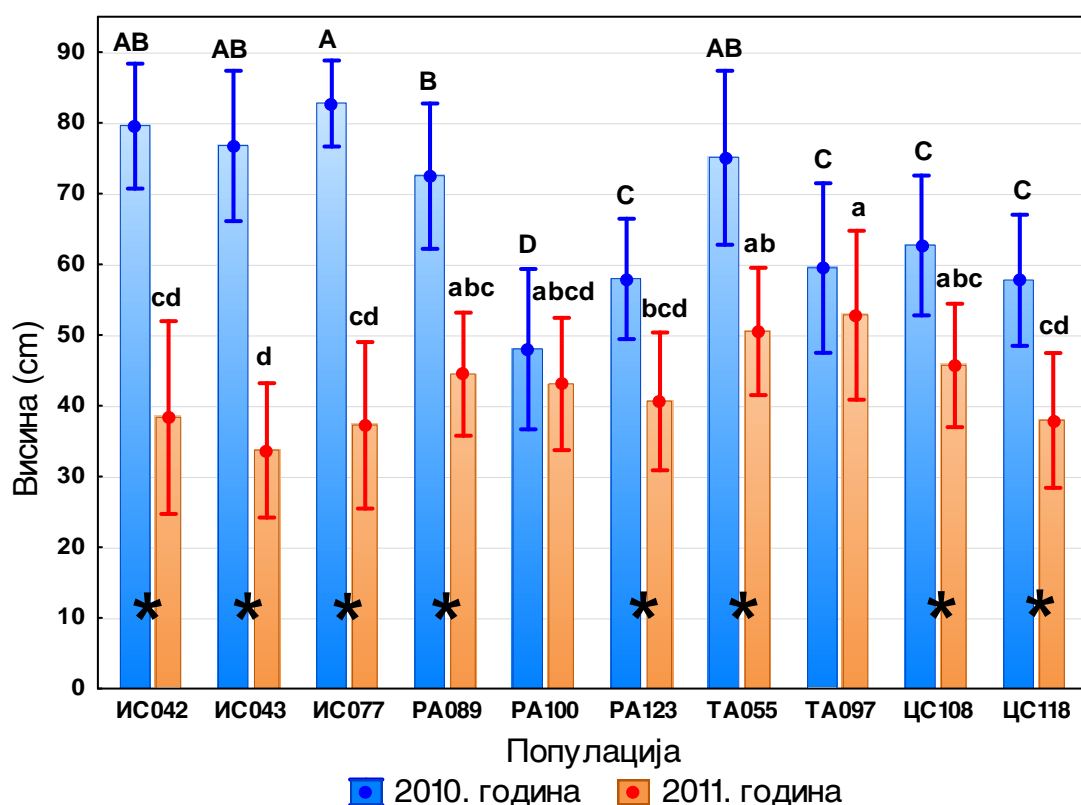
популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	79.5 ± 8.8 (11%)	38.3 ± 13.6 (36%)	-52 %
ИС043	76.7 ± 10.6 (14%)	33.7 ± 9.5 (28%)	-56 %
ИС077	82.7 ± 6.1 (7%)	37.2 ± 11.8 (32%)	-55 %
РА089	72.5 ± 10.3 (14%)	44.5 ± 8.7 (20%)	-39 %
РА100	48 ± 11.3 (24%)	43.1 ± 9.4 (22%)	-10 %
РА123	57.9 ± 8.5 (15%)	40.6 ± 9.7 (24%)	-30 %
ТА055	75.1 ± 12.3 (16%)	50.5 ± 9 (18%)	-33 %
ТА097	59.5 ± 12 (20%)	52.8 ± 11.9 (23%)	-11 %
ЦС108	62.7 ± 9.9 (16%)	45.7 ± 8.7 (19%)	-27 %
ЦС118	57.7 ± 9.3 (16%)	37.9 ± 9.5 (25%)	-34 %
просек	67.2	42.4	-37%

У 2010. години просечна висина варира у опсегу од 48 cm (РА100) до 82.7 cm (ИС077). Коефицијенти варијације су релативно мали и крећу се од 7% (ИС077) до 24% (РА100). Са графикана 5 се уочава да су статистички најбоље резултате оствариле популације ИС077 (82.7 cm), ИС042 (79.4 cm), ИС043 (76.7 cm) и ТА055 (75.1 cm).

Код свих популација је дошло до смањења просечне висине биљака у 2011. години. Ово смањење се креће од 10% (РА100) до 56% (ИС043). Висина се једино код РА100 и ТА097 није статистички значајно смањила (Графикон 5).

У 2011. години висина варира у опсегу од 33.7 cm (ИС043) до 52.8 cm (ТА097). Коефицијенти варијације су знатно виши него у 2010. години и крећу се од 18% (ТА055) до 36% (ИС042). Статистички највећу вредност просечне висине у 2011. години су имале популације ТА097 (52.8 cm), ТА055 (50.5 cm), ЦС108 (45.7 cm), РА089 (44.5 cm) и РА100 (43.1 cm).

Популација ТА097 која је била међу најлошијим у 2010.-ој, имала је највишу вредност у 2011.



Графикон 5. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за висину (cm) биљака популација врсте *T. pratense*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Број изданака

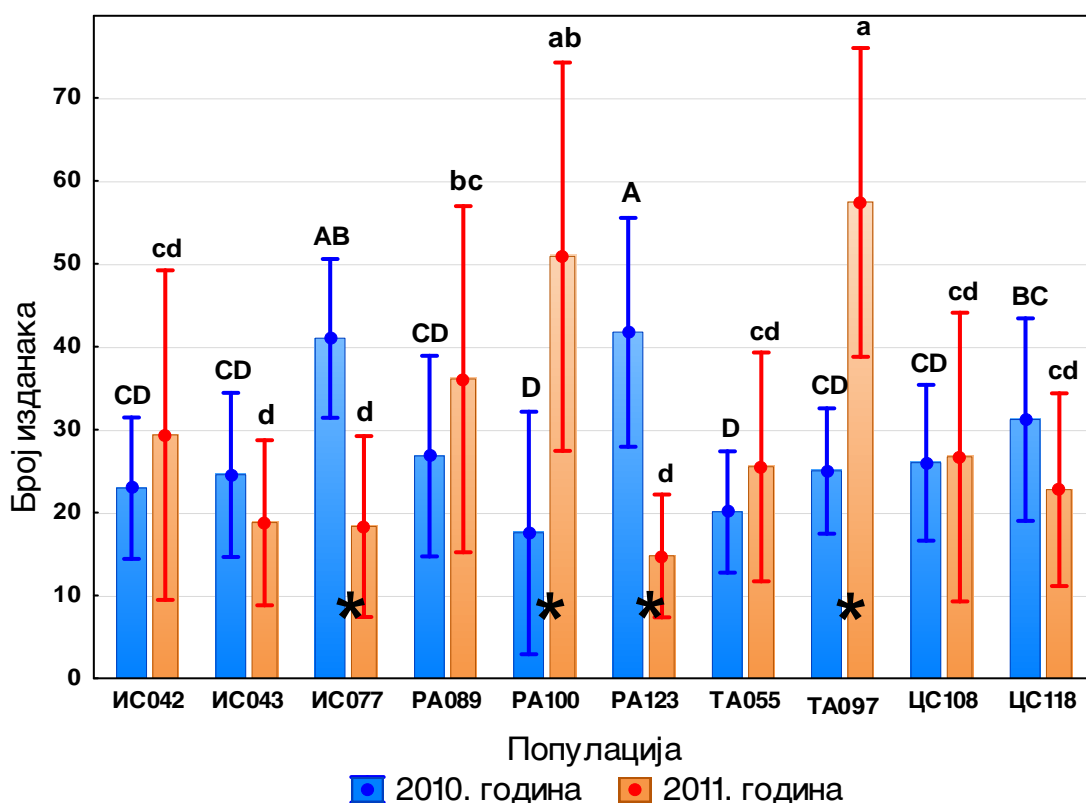
У табели 11 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја изданака појединачних биљака врсте *T. pratense*.

У 2010. години просечан број изданака варира у опсегу од 17.5 (РА100) до 41.7 (РА123). Коефицијенти варијације се крећу од 23% (ИС077) до 83% (РА100).

Табела 11. Просечне вредности броја изданака, стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	22.9 ± 8.5 (37%)	29.3 ± 19.9 (68%)	28 %
ИС043	24.5 ± 9.9 (40%)	18.8 ± 10.0 (53%)	-23 %
ИС077	41.0 ± 9.6 (23%)	18.3 ± 10.9 (60%)	-55 %
РА089	26.8 ± 12.1 (45%)	36.1 ± 20.9 (58%)	35 %
РА100	17.5 ± 14.6 (83%)	50.9 ± 23.4 (46%)	191 %
РА123	41.7 ± 13.8 (33%)	14.8 ± 7.4 (50%)	-65 %
ТА055	20.1 ± 7.3 (36%)	25.5 ± 13.8 (54%)	27 %
ТА097	25.0 ± 7.6 (30%)	57.4 ± 18.6 (32%)	130 %
ЦС108	26.0 ± 9.4 (36%)	26.7 ± 17.4 (65%)	3 %
ЦС118	31.2 ± 12.2 (39%)	22.8 ± 11.6 (51%)	-27 %
просек	27.67	30.06	24%

У 2011. години просечан број изданака варира између 14.8 (РА123) и 57.4 (ТА097). Коефицијенти варијације су и у овој години високи и крећу се од 32% (ТА097) до 68% (ИС042).



Графикон 6. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број изданака популација врсте *T. pratense*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звездике приказују статистички значајне разлике између година.

У 2011. години број изданака се статистички значајно повећао код популације РА100 која бележи повећање од 191% као и код ТА097 која има 130% већи број изданака у 2011. години. Број изданака се статистички значајно смањио код РА123 (65%) као и код ИС077 (55%) (Графикон 6).

Број интернодија

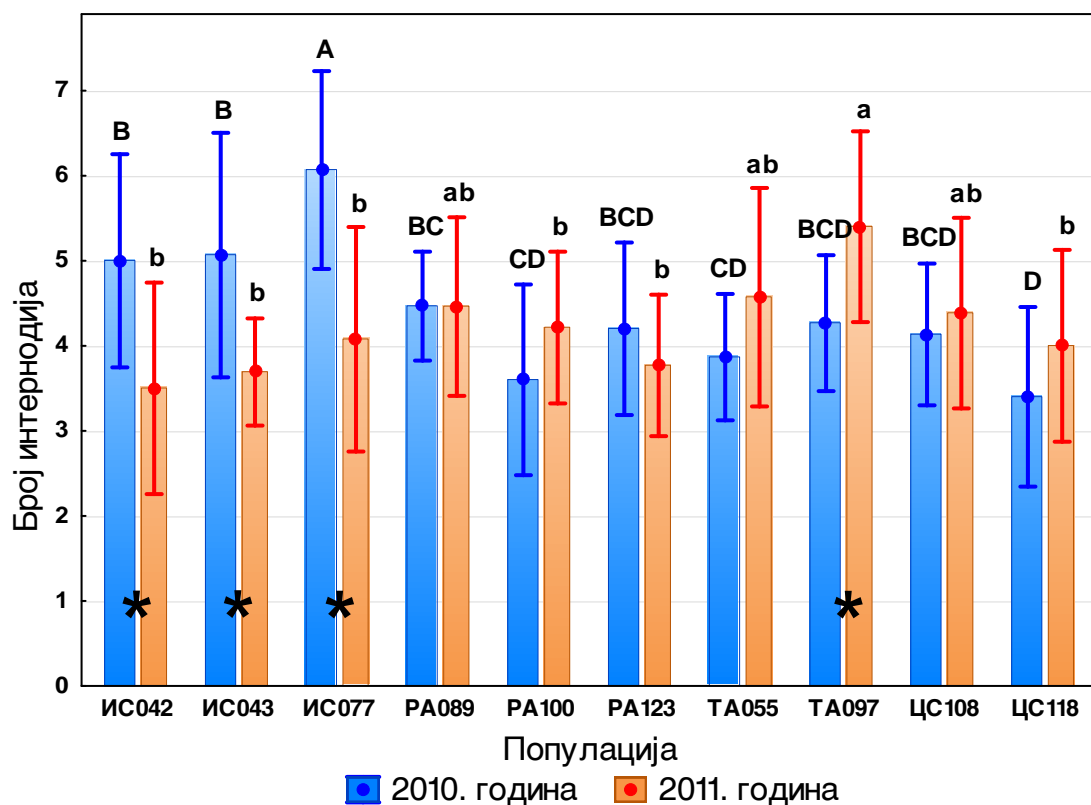
У табели 12 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја интернодија појединачних биљака врсте *T. pratense*.

Табела 12. Просечне вредности броја интернодија, стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	5.00 ± 1.25 (25%)	3.50 ± 1.24 (36%)	-30 %
ИС043	5.07 ± 1.44 (28%)	3.69 ± 0.63 (17%)	-27 %
ИС077	6.07 ± 1.16 (19%)	4.08 ± 1.32 (32%)	-33 %
РА089	4.47 ± 0.64 (14%)	4.46 ± 1.05 (24%)	0 %
РА100	3.60 ± 1.12 (31%)	4.21 ± 0.89 (21%)	17 %
РА123	4.20 ± 1.01 (24%)	3.77 ± 0.83 (22%)	-10 %
ТА055	3.87 ± 0.74 (19%)	4.57 ± 1.28 (28%)	18 %
ТА097	4.27 ± 0.80 (19%)	5.40 ± 1.12 (21%)	26 %
ЦС108	4.13 ± 0.83 (20%)	4.38 ± 1.12 (26%)	6 %
ЦС118	3.40 ± 1.06 (31%)	4.00 ± 1.13 (28%)	18 %
просек	4.41	4.21	-2%

У 2010. година просечан број интернодија се креће од 3.40 (ЦС118) до 6.07 (ИС077). Коефицијенти варијације се налазе у опсегу од 14% (РА089) до 31% (ЦС118). Популација ИС077 има статистички значајно већи број интернодија (6.07) од осталих популација (Графикон 7).

У 2011. години просечан број интернодија се налази у опсегу између 3.5 и 5.4. Коефицијент варијације се креће између 17% (ИС043) и 36% (ИС042). Статистички највећи број интернодија у 2011. години су имале популације ТА097 (5.4), ТА055 (4.57), РА089 (4.46) и ЦС108 (4.38).



Графикон 7. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број интернодија популација врсте *T. pratense*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звездике приказују статистички значајне разлике између година.

Три популације из источне Србије (ИС042, ИС043 и ИС077) које су имале највише вредности просечног броја интернодија у 2010. години, бележе статистички значајно смањење ове особине у 2011. години (Графикон 7), које се у процентима креће од 27% (ИС043) до 33% (ИС077). Статистички значајан раст у 2011. је установљен код популације ТА097 те она у 2011. години има и највећи просечан број интернодија (5.4). Остале популације нису забележиле статистички значајну промену просечног броја интернодија у 2011. години.

Број бочних грана

У табели 13 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја бочних грана појединачних биљака врсте *T. pratense*.

У 2010. години број бочних грана се креће у интервалу од 3.47 (РА100) до 5.6 (ИС077). Коефицијенти варијације су релативно ниски и уједначени код

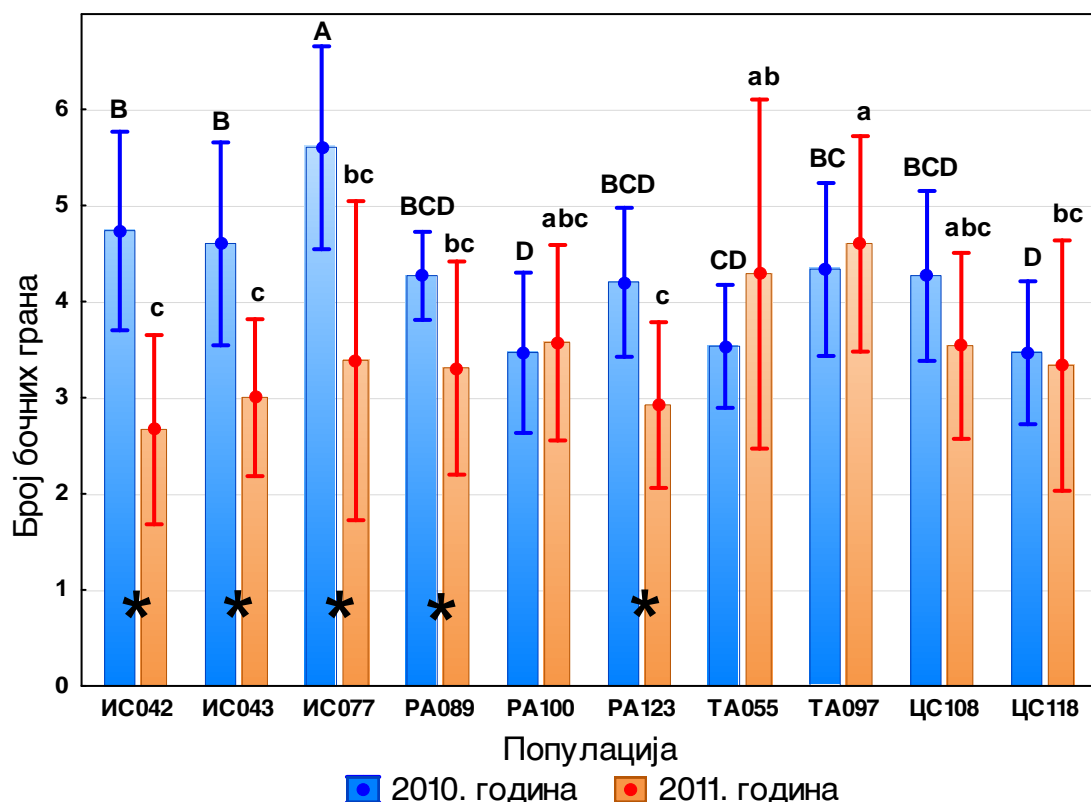
свих популација а крећу се од 11% (РА089) до 24% (РА100). Популација ИС077 је забележила статистички највећи број бочних грана (5.6) у поређењу са осталим популацијама.

Табела 13. Просечне вредности броја бочних грана, стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	4.73 ± 1.03 (22%)	2.67 ± 0.98 (37%)	-44 %
ИС043	4.6 ± 1.06 (23%)	3 ± 0.82 (27%)	-35 %
ИС077	5.6 ± 1.06 (19%)	3.38 ± 1.66 (49%)	-40 %
РА089	4.27 ± 0.46 (11%)	3.31 ± 1.11 (34%)	-22 %
РА100	3.47 ± 0.83 (24%)	3.57 ± 1.02 (28%)	3 %
РА123	4.2 ± 0.77 (18%)	2.92 ± 0.86 (30%)	-30 %
ТА055	3.53 ± 0.64 (18%)	4.29 ± 1.82 (42%)	22 %
ТА097	4.33 ± 0.9 (21%)	4.6 ± 1.12 (24%)	6 %
ЦС108	4.27 ± 0.88 (21%)	3.54 ± 0.97 (27%)	-17 %
ЦС118	3.47 ± 0.74 (21%)	3.33 ± 1.3 (39%)	-4 %
просек	4.25	3.46	-16%

У 2011. години број бочних грана се налази у опсегу између 2.67 (ИС042) и 4.6 (ТА097). Статистички најбоље резултате у 2011. години су оствариле популације ТА097, ТА055, ЦС108 и РА100 (Графикон 8). Коефицијент варијације је код свих популација већи него у 2010. години и он се у 2011. години креће између 24% (ТА097) и 49% (ИС077).

Код популација које су у 2010. години имале најбоље резултате (ИС042, ИС043, ИС077, РА089 и РА123) дошло је до статистички значајног смањења броја бочних грана тако да ове популације у 2011. години бележе просечне и исподпросечне резултате.



Графикон 8. Средње вредности, стандардне девијације и *post hoc* тестови за број бочних грана популација врсте *T. pratense*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звездице приказују статистички значајне разлике између година.

Дужина листа

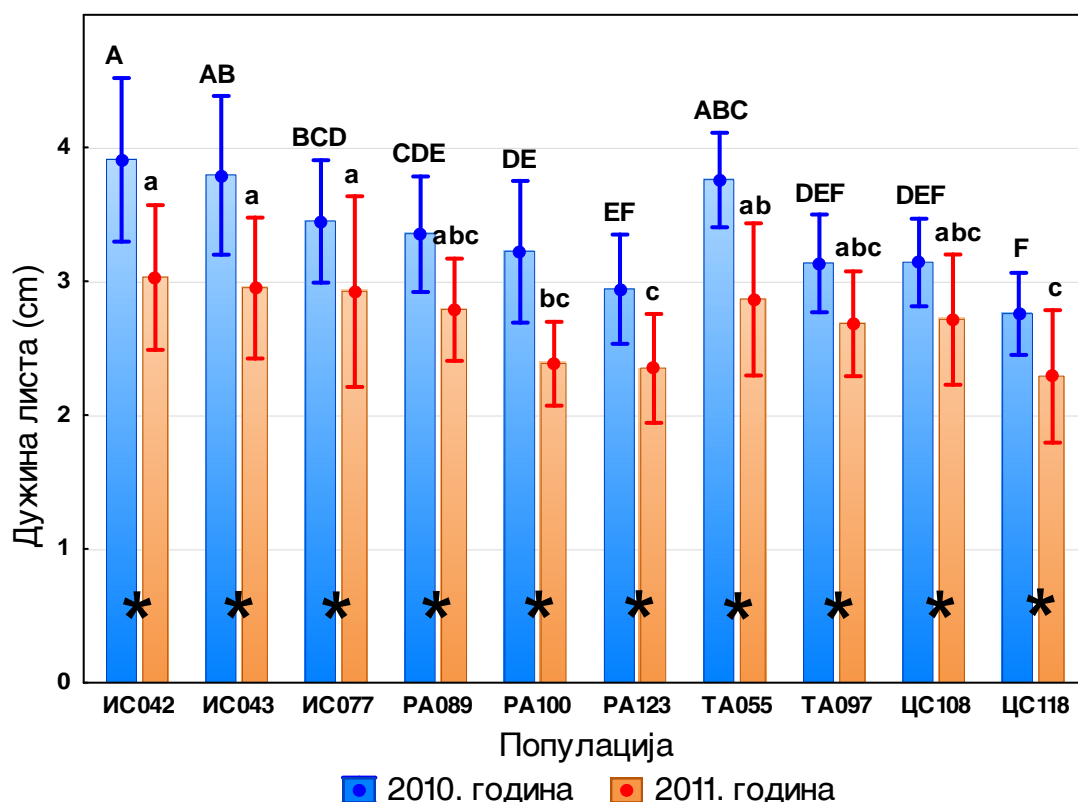
У табели 14 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем дужине листа појединачних биљака врсте *T. pratense*.

У 2011. години просечна дужина листа се налази између 2.29 cm (ЦС118) и 3.03 cm (ИС042). Коефицијенти варијације су већи него у 2010-ој а крећу се између 13% (РА100) и 24% (ИС077). Међу седам популација које су у 2011. години оствариле највећу дужину листа нема статистички значајних разлика (Графикон 9).

У 2011. години код свих популација је дошло до статистички значајног смањења дужине листа. Највеће смањење у процентима је забележила популација РА100 (26%) док је најмања просечна промена дужине листа била код популација ТА097 и ЦС108 (14%).

Табела 14. Просечне вредности дужине листа (cm), стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	3.91 ± 0.61 (16%)	3.03 ± 0.54 (18%)	-23 %
ИС043	3.79 ± 0.59 (16%)	2.95 ± 0.53 (18%)	-22 %
ИС077	3.45 ± 0.46 (13%)	2.92 ± 0.71 (24%)	-15 %
РА089	3.35 ± 0.43 (13%)	2.79 ± 0.38 (14%)	-17 %
РА100	3.22 ± 0.53 (16%)	2.38 ± 0.31 (13%)	-26 %
РА123	2.94 ± 0.41 (14%)	2.35 ± 0.41 (17%)	-20 %
ТА055	3.76 ± 0.35 (9%)	2.86 ± 0.57 (20%)	-24 %
ТА097	3.13 ± 0.37 (12%)	2.68 ± 0.39 (15%)	-14 %
ЦС108	3.14 ± 0.33 (10%)	2.71 ± 0.49 (18%)	-14 %
ЦС118	2.76 ± 0.31 (11%)	2.29 ± 0.5 (22%)	-17 %
просек	3.35	2.70	-19%



Графикон 9. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за дужину листа (cm) популација врсте *T. pratense*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Ширина листа

У табели 15 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем ширине листа појединачних биљака врсте *T. pratense*.

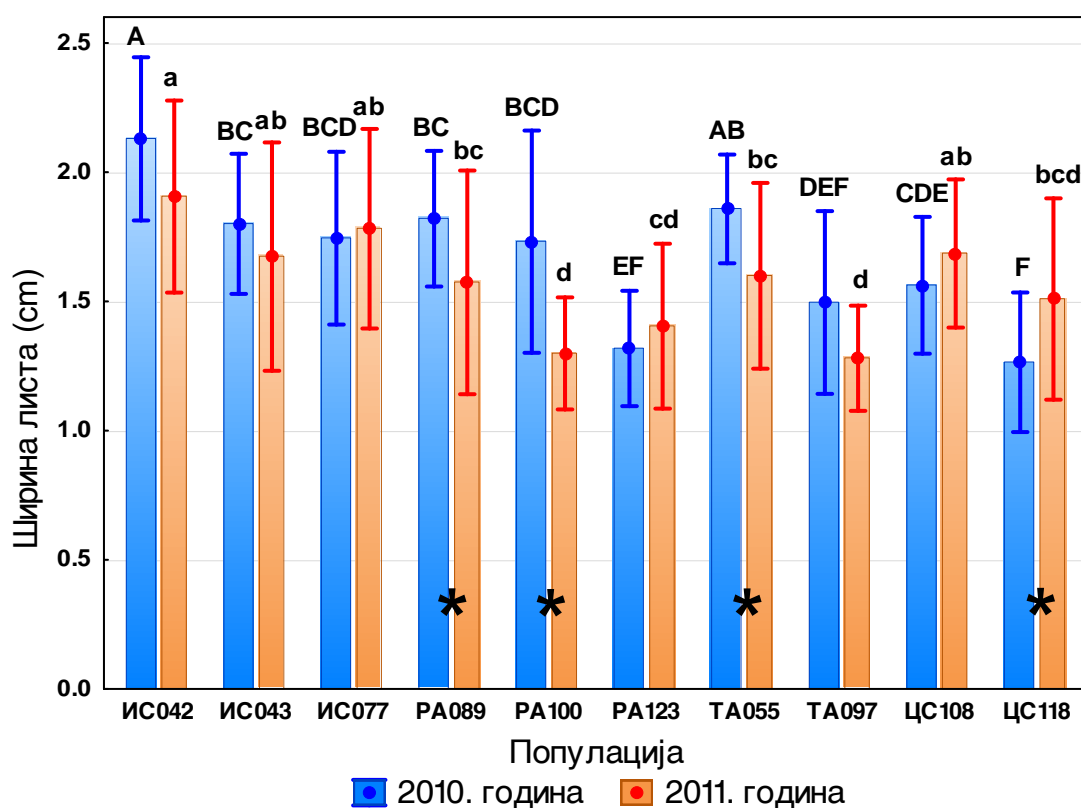
Табела 15. Просечне вредности ширине листа (cm), стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС042	2.13 ± 0.32 (15%)	1.91 ± 0.37 (20%)	-10 %
ИС043	1.8 ± 0.27 (15%)	1.67 ± 0.44 (26%)	-7 %
ИС077	1.74 ± 0.33 (19%)	1.78 ± 0.39 (22%)	2 %
РА089	1.82 ± 0.26 (14%)	1.57 ± 0.43 (28%)	-14 %
РА100	1.73 ± 0.43 (25%)	1.3 ± 0.22 (17%)	-25 %
РА123	1.32 ± 0.22 (17%)	1.4 ± 0.32 (23%)	6 %
ТА055	1.86 ± 0.21 (11%)	1.6 ± 0.36 (22%)	-14 %
ТА097	1.5 ± 0.35 (24%)	1.28 ± 0.2 (16%)	-15 %
ЦС108	1.56 ± 0.26 (17%)	1.69 ± 0.29 (17%)	8 %
ЦС118	1.26 ± 0.27 (21%)	1.51 ± 0.39 (26%)	20 %
просек	1.67	1.57	-5%

У 2010. години распон вредности просечне ширине листа се крећу од 1.26 cm (ЦС118) до 2.13 cm (ИС042). Са графикана 10 се уочава да су статистички највећу ширину листа имале популације ИС042 (2.13 cm) и ТА055 (1.86 cm).

У 2011. години просечна ширина листа се креће у опсегу вредности од 1.28 cm (ТА097) до 1.91 cm (ИС042). Статистички најбоље резултате су оствариле популације ИС042 (1.91 cm), ИС077 (1.78 cm), ЦС108 (1.69 cm) и ИС043 (1.67 cm).

У 2011. години статистички значајан пад просечне ширине листа су забележиле популације РА100 (25%), РА089 (14%) и ТА055 (14%), док је популација ЦС118 забележила статистички значајан раст просечне ширине листа у износу од 20% (Графикон 10). Код осталих популација није забележена статистички значајна промене просечне ширине листа.



Графикон 10. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за ширину листа (cm) популација врсте *T. pratense*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Корелације морфолошких особина

Како би се утврдио однос посматраних морфолошких особина, независно од утицаја популација, израчунати су парцијални коефицијенти корелације. Резултати ове анализе су дати у табели 16.

Табела 16. Парцијални коефицијенти корелације морфолошких особина врсте *Trifolium pratense* у 2010. години.

	зелена маса	висина	број изданака	број интернодија	бр. бочних грана	дужина листа	ширина листа
маса		***	***	***	***		
висина	0.536			***	***	***	***
бр. изданака	0.594	0.119		*	**		
бр. интернодија	0.481	0.432	0.198		***	**	
бр. бочних грана	0.507	0.422	0.241	0.851		***	***
дужина листа	0.126	0.332	-0.067	0.215	0.334		***
ширина листа	0.112	0.278	-0.095	0.132	0.278	0.709	

корелације су статистички значајне на нивоу (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

Као што се из приложених табела види, израчунавањем је добијен велики број статистички значајних корелација.

Високо значајне позитивне корелације су се јавиле између броја бочних грана и броја интернодија. Зелена маса је високо корелисана са висином, бројем изданака, бројем интернодија и бројем бочних грана. Корелација са нивоом значајности од 99.9% се јавила такође између висине и броја интернодија, броја бочних грана, дужине и ширине листа. Број бочних грана је високо корелисан са дужином и ширином листа. На нивоу од 99.9% корелисане су дужина и ширина листа међусобно.

Мултиваријациона анализа морфолошких особина

Једнофакторијална МАНОВА је показала да у обе посматране године постоји статистички значајна разлика између популација уколико посматрамо све морфолошке особине заједно (у 2010. години је Wilk's $\Lambda = 0.066$, $F = 7.51$, $p < 0.0001$, док је у 2011. години Wilk's $\Lambda = 0.207$, $F = 3.778$, $p < 0.0001$).

Да би се установио значај сваке појединачне особине на раздвајање популација, примењена је дискриминантна анализа за сваку годину посебно (табела 17).

Табела 17. Дискриминантна анализа морфолошких особина популација врсте *Trifolium pratense*.

	2010. година			2011. година		
	Wilk's Λ	p	R ²	Wilk's Λ	p	R ²
зелена маса	0.105	0.0000	0.426	0.235	0.0922	0.520
висина	0.104	0.0000	0.182	0.241	0.0349	0.375
бр. изданака	0.093	0.0000	0.371	0.245	0.0179	0.410
бр. интернодија	0.074	0.0434	0.656	0.223	0.4535	0.489
бр. бочних грана	0.069	0.6952	0.657	0.220	0.6209	0.597
дужина листа	0.078	0.0058	0.337	0.248	0.0103	0.429
ширина листа	0.081	0.0004	0.334	0.263	0.0008	0.405

У 2010. години статистички значајан утицај на раздвајање популација ($p < 0.01$) имају све особине осим броја интернодија и броја бочних грана. Највећи утицај на раздвајање популација имају зелена маса (Wilk's $\Lambda = 0.105$), висина (Wilk's $\Lambda = 0.104$) и број изданака (Wilk's $\Lambda = 0.093$). Ширина и

дужина листа у мањој мери доприносе раздвајању популација, док број бочних грана и број интернодија немају значајног утицаја на нивоу $p < 0.01$.

У 2011. години само ширина листа има статистички значајан допринос раздвајању популација на нивоу $p < 0.01$, док дужина листа, број изданака и висина имају статистички значајан утицај на нивоу $p < 0.05$. Поређећи ове резултате са 2010. годином закључујемо да су зелена маса, висина и број изданака изгубиле значај у раздвајању популација. До умањења значаја ових особина долази из два разлога:

1. Просечне вредности ових особина су у 2011. години забележиле највећи пад управо код најбољих популација из 2010. године док се коефицијент варијације значајно увећао.

2. Велики део варијабилности коју носи свака од особина (зелена маса, висина и број изданака) се може објаснити помоћу осталих особина, на пример посматрајући R^2 за масу уочавамо да се 52% варијабилности у маси може објаснити варијабилношћу осталих особина.

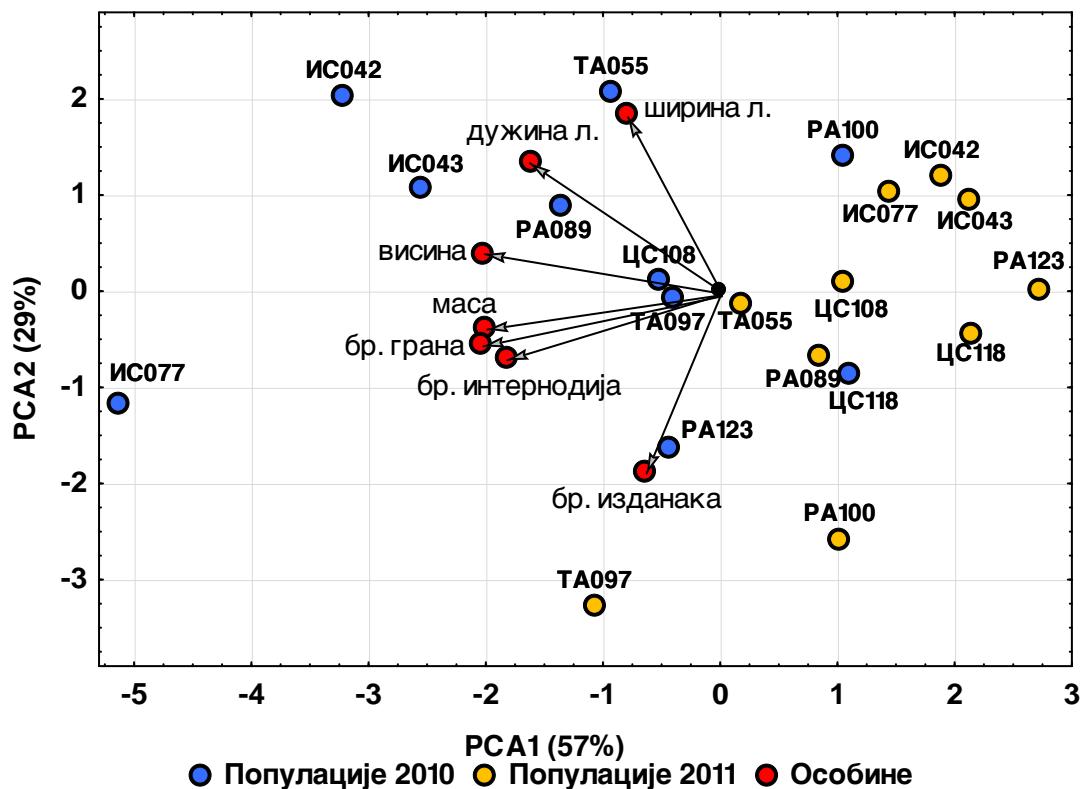
Ширина листа најјаче утиче на раздвајање популација пре свега због ниске варијабилности унутар популација, као и због ниских коефицијената корелације са осталим особинама.

Метода главних компоненти (РСА) је примењена на матрицу средњих вредности, како би се јасније уочио однос популација и њихових особина. Графички приказ резултата анализе главних компоненти је дат на графикону 11.

Анализа главних компоненти је показала да прве две осе обухватају 86% варијабилности морфолошких карактеристика, од тога на прву осу отпада 57% укупне варијабилности а на другу 29%.

Посматрајући хоризонталну осу уочава се да се на левој страни графика у највећој мери налазе популације из 2010. године што указује на чињеницу да су резултати у 2010. години били знатно бољи него у 2011. години. У 2010. убедљиво најбоље резултате постиже популација ИС077 која у свим посматраним морфолошким особинама, осим у случају дужине и ширине листа, бележи статистички најбоље резултате. Ипак у 2011. години ова популација бележи испод просечне резултате, што се виду по њеном положају

на крајње десној страни графика. Осим популације ИС077 одличне резултате у 2010. постижу популације ИС042 и ИС043, које се пре свега истичу високим вредностима за висину, дужину листа и ширину листа.



Графикон 11. Графички приказ резултата анализе главних компоненти морфолошких особина популација врсте *Trifolium pratense* у равни прве и друге осе.

Популације које су се најбоље прилагодиле лошим метеоролошким условима који су наступили током 2010. године су ТА097, РА100 и донекле ТА055. Популације ТА097 и РА100 у 2011. години бележе раст у просечном приносу зелене масе, броју бочних грана, броју интернодија и броју изданака. Такође ове две популације бележе и најмањи пад висине у односу на остале популације. Популација ТА055 у 2011. години бележи раст у просечном броју изданака, броју бочних грана и броју интернодија. Са друге стране највећи пад у посматраним особинама се јавља код популација ИС077, ИС043, ИС042 и РА123. ИС043 бележи смањење свих посматраних особина, ИС077 и РА123 једино у случају ширине листа бележе раст док ИС042 једино у случају броја изданака има повећање вредности.

4.1.2. Хемијски састав суве материје

На испитиваним популацијама врсте *Trifolium pratense* су мерене следеће хемијске карактеристике: сирови пепео, сирови протеини, сирова целулоза, сирове масти и безазотне екстрактивне материје (БЕМ). Просечне вредности су дате у табели 18.

Табела 18. Просечне вредности и стандардна девијација хемијских особина популација врсте *Trifolium pratense* изражене у процентима суве материје.

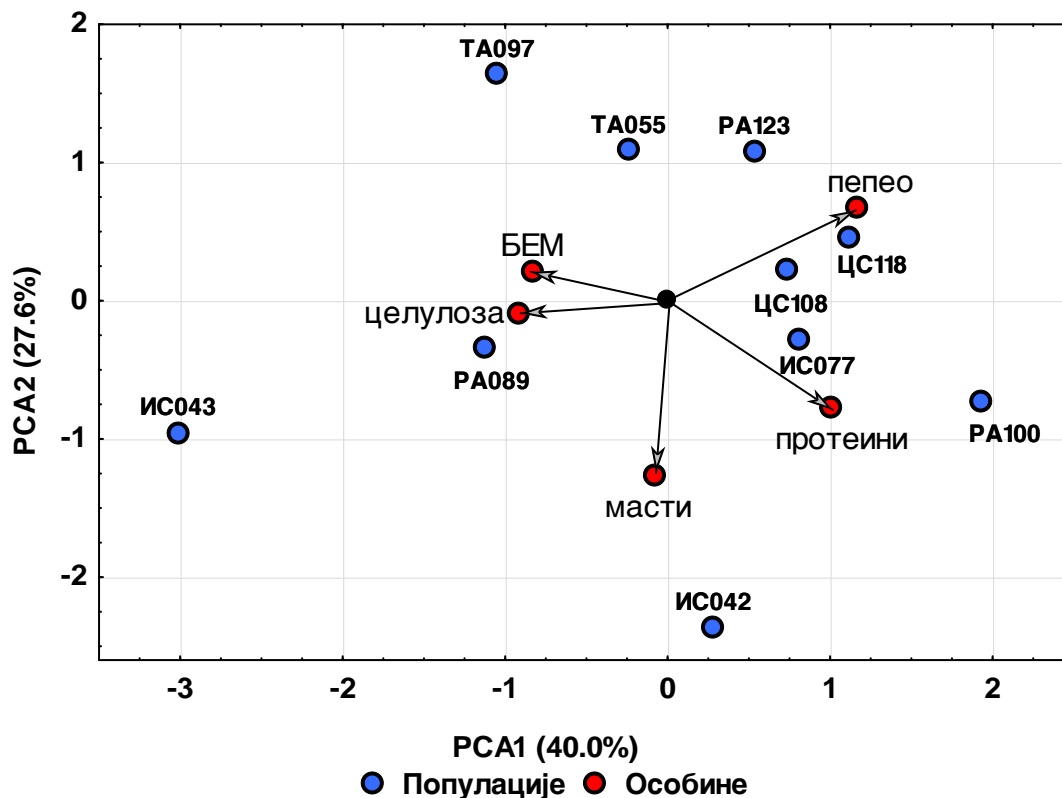
популација	пепео	протеини	целулоза	масти	БЕМ
ИС042	11.47 ± 1.05	17.96 ± 0.87	21.49 ± 1.40	4.11 ± 0.240	44.97 ± 1.97
ИС043	8.10 ± 0.71	16.03 ± 1.22	27.07 ± 2.56	3.16 ± 0.026	45.64 ± 2.93
ИС077	13.92 ± 1.33	17.06 ± 1.44	21.21 ± 1.28	3.27 ± 0.238	44.54 ± 2.84
РА089	12.75 ± 0.36	15.16 ± 0.06	24.70 ± 1.49	3.48 ± 0.052	43.91 ± 0.85
РА100	14.75 ± 0.77	18.07 ± 1.12	23.66 ± 2.29	3.14 ± 0.075	40.38 ± 3.41
РА123	13.89 ± 0.90	16.91 ± 0.36	22.97 ± 1.63	2.30 ± 0.137	43.93 ± 3.80
ТА 055	13.24 ± 1.28	16.21 ± 1.19	20.68 ± 1.32	2.62 ± 0.179	47.25 ± 3.05
ТА 097	13.56 ± 1.28	14.86 ± 0.41	24.18 ± 2.06	2.51 ± 0.247	44.89 ± 2.35
ЦС108	14.21 ± 1.19	16.78 ± 1.31	21.08 ± 0.67	3.06 ± 0.223	44.87 ± 2.46
ЦС118	14.42 ± 1.08	17.27 ± 0.69	23.35 ± 1.09	2.61 ± 0.243	42.35 ± 2.69
просек	13.03	16.63	23.04	3.03	44.27

Процент протеина у сувој материји се кретао од 14.86% (ТА097) до 18.07% (РА100). Вредности за целулозу су биле у распону од 20.68% (ТА055) до 27.07% (ИС043). Количина пепела је имала најнижу вредност у узорку из популације ИС043 (8.1%), а највишу унутар популације РА100 (14.75%). Процент масти је најнижи код популације РА123 (2.3%) а највиши код ИС042 (4.11%). Процентуална вредност безазотних материја се креће од 40.38% (РА100) до 47.25% (ТА055).

Најповољнији однос протеина и целулозе присутан је код популација ИС042 и ИС077.

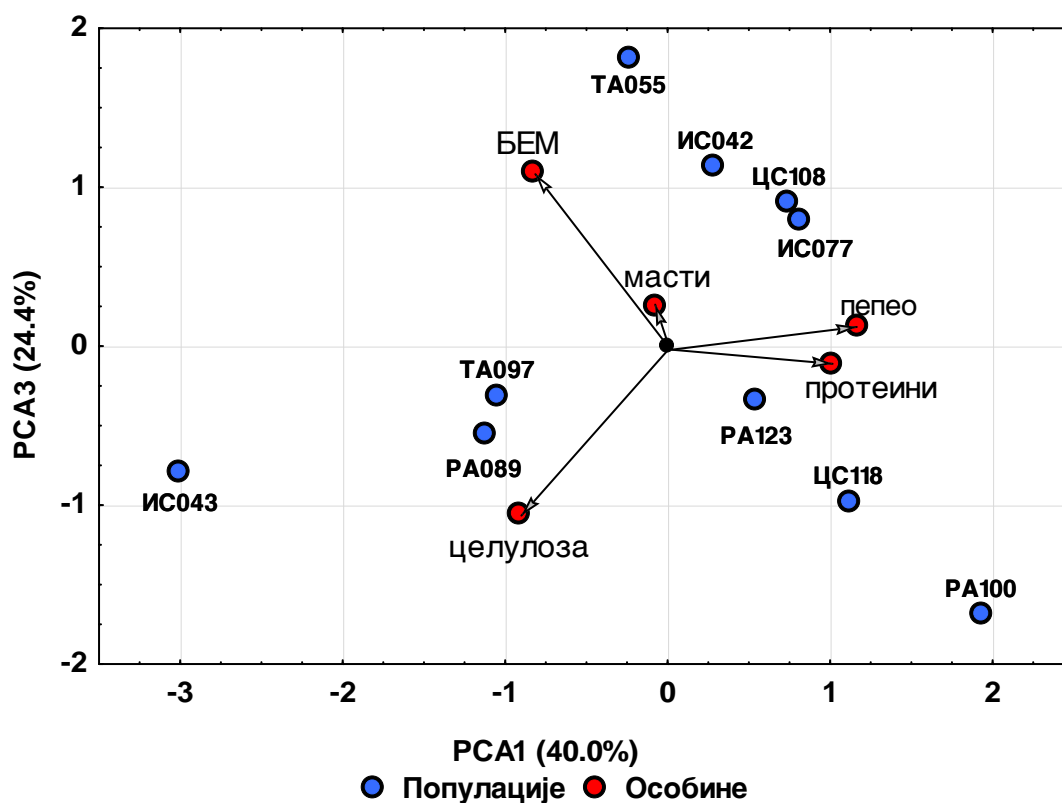
Подаци из табеле 18 су анализирани методом главних компоненти (РСА). С обзиром да су три сопствене вредности биле веће од 1 (прва = 2.00, друга = 1.30, трећа = 1.22) то су графички приказане пројекције популација и особина, на прве три коресподентне осе. На графикону 12 је приказана пројекција на прву и другу осу док је на графикону 13 приказана пројекција на прву и трећу осу.

Анализа главних компоненти је показала да прве три осе обухватају 92% варијабилности хемијских карактеристика, од тога на прву осу отпада 40% укупне варијабилности, на другу 27.6% док на трећу 24.4% варијабилности.



Графикон 12. Графички приказ пројекција 10 популација врсте *Trifolium pratense* и 5 хемијских особина, на прве две коресподентне осе.

Са графикона 12 уочавамо да се на десној страни графика налазе популације богате протеинима и пепелом (РА100, ЦС118, ИС077, РА123 и ЦС108) као и популација ИС042 са високим садржајем протеина а ниским садржајем пепела. Положај популација у односу на другу коресподентну осу је пре свега одређен садржајем масти при чему се у доњем делу графика налазе популације са високим садржајем масти (ИС042, РА089, ИС077, ИС043 и РА100), док се у горњем делу графика налазе популације са ниским садржајем масти. Дужина стрелица које су одређене садржајем целулозе и безазотних материја указују на то да ове особине немају пресудног утицаја на положај популација у равни прве и друге коресподентне осе (краће су од осталих).



Графикон 13. Графички приказ пројекција 10 популација врсте *Trifolium pratense* и 5 хемијских особина, на прву и трећу коресподентну осу.

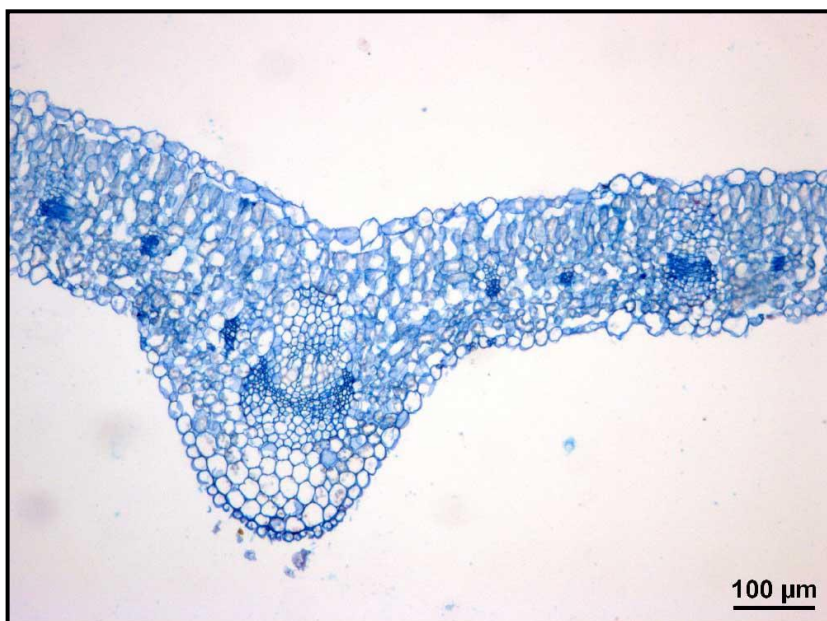
Са графикона 13 уочавамо да је положај популација у односу на трећу коресподентну осу одређен садржајем целулозе и БЕМ-а. Највиши садржај целулозе имају популације у доњем левом делу графика (ИС043, РА089 и ТА097), нижи садржај имају РА100, ЦС118 и РА123, док најмањи садржај целулозе бележе ТА055, ЦС108, ИС077 и ИС042. Садржај БЕМ-а је највећи код популација у горњем и левом делу графика (ТА055, ИС077, ИС042, ТА097), док је најнижи код популација у доњем и десном делу графика (РА100 и ЦС118).

4.1.3. Анатомија листа

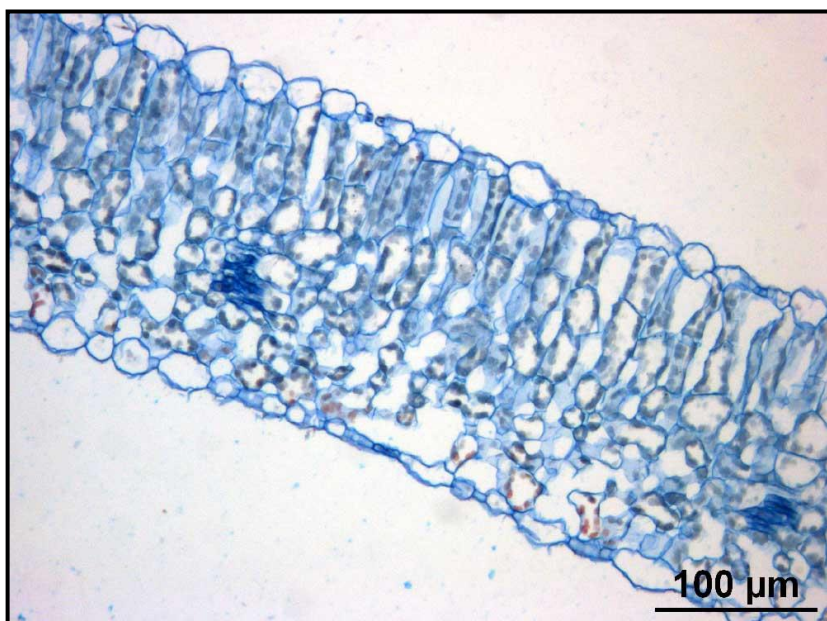
На сликама 17 и 18 дати су пресеци средњег листића тролиске црвене детелине. На слици 17 је приказан пресек у нивоу централног нерва, а на слици 18 је приказан пресек у бочном делу.

На приложеним сликама се може уочити да се епидермис лица и епидермис наличја састоје из једног слоја ћелија округлог, до овалног облика.

Палисадно ткиво чине два слоја цилиндричних ћелија, док се у сунђерастом ткиву налази 7 слојева ћелија округлог облика.



Слика 17. Попречни пресек листа врсте *Trifolium pratense* у нивоу централног нерва.



Слика 18. Попречни пресек у бочном делу листа врсте *Trifolium pratense*.

За утврђивање постојања статистички значајних разлика између средњих вредности епидермиса лица, палисадног ткива, сунђерастог ткива, епидермиса наричја и дебљине листа испитиваних популација коришћена је једнофакторијална АНОВА са поновљним мерењима (repeated measure ANOVA). Резултати ових анализа су дати у табели 19.

Табела 19. Анализа варијансе анатомских карактеристика врсте *Trifolium pratense*.

	епидермис лица листа		палисадно ткиво		сунђерасто ткиво		епидермис наличја листа		дебљина листа		дебљина централног нерва	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
популација	1.72	0.088	4.96	0.000	1.69	0.093	2.97	0.003	4.03	0.000	1.99	0.066
пресек	2.55	0.058	0.28	0.836	2.91	0.037	0.38	0.765	1.42	0.239		
попул. * пресек	0.76	0.798	0.21	0.999	0.35	0.998	0.45	0.991	0.17	0.999		

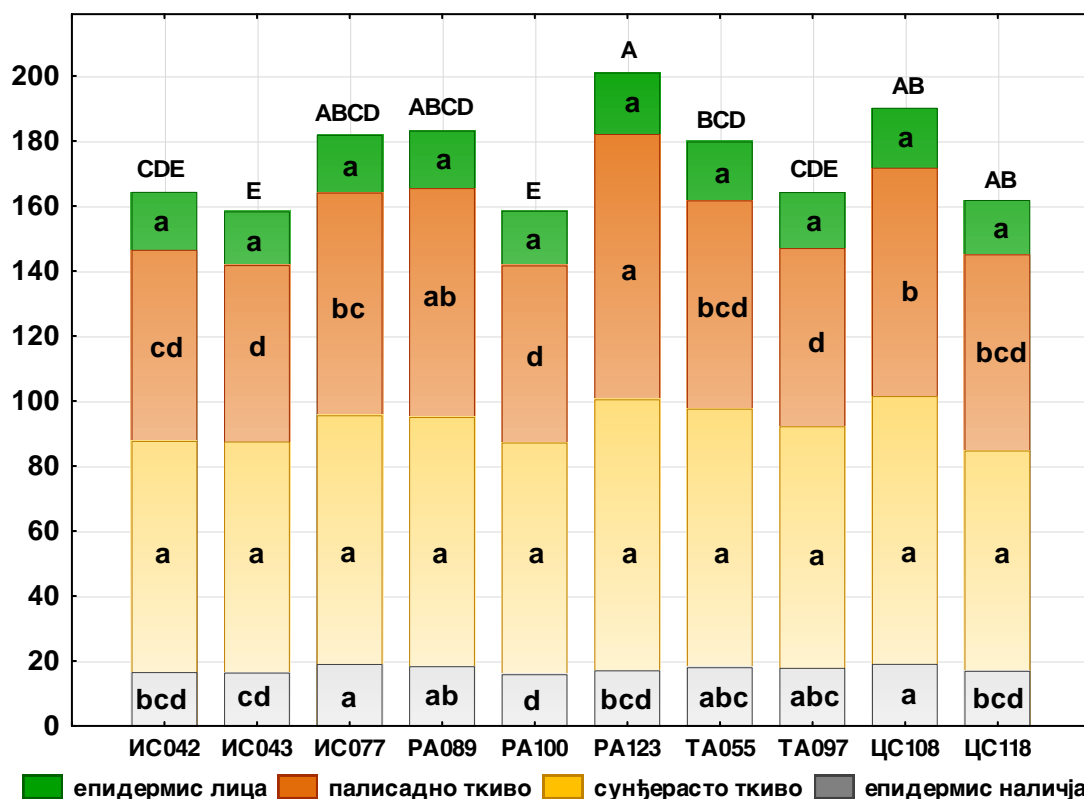
Из табеле 19 се уочава да код палисадног ткива и епидермиса наличја листа постоји статистички значајна разлика између популација ($p < 0.05$). На основу положаја пресека популације се статистички значајно разликују једино код сунђерастог ткива. У овом случају је LSD тестом утврђено да први пресек има статистички значајно мању дебљину од остала 3 међу којима нема статистички значајних разлика. Резултати мерења анатомских карактеристика листа су дати у табели 20.

Табела 20. Средње вредности (μm) и стандардна девијација анатомских карактеристика листа популација врсте *Trifolium pratense*.

Популација	епидермис лица листа	палисадно ткиво	сунђерасто ткиво	епидермис наличја	дебљина листа	дебљина цент. нерва
ИС042	17.86 ± 1.67	58.74 ± 18.4	71.08 ± 19.9	16.42 ± 2.93	164.1 ± 36.6	415.0 ± 62.2
ИС043	16.53 ± 3.35	54.26 ± 12.6	71.05 ± 12.6	16.26 ± 3.15	158.1 ± 24.7	371.6 ± 40.4
ИС077	17.73 ± 2.83	68.49 ± 23.2	76.46 ± 23.4	18.92 ± 3.71	181.6 ± 44.9	480.0 ± 66.3
РА089	17.65 ± 2.95	70.41 ± 20.9	76.61 ± 21.7	18.24 ± 3.44	182.9 ± 39.8	348.3 ± 103
РА100	16.83 ± 2.16	54.46 ± 11.5	71.26 ± 14.6	15.76 ± 2.14	158.3 ± 23.0	391.6 ± 39.1
РА123	18.89 ± 3.18	81.59 ± 21.3	83.32 ± 19.4	16.97 ± 3.18	200.8 ± 38.4	462.7 ± 122
ТА 055	18.10 ± 2.55	64.06 ± 12.3	79.48 ± 15.7	17.92 ± 1.73	179.6 ± 18.1	389.1 ± 69.8
ТА 097	17.21 ± 2.27	54.80 ± 17.0	74.26 ± 14.3	17.74 ± 2.55	164.0 ± 30.4	384.0 ± 49.0
ЦС108	18.44 ± 2.42	70.21 ± 14.2	82.31 ± 14.3	18.98 ± 2.14	189.9 ± 25.7	364.8 ± 58.2
ЦС118	16.71 ± 2.42	60.34 ± 11.1	67.77 ± 13.1	16.78 ± 2.25	161.6 ± 16.8	316.6 ± 118
просек	17.59	63.74	75.36	17.40	174.1	392.4

На графикону 14 је дат приказ резултата из табеле 20 као и резултати одговарајућих Фишерових LSD тестова који су урађени за оне особине код којих је анализом варијанси утврђено постојање статистички значајних разлика између популација.

Са графикона 14 се уочава да су најдебљи лист имале популације РА123, ЦС108, РА089 и ИС077. Палисадно ткиво је било најдебље код РА123 и РА089 док је епидермис наличја листа био највиши код ЦС108, ИС077, РА089, ТА105 и ТА097.



Графикон 14. Приказ средњих вредности епидермиса лица, палисадног ткива, сунђерастог ткива и епидермиса налицја 10 популација врсте *Trifolium pratense*. Мала слова означавају статистички значајне разлике у оквиру одређеног лисног слоја ($p < 0.05$). Велика слова означавају статистички значајне разлике у укупној дебљини листа.

4.1.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност

Вредности добијене мерењем секундарних метаболита приказане су табеларно као средње вредности прерачунате на основу мерења три узорка.

Количина фенолних једињења креће се од 31.4 mg GA/g узорка (TA055) до 104.8 mg GA/g (PA100). Популација са најнижим садржајем флавоноида је PA100 (50.3 mg Ru/g) док је највиши садржај измерен у узорку из популације ЦС108 (112.4 mg Ru/g).

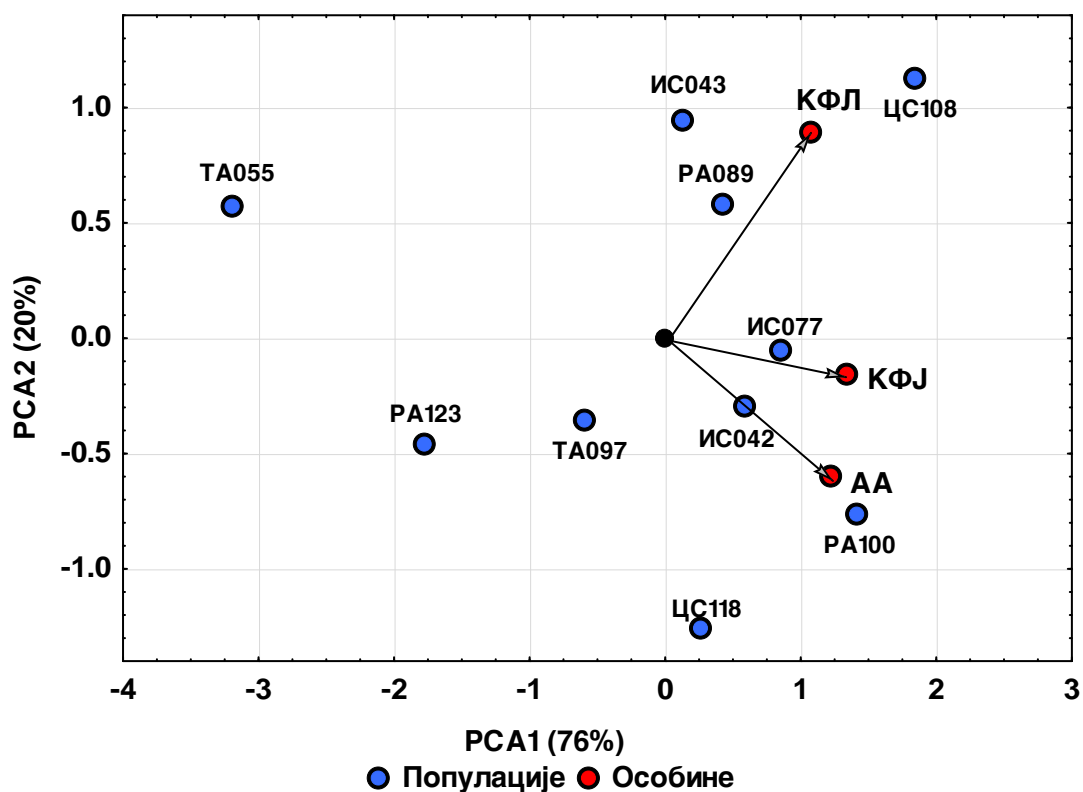
Најслабију антиоксидативну активност испољио је узорак TA055 (656 $\mu\text{g/ml}$) док су најснажнију способност неутрализације DPPH⁺ радикала показали узорци PA100 (152 $\mu\text{g/ml}$) и ЦС118 (152 $\mu\text{g/ml}$). Јака антиоксидативна активност узорка из популације PA100 потиче од повећане количине укупних фенола, док је антиоксидативна активност узорка ЦС118 највероватније везана за неку другу групу једињења, јер је садржај фенола и флавоноида низак.

Табела 21. Антиоксидативна активност (IC_{50} вредности изражене у $\mu\text{g/ml}$), количина фенолних једињења (mg GA/g екстракта) и количина флавоноида (mg Ru/g екстракта) 10 популација врсте *Trifolium pratense*.

Популација	антиоксидативна активност ($\mu\text{g/ml}$) ^a	количина фенолних једињења (mg GA/g)	количина флавоноида (mg Ru/g)
ИС042	157	74.8	79.5
ИС043	213	68.0	93.8
ИС077	184	95.2	80.7
РА089	208	81.5	88.2
РА100	152	104.8	75.1
РА123	260	51.8	50.3
ТА 055	656	31.4	51.7
ТА 097	195	62.3	65.5
ЦС108	172	96.1	112.4
ЦС118	152	78.7	59.1
просек	235	74.5	75.6

^a антиоксидативна активност је утолико јача уколико је њена измерена вредност мања.

Подаци из табеле 21 су анализирани методом главних компоненти (РСА). Резултати ове анализе су приказани на графикону 15.



Графикон 15. РСА анализа количина фенолних једињења (КФЈ), количина флавоноида (КФЛ) и антиоксидативна активност (АА) 10 популација врсте *Trifolium pratense*.

Анализа главних компоненти је показала да прве две осе обухватају 96% варијабилности посматраних особина, од тога на прву осу отпада 76% укупне варијабилности а на другу 20%.

Високом количином флавоноида се издвајају популације које се налазе у горњем десном делу графика (ЦС108, ИС043 и РА089).

Високом антиоксидативном активношћу се издвајају популације које се налазе у доњем десном делу графика (ЦС118, РА100, ИС042).

Највише фенолних једињења имају популације на десној страни графика (РА100, ЦС108 и ИС077), при чему положај у односу на вертикалну осу указује на то да РА100 такође има и антиоксидативну активност, док се ЦС108 одликује и високом количином фенолних једињења.

Популације на левој страни графика (ТА055, РА123, ТА097) имају ниске вредности свих праћених параметара.

4.1.4.1. Изофлаволи (фитоестрогени)

У табелама 22, 23, 24 су приказане концентрације четири изофлаволи у цвету, листу и стабљизи 9 популација црвене детелине.

Табела 22. Садржај изофлаволи у цветовима црвене детелине.

популација	даидзеин	генистеин	формонетин	биоханин А	укупни изофлаволи
ИС042	0.1283	0.1202	0.1344	0.1321	0.5149
ИС043	0.1022	0.0333	0.2560	0.4393	0.8308
ИС077	0.1488	0.1334	0.1760	0.2749	0.7331
РА089	0.0000	0.3115	0.1785	0.4574	0.9473
РА100	0.0000	0.0465	0.1103	0.1620	0.3188
РА123	0.0298	0.0569	0.1500	0.3490	0.5857
ТА055	0.0000	0.0358	0.1304	0.4256	0.5918
ЦС108	0.0000	0.1437	0.1203	0.2116	0.4757
ЦС118	0.0000	0.0411	0.0361	0.0514	0.1287
просек	0.0455	0.1025	0.1436	0.2781	0.5696

Количина даидзеина у цветовима пет популација црвене детелине била је испод лимита детекције. Највиша концентрација од 0.1488 mg/g измерена је у популацији ИС077. Генистеин је измерен у свим популацијама, највиша вредност је била присутна у популацији РА089 (0.3115 mg/g). Количина

формононетина се кретала од 0.0361 mg/g (ЦС118) до 0.2560 mg/g (ИС043). У цветовима је садржај биоханина А био виши у поређењу са осталим групама изофлавона, популација у којој је измерен највиши садржај је РА089 (0.4574 mg/g). То је истовремено популација са највише изофлавона, укупни садржај износи 0.9473 mg/g. Просечан садржај укупних изофлавона у цветовима свих популација износи 0.5696 mg/g.

У само једној популацији количина даидзеина и генистеина у листовима је била испод лимита детекције (ИС042). У популацији ТА055 измерен је максималан садржај даидзеина од 0.6465 mg/g а у популацији РА089 концентрација генистеина имала је вредност од 1.052 mg/g. Популација ИС043 одликовала се највишим присуством формононетина (1.5106 mg/g) и биоханина А (2.0971 mg/g). Иста популација се издваја далеко вишом вредношћу укупних изофлавона (4.1837 mg/g) у поређењу са осталим популацијама.

Табела 23. Садржај изофлавона у листовима црвене детелине.

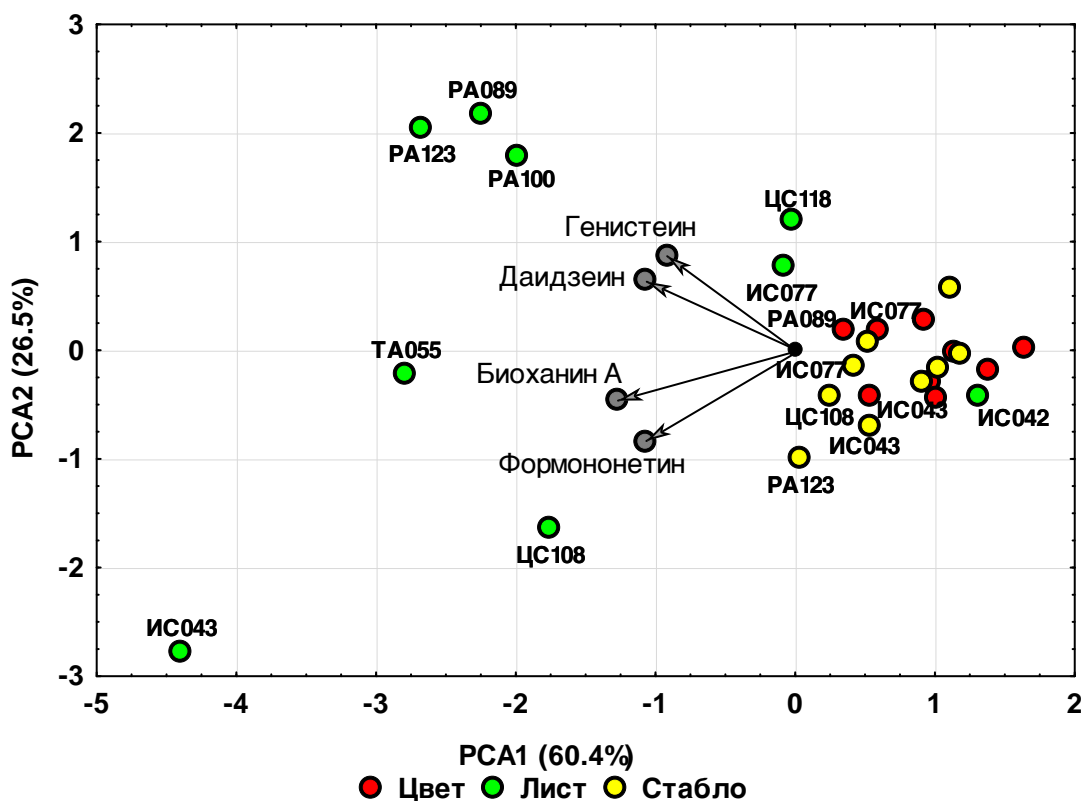
популација	даидзеин	генистеин	формононетин	биоханин А	укупни изофлавони
ИС042	0.0000	0.0000	0.1732	0.1957	0.3688
ИС043	0.2330	0.3430	1.5106	2.0971	4.1837
ИС077	0.1835	0.4180	0.2590	0.2756	1.1360
РА089	0.3621	1.0520	0.4201	0.5827	2.4170
РА100	0.6098	0.4740	0.0406	0.9954	2.1198
РА123	0.4936	0.9077	0.3556	0.8780	2.6348
ТА055	0.6465	0.1464	0.7548	1.1439	2.6916
ЦС108	0.0991	0.2874	1.0854	0.9536	2.4256
ЦС118	0.1933	0.4718	0.0776	0.3401	1.0827
просек	0.3134	0.4556	0.5197	0.8291	2.1178

У стабљници црвене детелине измерен је нижи садржај изофлавона у поређењу са вредностима из листова. У популацији ТА055 количина даидзеина и формононетина била је испод лимита детекције док су остале две вредности измерене. Највише даидзеина нађено је у популацији РА089 (0.1989 mg/g), генистеин је био најзаступљенији у популацији ЦС108 (0.2364 mg/g). Популација РА123 садржала је највише формононетина, биоханина А и највише укупних изофлавона.

Табела 24. Садржај изофлавона у стабљници црвене детелине.

популација	даидзеин	генистеин	формононетин	биоханин А	укупни изофлавони
ИС042	0.0854	0.1989	0.0323	0.0902	0.4068
ИС043	0.0522	0.0473	0.3896	0.3780	0.8672
ИС077	0.0369	0.2332	0.3010	0.3721	0.9433
РА089	0.1989	0.0498	0.1800	0.3222	0.7509
РА100	0.0711	0.0518	0.1531	0.1160	0.3921
РА123	0.0546	0.0853	0.5653	0.5080	1.2132
ТА055	0.0000	0.0842	0.0000	0.4964	0.5807
ЦС108	0.0121	0.2364	0.4114	0.4252	1.0851
ЦС118	0.0507	0.0408	0.1512	0.3642	0.6070
просек	0.0624	0.1142	0.2427	0.3414	0.7607

Подаци из претходних табела су анализирани методом главних компоненти (РСА). Резултати ове анализе су приказани на графикону 16.



Графикон 16. Графички приказ пројекција 9 популација врсте *Trifolium pratense* и 4 изофлавона, на прву и другу коресподентну осу.

Укупна варијабилност приказана уз помоћ прве и друге коресподентне осе износи 86.9%, при чему прва оса утиче на раздвајање са 60.4%

а друга са 26.5%. Вектори праћених особина су орјентисани у лево, тако да су у левом делу графикона узорци са највишим садржајем изофлавона. Сви узорци на тој страни су добијени анализом листа као биљног органа у коме је констатован највиши садржај фитоестрогена. На графикону у доњем, левом углу издвојена је популација ИС043, на чији положај утичу висок садржај биоханина А и формононетина, али и укупан садржај свих изофлавона је био највиши у листу ове популације. Популације ТА055 и ЦС108 се такође одликују високим садржајем ових фитоестрогена док популације у горњем левом углу (РА089, РА123, РА100) имају највишу концентрацију генистеина и даидзеина у целом приказаном скупу. На десној страни су узорци из цветова и стабљика, при чему је садржај изофлавона у њима значајно нижи.

4.2. Резултати анализе врсте *Trifolium repens*

Од почетних 11 популација које су укључене у пољски експеримент, за анализу је одабрано 5 популација (РА089, ТА089, ФГ020, ФГ025 и ЦС122). Стопа преживљавања у 2011. је код свих анализираних популација била 100%. Популације које нису увршћене у експеримент имале су веома слабу клијавост или пак нису могле да преживе током прве године истраживања.

4.2.1. Морфолошке особине

За сваку од посматраних морфолошких особина и сваку годину је извршена једнофакторијална анализа варијанси (Табела 25).

Вредности зелене масе у другој години нису испуњавале услов хомогености варијанси те је у овим случајевима извршена трансформација података квадратним кореном.

Табела 25. Једнофакторијална анализа варијансе праћених морфолошких особина врсте *Trifolium repens*.

особина	2010. година		2011. година	
	F	p	F	p
зелена маса	1.08	0.3691	7.97	0.0000
висина	35.5	0.0000	1.42	0.2320
дужина листа	1.35	0.2560	11.4	0.0000
ширина листа	1.14	0.3439	5.22	0.0008
пречник бокова			11.2	0.0000
број цвасти			6.96	0.0001

У 2010. години постоји статистички значајна разлика (на нивоу $p < 0.01$) у висини попула-ција док се у 2011. години популације статистички значајно разликују у маси, дужини листа, ширини листа и броју цвасти.

Принос зелене масе

У табели 26 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем зелене масе појединачних биљака врсте *T. repens*.

Табела 26. Просечне вредности зелене масе (g), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу н 2010. годину.

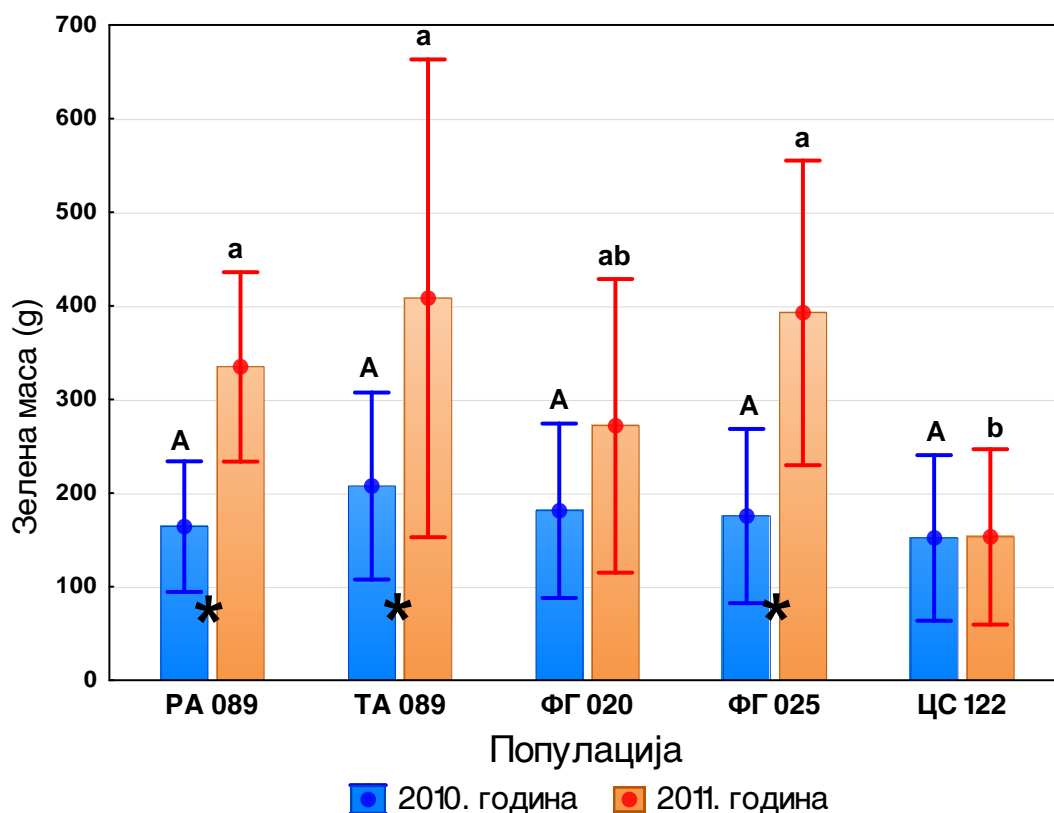
Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
РА089	164 ± 70 (42%)	335 ± 101 (30%)	104 %
ТА089	208 ± 99 (48%)	408 ± 255 (63%)	96 %
ФГ020	181 ± 93 (51%)	272 ± 157 (58%)	50 %
ФГ025	175 ± 93 (53%)	393 ± 163 (41%)	125 %
ЦС122	152 ± 88 (58%)	153 ± 94 (61%)	1 %
просек	176	312	77%

Посматрањем резултата приказаних у табели 26 уочава се да у 2010. години просечна зелена маса по биљци варира у опсегу од 152 g (ЦС122) до 208 g (ТА089). Највећи коефицијент варијације од 58% имала је популација ЦС122 са истовремено најнижом просечном вредношћу масе. Једнофакторијалном АНОВА-ом (Графикон 17) је утврђено да међу посматраним популацијама нема статистички значајних разлика на нивоу $p < 0.01$.

У 2011. години просечни принос зелене масе се креће у опсегу од 153 g (ЦС122) до 408 g (ТА089). Коефицијент варијације задржава високе вредности и у овој години.

Током 2011. године све популације бележе повећање просечног приноса зелене масе које се креће од 1% (ЦС122) до 125% (ФГ025). Са графикана 17 се уочава да је ово повећање масе статистички значајно код популација ФГ025 (125%), РА089 (104%) и ТА089 (96%). Просечно повећање приноса код свих популација износи 136 g, односно 43.59%.

Најнижи потенцијал за принос је испољила популација ЦС122, која је са највише надморске висине.



Графикон 17. Средње вредности, стандардна девијација и *post hoc* тестови за зелену масу (g) популација врсте *T. repens*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Принос суве материје

Табела 27. Просечне вредности суве материје (g) и стандардне девијације по популацији, приказане за 2010. и 2011. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
РА089	37.7 ± 16.1	78.7 ± 23.7	109%
ТА089	39.5 ± 18.8	85.7 ± 53.6	117%
ФГ020	36.2 ± 18.6	68 ± 39.3	88%
ФГ025	35 ± 18.6	92.4 ± 38.3	164%
ЦС122	35 ± 20.2	39 ± 24	11%
просек	36.7	72.8	98%

Сува маса популација беле детелине кретала се од 35.0 g (ЦС122 и ФГ025) до 39.5 g (ТА089). Вредности суве масе код свих популација су уједначене. Позитивна промена зелене масе у 2011. години праћена је и порастом вредности суве материје, као и већим разликама између популација. У 2011. години најнижа вредност је измерена у популацији ЦС122 (39 g) а највиша у популацији ФГ025 (92.4 g).

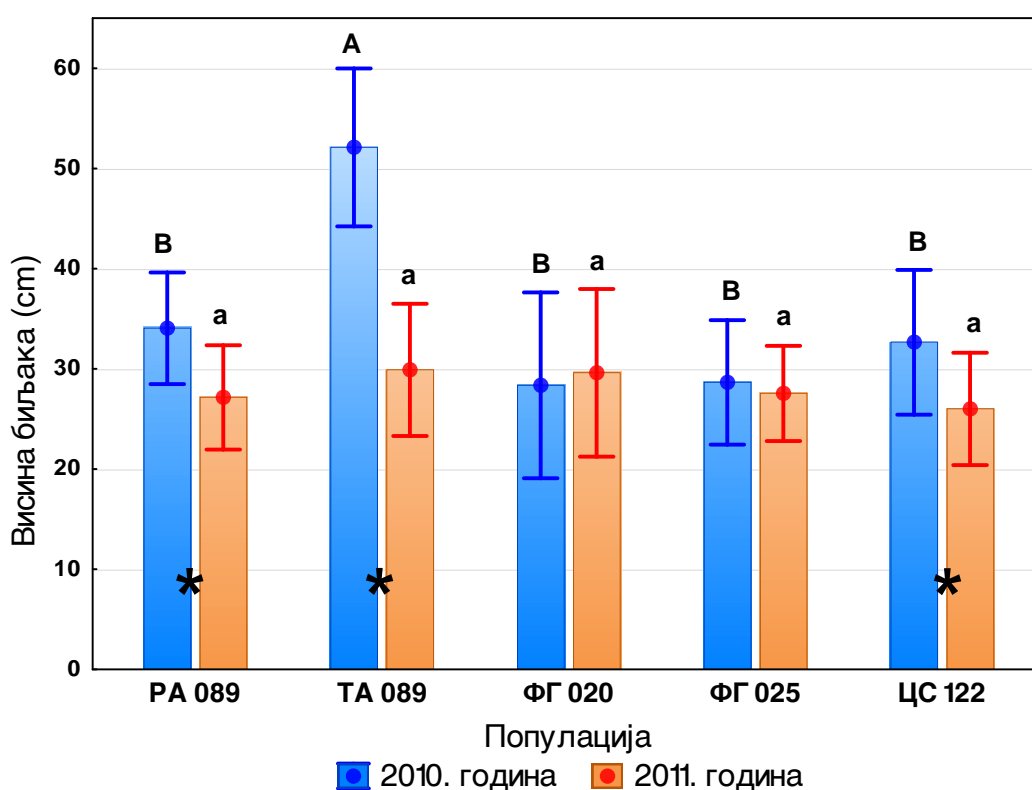
Висина биљака

У табели 28 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем висине појединачних биљака врсте *T. repens*.

Табела 28. Просечне вредности висине (cm), стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
РА089	34.1 ± 5.6 (16%)	27.2 ± 5.2 (19%)	-20 %
ТА089	52.1 ± 7.9 (15%)	29.9 ± 6.6 (22%)	-43 %
ФГ020	28.4 ± 9.3 (33%)	29.6 ± 8.4 (28%)	4 %
ФГ025	28.7 ± 6.2 (22%)	27.6 ± 4.8 (17%)	-4 %
ЦС122	32.7 ± 7.2 (22%)	26 ± 5.6 (22%)	-20 %
просек	35.2	28.1	-17 %

У 2010. години просечна висина биљака варира у опсегу од 28.4 cm (ФГ020) до 52.1 cm (ТА089). Са графикана 18 се уочава да популација ТА089 остварује статистички најбоље резултате док међу осталим популацијама нема статистички значајних разлика.



Графикон 18. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за висину (cm) популација врсте *T. repens*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звездице приказују статистички значајне разлике између година.

У 2011. години просечна висина варира од 26 cm (ЦС122) до 29.9 cm (ТА089). Применом једнофакторијалне АНОВА-е (Табела 25) је утврђено да у овој години нема статистички значајних разлика између посматраних популација. Популације ТА089, РА089 и ЦС122 бележе статистички значајно смањење просечне висине биљака у 2011. години (Графикон 18). Коефицијент варијације се не мења много током година.

Дужина листа

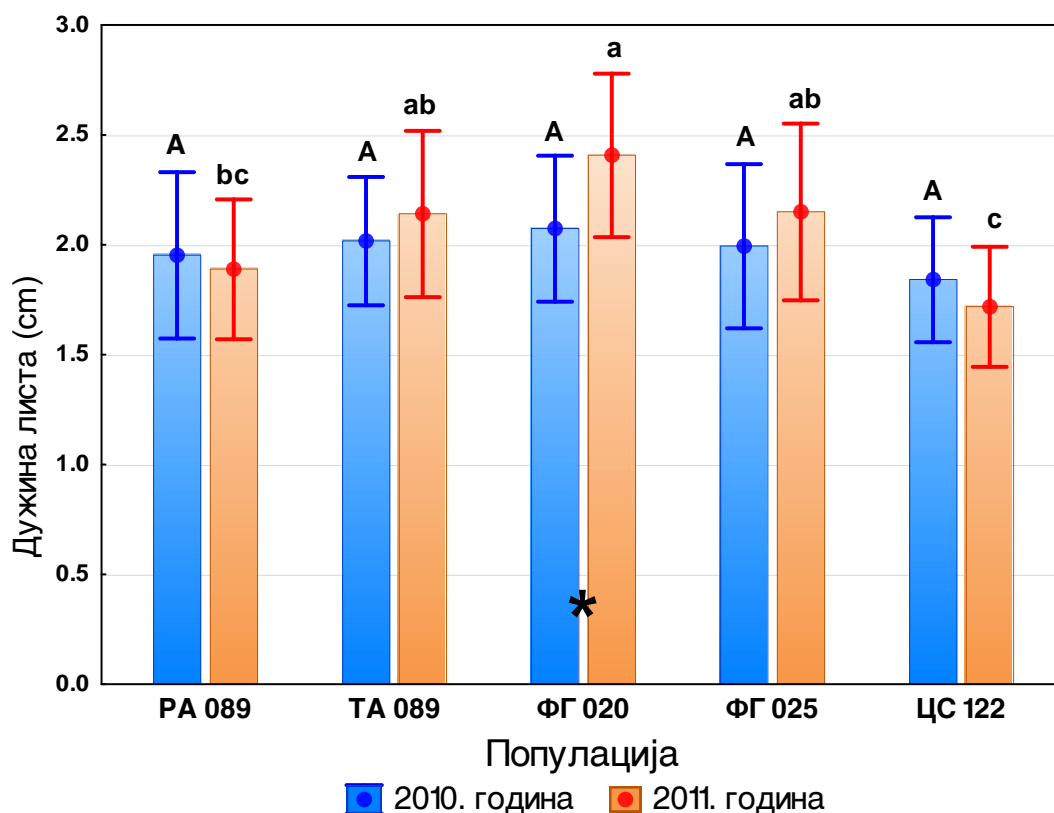
У табели 29 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем дужине листа појединачних биљака врсте *T. repens*.

Табела 29. Просечне вредности дужине листа (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
РА089	1.95 ± 0.38 (19%)	1.89 ± 0.32 (17%)	-3 %
ТА089	2.02 ± 0.29 (14%)	2.14 ± 0.38 (18%)	6 %
ФГ020	2.07 ± 0.33 (16%)	2.41 ± 0.37 (15%)	16 %
ФГ025	1.99 ± 0.37 (19%)	2.15 ± 0.4 (19%)	8 %
ЦС122	1.84 ± 0.28 (15%)	1.72 ± 0.27 (16%)	-7 %
просек	1.97	2.06	4 %

У 2010. години просечна дужина листа се налази у опсегу вредности од 1.84 cm (ЦС122) до 2.07 cm (ФГ020). Применом једнофакторијалне АНОВА-е (Табела 1) је утврђено да у овој години нема статистички значајних разлика у дужини листа између посматраних популација.

У 2011. години статистички значајно повећање (16%) просечне дужине листа бележи популација ФГ020 (Графикон 19). У овој години просечна дужина листа се налази у интервалу од 1.72 cm (ЦС122) до 2.41 cm (ФГ020), при чему статистички најбоље резултате осим ФГ020 остварују популације ФГ025 (2.15 cm) и ТА089 (2.14 cm). Коефицијент варијације узима ужи опсег и ниже вредности у поређењу са КВ претходне две особине.



Графикон 19. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за дужину листа (cm) популација врсте *T. repens*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Ширина листа

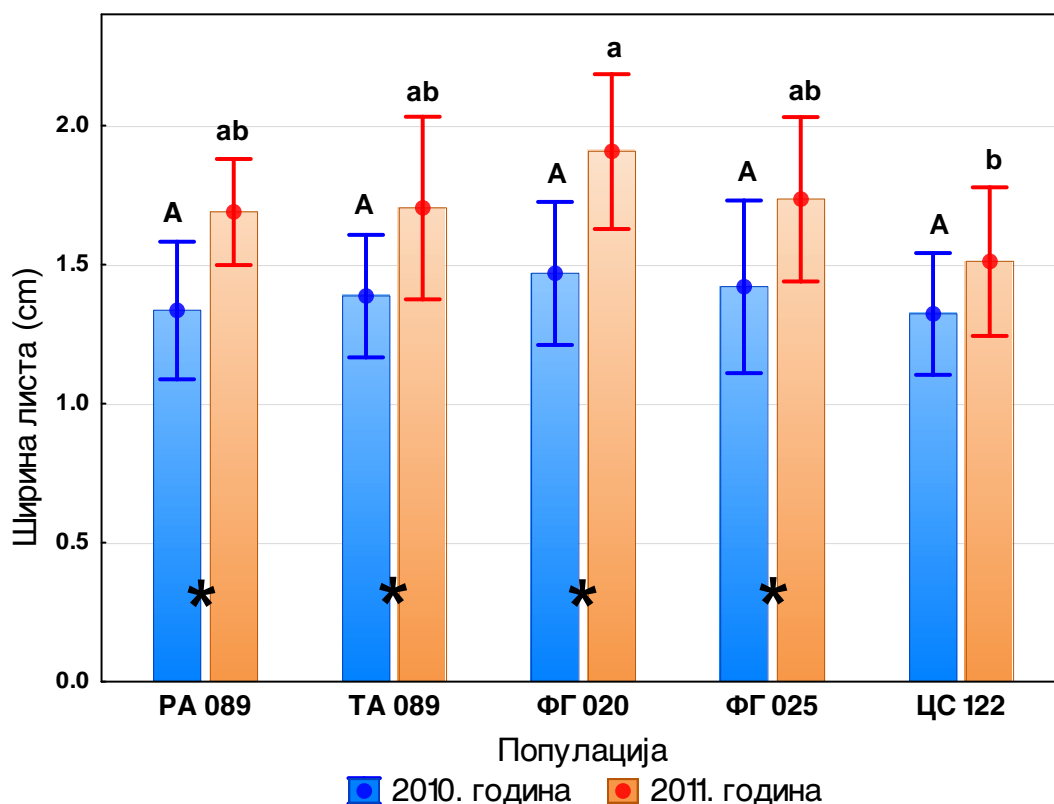
У табели 30 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем ширине листа појединачних биљака врсте *T. repens*.

Табела 30. Просечне вредности ширине листа (cm), стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011. као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
РА089	1.34 ± 0.25 (19%)	1.69 ± 0.19 (11%)	26 %
ТА089	1.39 ± 0.22 (16%)	1.7 ± 0.33 (19%)	22 %
ФГ020	1.47 ± 0.26 (18%)	1.91 ± 0.28 (15%)	30 %
ФГ025	1.42 ± 0.31 (22%)	1.74 ± 0.3 (17%)	23 %
ЦС122	1.32 ± 0.22 (17%)	1.51 ± 0.27 (18%)	14 %
просек	1.39	1.71	23 %

У 2010. години просечна ширина листа се креће у интервалу од 1.32 cm (ЦС122) до 1.47 cm (ФГ020). Применом једнофакторијалне АНОВЕ је утврђено да

између посматраних популација у овој години нема статистички значајних разлика у просечној ширини листа.



Графикон 20. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за ширину листа (cm) популација врсте *T. repens*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звездике приказују статистички значајне разлике између година.

У 2011. години просечна ширина листа се налази у опсегу вредности од 1.51 cm (ЦС122) до 1.91 cm (ФГ020). Током ове године све популације бележе повећање просечне ширине листа. Статистички значајно повећање (Графикон 20) је забележено код ФГ025 (30%), РА089 (26%), ФГ025 (23%) и ТА089 (22%).

Вредности коефицијента варијације су сличне вредностима КВ за дужину листа и имају низак опсег варирања (16-22% у 2010.-ој и 11-19% у 2011.-ој години).

Пречник бокора

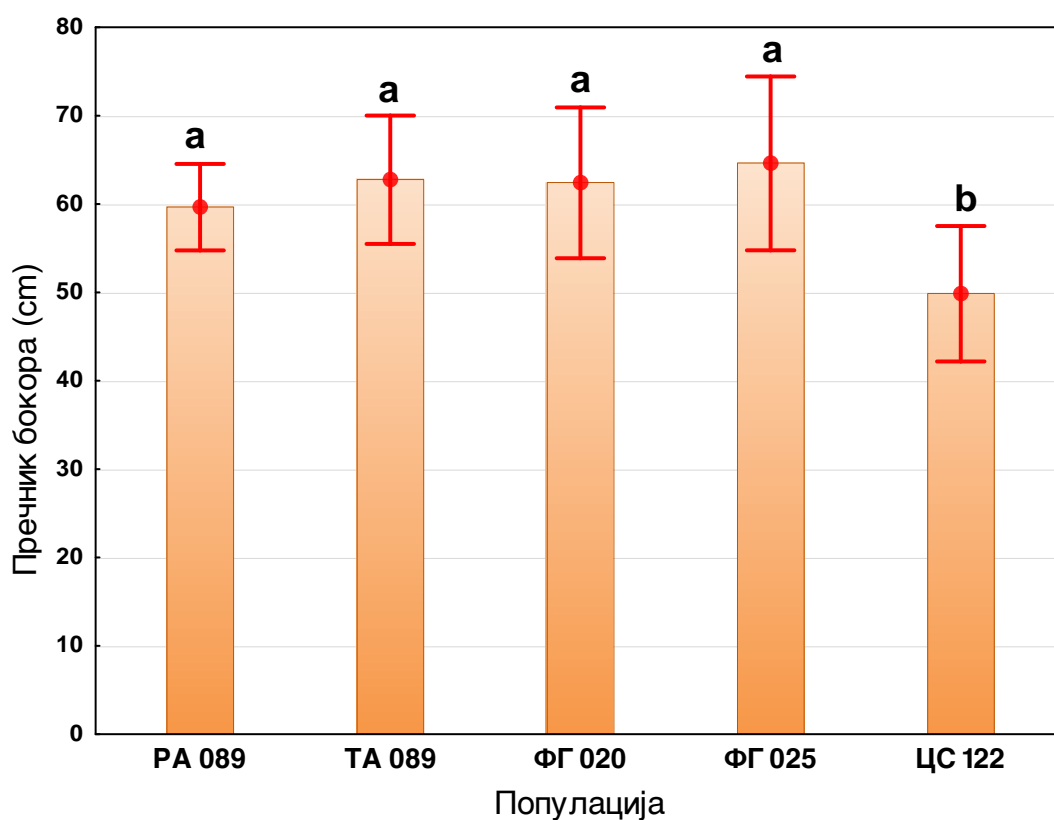
У табели 31 су приказане просечне вредности пречника бокора добијене мерењем појединачних биљака врсте *T. repens*.

Табела 31. Просечан пречник бокора (cm), стандардне девијације и коефицијент варијације (%) за 5 популација врсте *Trifolium repens*.

Популација	2011. година
РА089	59.7 ± 4.89 (8%)
ТА089	62.8 ± 7.26 (12%)
ФГ020	62.4 ± 8.53 (14%)
ФГ025	64.6 ± 9.84 (15%)
ЦС122	49.9 ± 7.66 (15%)
просек	59.9

У 2011. години пречник бокора се креће од 49.9 cm (ЦС122) до 64.6 cm (ФГ025). Анализом варијансе показано је да се популације међусобно статистички разликују, а применом Фишеровог LSD-теста установљено је да се популација ЦС122 значајно разликује од осталих популација (Графикон 21). Остале популације се не разликују статистички значајно међусобно.

Коефицијент варијације је врло низак, само 8% код популације РА089 до 15% код популација ФГ025 и ЦС122.



Графикон 21. Пречник бокора (cm) популација врсте *T. repens*. Малим словима су приказане статистички значајне разлике између популација у 2011. години ($p < 0.01$).

Број цвасти

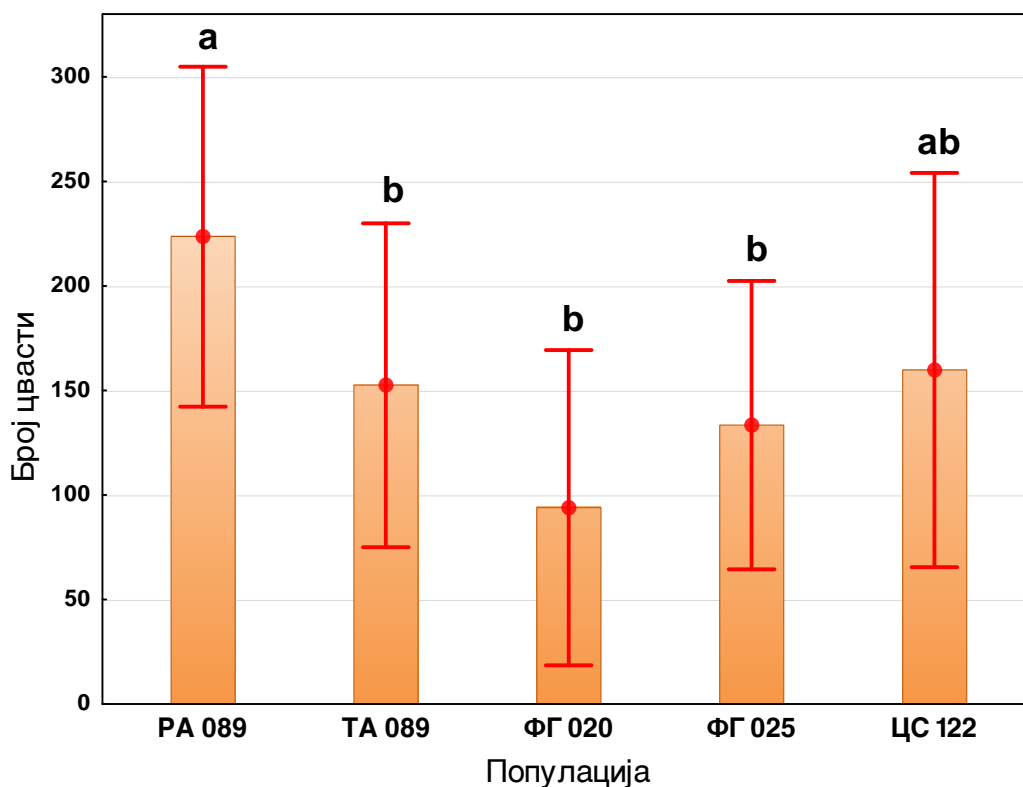
У табели 32 су приказане просечне вредности броја цвасти добијене мерењем појединачних биљака врсте *T. repens*.

Табела 32. Просечан број цвасти, стандардна девијација и коефицијент варијације (%) за 5 популација врсте *Trifolium repens*.

Популација	Број цвасти
РА089	223.6 ± 81.29 (36%)
ТА089	152.5 ± 77.47 (51%)
ФГ020	93.9 ± 75.40 (80%)
ФГ025	133.4 ± 68.98 (52%)
ЦС122	159.8 ± 94.29 (59%)
просек	152.6

Просечан број цвасти је највиши у популацији РА089 (223.6) а најнижи код популације ФГ020 (93.9).

Коефицијент варијације варира од 36% (РА089) до 80% (ФГ020). Најразноликији материјал у односу на време стасавања јединки се налази у популацији ФГ020.



Графикон 22. Број цвасти популација врсте *T. repens*. Малим словима су приказане статистички значајне разлике између популација у 2011. години ($p < 0.01$).

Популација РА089 се статистички значајно разликује од популација ТА089, ФГ020 и ФГ025, остале популације се не разликују међусобно (Графикон 22).

Корелације морфолошких особина

Како би се утврдио однос посматраних морфолошких особина, независно од утицаја популација, израчунати су парцијални коефицијенети корелације. Резултати ове анализе су дати у табели.

Током 2010. године јавио се већи број статистички значајних корелација. На нивоу $p < 0.001$ корелисане су зелена маса са: дужином листа, ширином листа, пречником бокора и бројем цвасти. Високо значајне корелације са истим нивоом од 99.9% постојале су између висине и особина листа. Дужина листа са истим прагом значајности је била корелисана са ширином листа и пречником бокора. Негативне корелације нису биле статистички значајне.

Табела 33. Парцијални коефицијенти корелације морфолошких особина врсте *Trifolium pratense* у 2011. години.

	зелена маса	висина	дужина листа	ширина листа	пречник бокора	број цвасти
зелена маса		*	***	***	***	***
висина	0.255		***	***		
дужина листа	0.447	0.537		***	***	
ширина листа	0.401	0.499	0.811		**	
пречник бокора	0.594	0.190	0.426	0.309		
број цвасти	0.381	0.004	-0.154	-0.048	0.089	

корелације су статистички значајне на нивоу (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

Мултиваријациона анализа морфолошких особина

Једнофакторијална МАНОВА је показала да у обе посматране године постоји статистички значајна разлика између популација уколико посматрамо све морфолошке особине заједно (у 2010. години је Wilk's $\Lambda = 0.337$, $F = 7.53$, $p < 0.0001$, док је у 2011. години Wilk's $\Lambda = 0.29914$, $F = 5.428$, $p < 0.0001$).

Да би се установио значај сваке особине од посматраних особина на раздвајање популација, примењена је дискриминантна анализа за сваку годину посебно (табела 17).

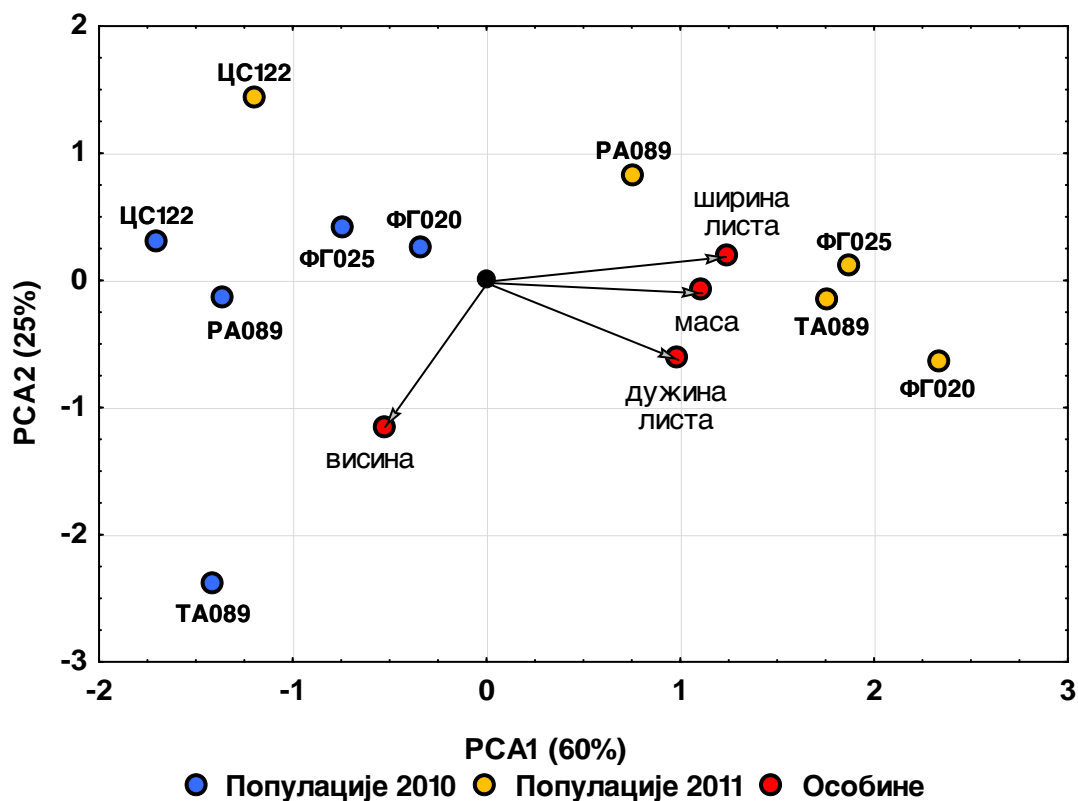
Табела 34. Дискриминантна анализа морфолошких особина популација врсте *Trifolium repens*.

	2010. година			2011. година		
	Wilk's Λ	p	R ²	Wilk's Λ	p	R ²
зелена маса	0.350	0.457	0.164	0.361	0.0019	0.538
висина	0.889	0	0.210	0.311	0.4734	0.302
дужина листа	0.361	0.1677	0.133	0.342	0.0152	0.673
ширина листа	0.356	0.2609	0.161	0.320	0.1972	0.633
пречник бокора				0.351	0.0058	0.285
број цвасти				0.381	0.0002	0.314

У 2010. години само висина има статистички значајног утицаја на раздвајање популација. У 2011. години највећи утицај на раздвајање популација имају број цвасти а затим следе зелена маса и пречник бокора.

Матрица са просечним вредностима посматраних морфолошких особина је анализирана методом главних компоненти (РСА). Графички приказ резултата анализе главних компоненти је дат на графикаону 23.

Анализа главних компоненти је показала да прве две осе обухватају 85% варијабилности морфолошких карактеристика, од тога на прву осу отпада 60% укупне варијабилности а на другу 25%.



Графикон 23. Графички приказ резултата анализе главних компоненти морфолошких особина популација врсте *Trifolium repens* у равни прве и друге осе.

Посматрајући графикон 23 уочава се да је дошло до раздвајања популација из две експерименталне године. Популације из 2010. су на левој страни док су оне из 2011. махом на десној страни. Оваквој позицији највише доприносе зелена маса и ширина листа. Њихови вектори су на десној страни графикана што указује да је дошло до пораста њихових вредности у 2011. години, са изузетком популације ЦС122. Иако се дужина листа у просеку није статистички значајно променила, постојање позитивног тренда условило је положај вектора ове особине у десно.

На раздвајање популација по вертикалној оси, утицала је висина. Током 2010. популација ТА089 има највишу висину биљака (налази се у смеру вектора, доњи леви угао), која наредне године значајно опада тако да ова популација мења положај на графикону. Са графикана се уочава и да је до смањења висине дошло и код РА089 и ЦС122 мада те промене нису толико изражене као у случају популације ТА089. Код ФГ020 и ФГ025 није дошло до значајне промене висине тако да је положај ових популација у односу на вертикалну осу исти у обе посматране године.

4.2.2. Хемијски састав суве материје

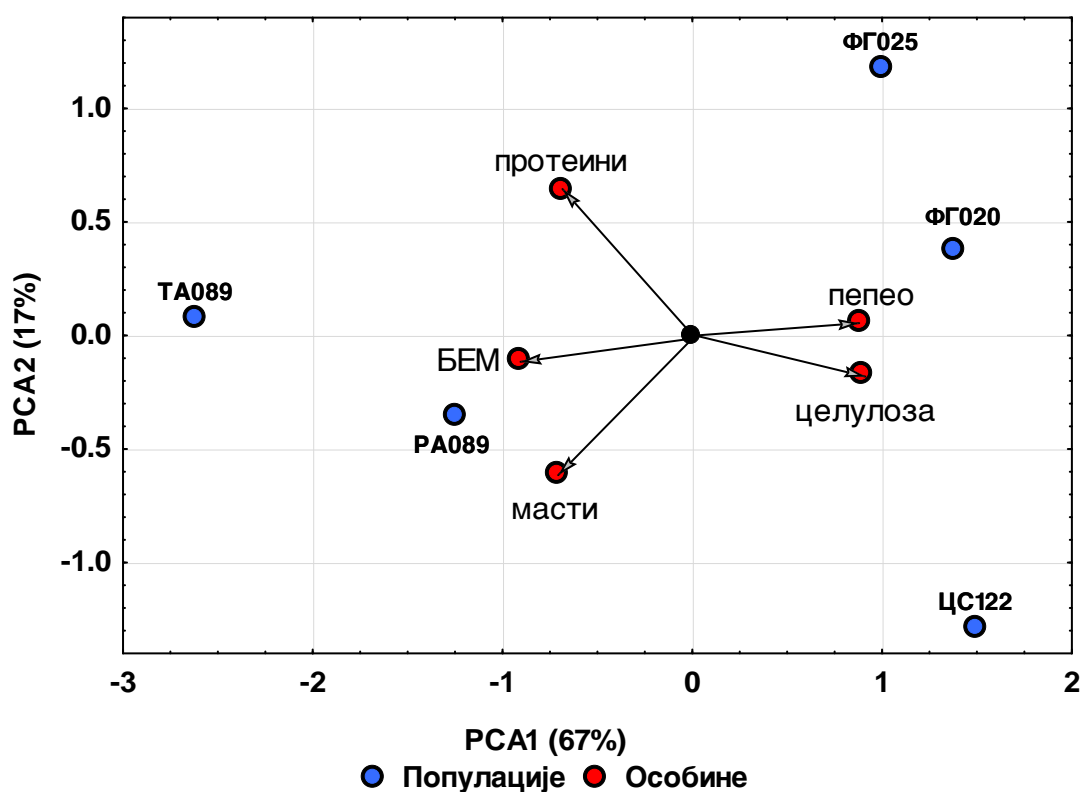
На испитиваним популацијама врсте *Trifolium repens* су мерене следеће хемијске карактеристике: сирови пепео, сирови протеини, сирова целулоза, сирове масти и безазотне материје (БЕМ). Мерења су вршена у 2010. години у три понављања. Просечне вредности су дате у табели 35.

Табела 35. Просечне вредности и стандардне девијације хемијских особина популација врсте *Trifolium repens* изражене у процентима суве материје.

популација	пепео	протеини	целулоза	масти	БЕМ
РА089	13.82 ± 0.80	22.20 ± 0.01	19.28 ± 1.11	2.59 ± 0.071	42.11 ± 1.98
ТА089	11.60 ± 0.74	23.23 ± 0.55	19.39 ± 0.68	2.59 ± 0.251	43.19 ± 1.90
ФГ020	14.17 ± 0.02	22.30 ± 0.32	24.31 ± 0.52	2.25 ± 0.092	36.97 ± 0.95
ФГ025	14.74 ± 0.04	22.05 ± 1.22	21.46 ± 0.57	1.89 ± 0.100	39.86 ± 1.93
ЦС122	14.41 ± 0.54	20.00 ± 0.45	23.90 ± 0.65	2.35 ± 0.139	39.34 ± 1.78
просек	13.75	21.96	21.67	2.33	40.30

Популација која у сувој материји садржи највиши проценат протеина је ТА089 (23.23%), док су најниже вредности забележене код популације ЦС122 (20.00%). Максимална вредност целулозе је присутна у популацији ФГ020 (24.31%) док је најнижа код популације РА089 (19.28%). Вредности сировог пепела крећу се од 11.60% (ТА089) до 14.74% (ФГ025). Количина масти је најнижа у узорку из популације ФГ025 (1.89%) док је највиша код популација РА089 и ТА089 (2.59%). Најбољи однос протеина и целулозе има популација ТА089.

Подаци из табеле 35 су анализирани методом главних компоненти (РСА). Резултати ове анализе су приказани на графикону 24.



Графикон 24. Графички приказ пројекција 5 популација врсте *Trifolium repens* и 5 хемијских особина, на прве две коресподентне осе.

Анализа главних компоненти је показала да прве две осе обухватају 84% варијабилности хемијских карактеристика, од тога на прву осу отпада 67% укупне варијабилности а на другу 17%.

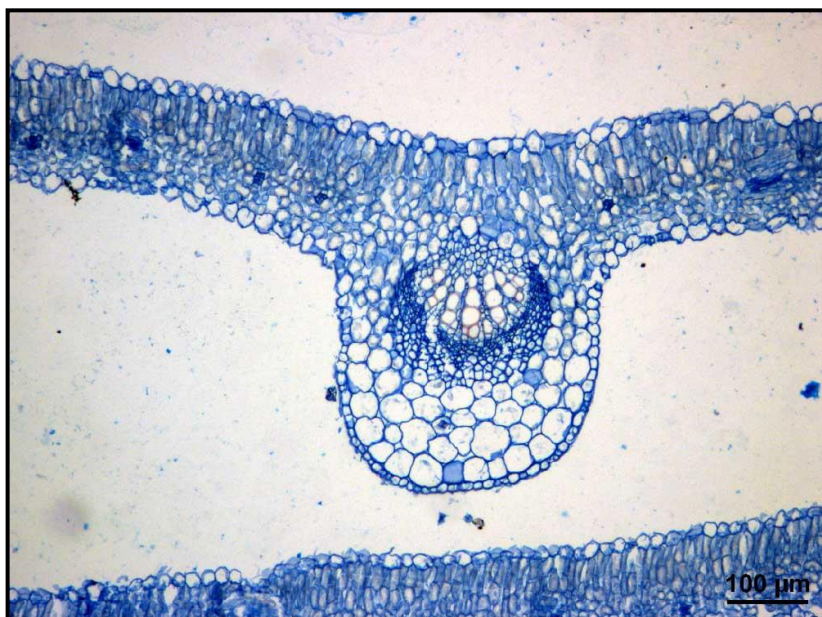
Положај популација у односу на прву осу је одређен количином пепела, целулозе и БЕМ-а, тако да се у десном делу графика налазе популације

које се карактеришу високим садржејем пепела и целулозе (ФГ025, ФГ020 и ЦС122) док се на левој страни налази популација ТА089 и РА089 које имају високи садржај БЕМ-а и веома низак садржај пепела и целулозе. На другој оси се издвајају популације ФГ025, чији је положај превасходно условљен ниским садржајем масти, као и положај популације ЦС122 са нижим садржајем протеина у поређењу са осталим популацијама.

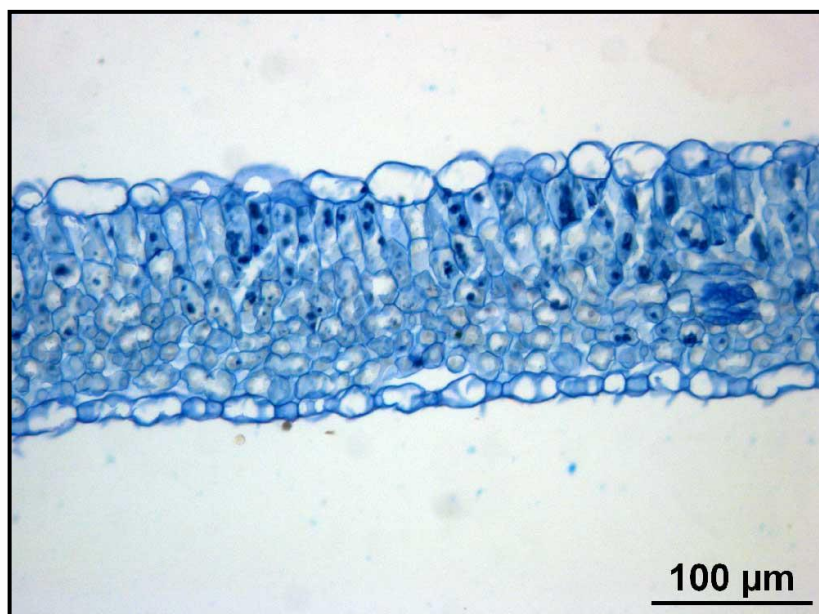
4.2.3. Анатомија листа

На сликама 19 и 20, дати су пресеци средњег листића тролиске беле детелине. Слика 19 је пресек у нивоу централног нерва, слика 20 је пресек у бочном делу.

На сликама се може уочити да се епидермис лица и епидермис наличја састоје из једног слоја ћелија округлог, до овалног облика. Палисадно ткиво чине два слоја цилиндричних ћелија, док се у сунђерастом ткиву налази више слојева ћелија округлог облика.



Слика 19. Попречни пресек листа врсте *Trifolium repens* у нивоу централног нерва.

Слика 20. Попречни пресек у бочном делу листа врсте *Trifolium repens*.

Код свих комбинација особина-пресек је био испуњен услов хомогености варијанси те није било потребе за трансформацијом измерених величина. Резултати ових анализа су дати у табели 36.

Табела 36. Анализа варијансе анатомских особина врсте *Trifolium repens*.

	епидермис лица листа		палисадно ткиво		сунђерасто ткиво		епидермис наличја листа		дебљина листа		дебљина централног нерва	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
популација	4.02	0.005	0.37	0.828	5.36	0.001	7.36	0.000	2.19	0.078	0.91	0.476
пресек	0.26	0.854	0.14	0.936	0.81	0.492	0.01	0.999	0.38	0.764		
попул * пресек	1.04	0.418	0.41	0.956	0.52	0.897	1.24	0.271	0.30	0.988		

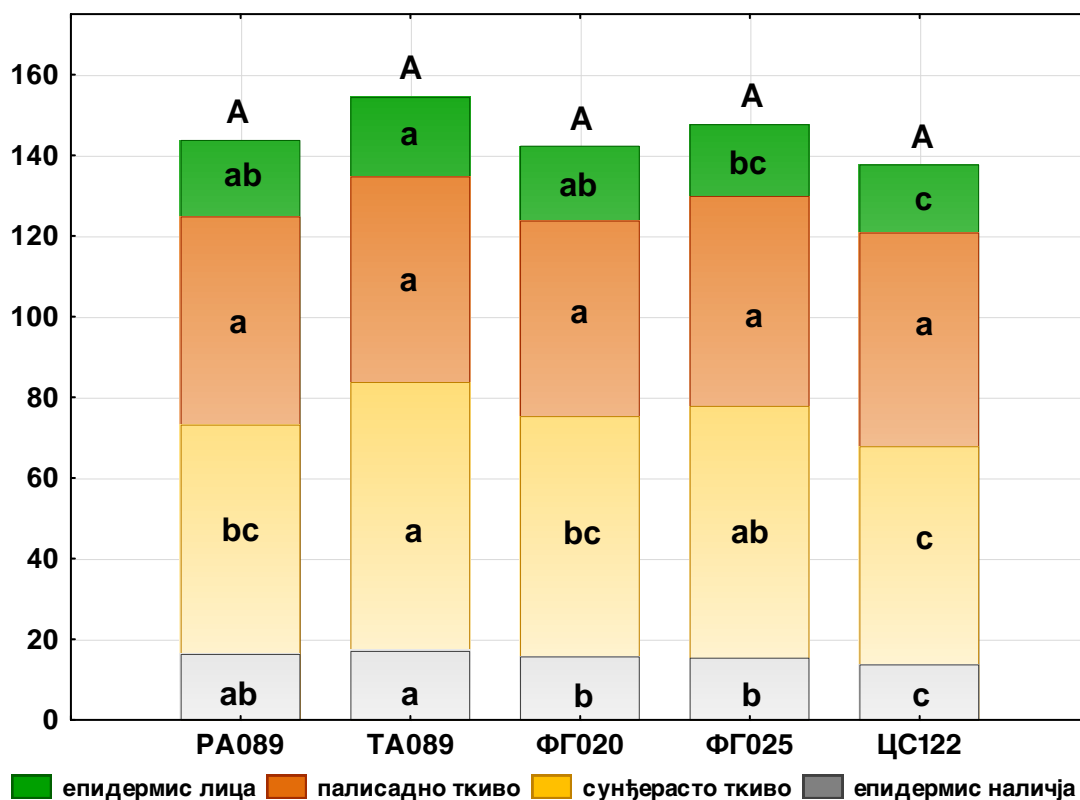
Посматрајући табелу 36 уочава се да се популације разликују на нивоу $p < 0.01$ у епидермису листа, сунђерастом ткиву и епидермису наличја. Статистички значајних разлика између популација када су у питању палисадно ткиво и дебљина централног нерва нема. Ни код једног лисног слоја нема статистички значајних разлика у пресецима, такође не постоји статистички значајна интеракција између популације и пресека. Резултати мерења анатомских карактеристика листа су дати у табели 37.

Вредности епидермиса лица крећу се од $16.85 \mu\text{m}$ (ЦС122) до $19.69 \mu\text{m}$ (ТА089). Најдебље палисадно ткиво имају листови биљака популације ЦС122 ($52.97 \mu\text{m}$) а најтање листови популације ФГ020 ($48.45 \mu\text{m}$). Дебљина сунђерастог

тквива се креће од 54.07 μm (ЦС122) до 66.61 μm (ТА089). Најнижа вредност епидермиса налицја листа је измерена код популације ЦС122 (13.63 μm) а највиша код популације ТА089 (16.99 μm).

Табела 37. Средње вредности (μm) и стандардне девијације анатомских карактеристика листа врсте *Trifolium repens*.

популација	епидермис лица	палисадно ткиво	сунђерасто ткиво	епидермис налицја	дебљина листа	дебљина цент. нерва
РА089	18.96 \pm 1.99	51.59 \pm 8.1	56.83 \pm 7.7	16.23 \pm 1.74	143.6 \pm 13.9	390.6 \pm 52.7
ТА089	19.69 \pm 2.18	50.94 \pm 9.0	66.61 \pm 9.4	16.99 \pm 1.83	153.2 \pm 12.3	446.4 \pm 68.9
ФГ020	18.55 \pm 2.78	48.45 \pm 11.7	59.59 \pm 6.9	15.60 \pm 2.41	142.2 \pm 15.7	373.4 \pm 81.7
ФГ025	17.74 \pm 2.21	52.03 \pm 12.7	62.4 \pm 11.3	15.31 \pm 1.59	147.7 \pm 21.4	395.9 \pm 52.4
ЦС122	16.85 \pm 2.86	52.97 \pm 15.9	54.07 \pm 9.4	13.63 \pm 2.56	137.8 \pm 25.1	435.1 \pm 97.2
просек	18.36	51.19	59.89	15.54	144.90	408.25



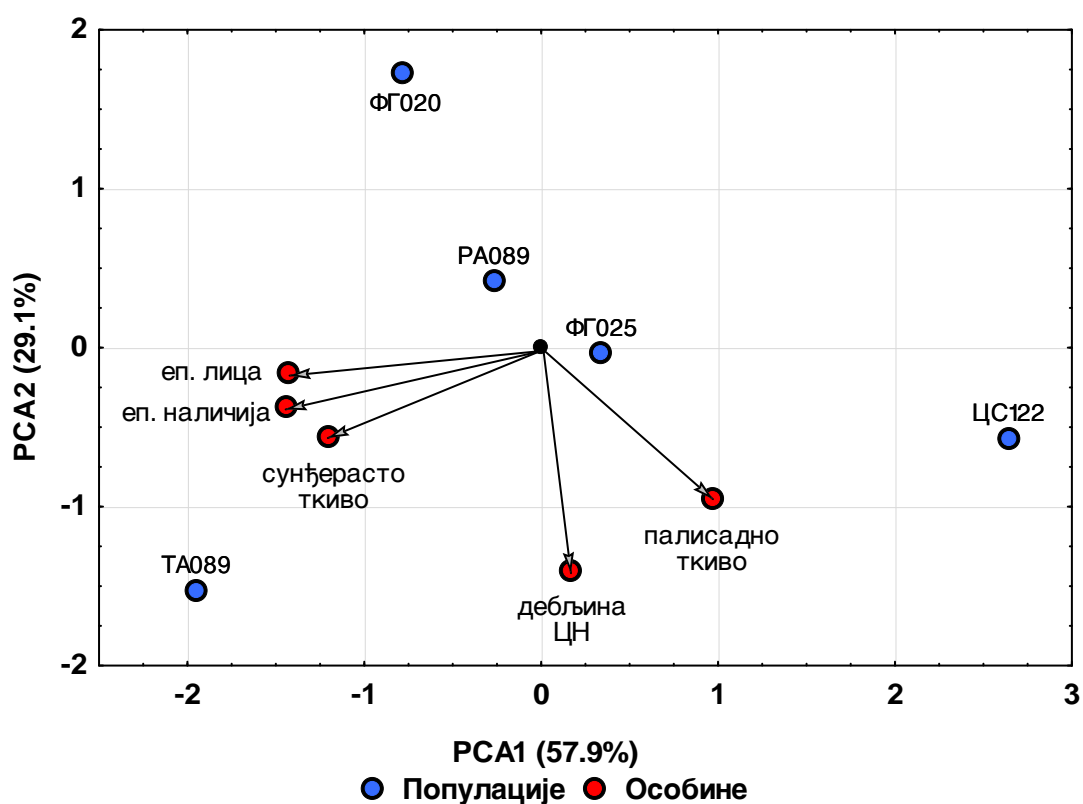
Графикон 25. Приказ средњих вредности и post hoc Фишеровог LSD теста за епидермис лица, палисадно ткиво, сунђерасто ткиво и епидермис налицја популација врсте *Trifolium repens*. Различита слова унутар стубића означавају статистички значајне разлике одговарајућих особина ($p < 0.05$). Велика слова показују разлике између популација.

Најдебљи лист и највећа дебљина у нивоу централног нерва је добијана код популације ТА089.

На графикону 25 је дат приказ резултата из табеле 37 као и резултати одговарајућих Фишерових LSD тестова који су урађени за оне особине код којих је анализом варијанси утврђено постојање статистички значајних разлика између популација.

На графикону 25 се уочава да се популација ТА089 статистички значајно разликује у дебљини слојева од већине популација (има најбоље вредности); док популација ЦС122 има статистички најлошије вредности.

Матрица са средњим вредностима је анализирана методом главних компоненти а резултати ове методе су приказани на графикону 26.



Графикон 26. PCA анализа анатомских карактеристика листа 5 популација врсте *Trifolium repens*.

Прве две осе учествују са 91% у приказивању укупне варијабилности. Прва оса учествује са 57.9% а друга са 29.1%. На распоред популација дуж x-осе највише утичу висина епидермиса лица и наличија листа. Популација ТА089 има добре вредности дебљине сунђерастог ткива, епидермиса лица и наличија листа. Популације ЦС122 и ФГ025 издвајају се по највишим вредностима дебљине палисадног ткива. На раздвајање популација по у-оси утиче дебљина

централног нерва. Популације РА089 и ФГ020 имају најлошије вредности свих антомских особина.

4.2.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност

Вредност добијене мерењем секундарних метаболита приказане су табеларно као средње вредности прерачунате на основу мерења три узорка.

Табела 38. Антиоксидативна активност (IC_{50} вредности изражене у $\mu\text{g/ml}$), количина фенолних једињења (mg GA/g екстракта) и количина флаваноида (mg Ru/g екстракта) 5 популација врсте *Trifolium repens*.

Популација	антиоксидативна активност ($\mu\text{g/mol}$) ^a	количина фенолних једињења (mg GA/g)	количина флаваноида (mg Ru/g)
РА089	598	42.1	59.7
ТА089	257	37.0	122.8
ФГ020	845	34.1	39.7
ФГ025	919	29.0	31.2
ЦС122	446	43.8	42.7
просек	613	37.2	59.2

^a антиоксидативна активност је утолико јача уколико је њена измерена вредност мања.

Популација са најнижим садржајем фенолних једињења јесте ФГ025 (29 mg GA/g) док ЦС122 има највиши садржај фенола (43.8 mg GA/g).

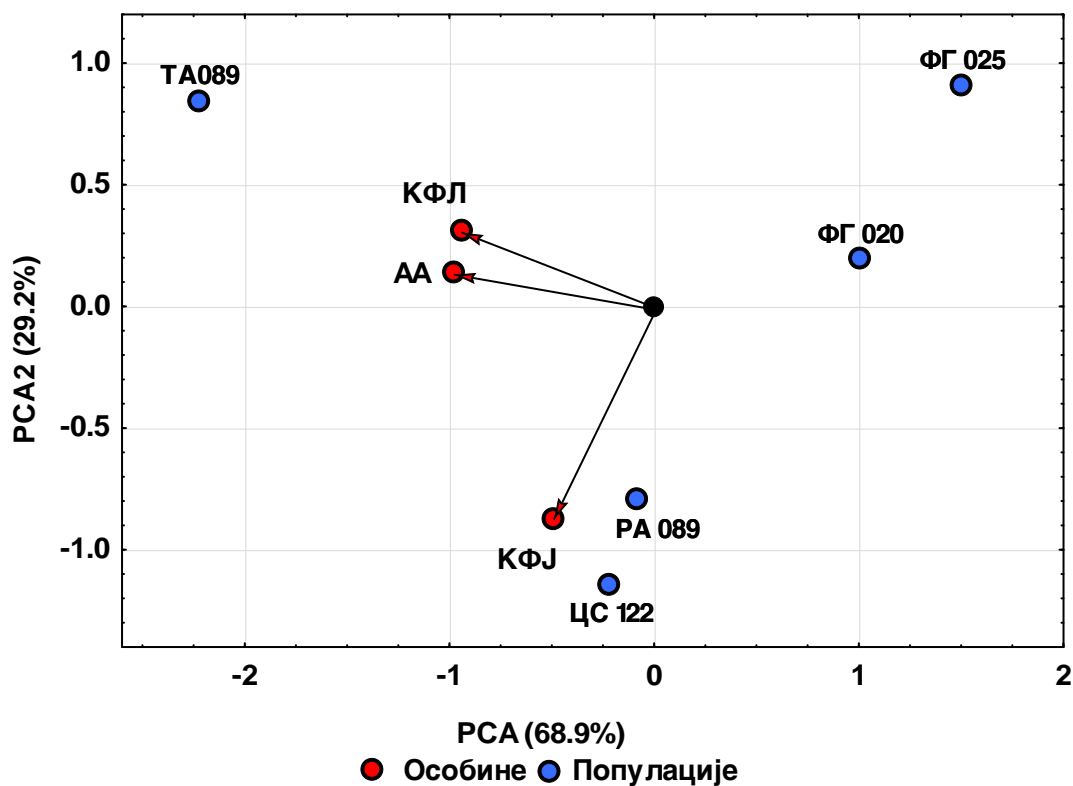
Најнижим садржајем флаваноида карактерише се популација ФГ025 (31.2 mg Ru/g), највиши садржај је забележен у узорку популације ТА089 (122.8 mg Ru/g).

Код свих популација антиоксидативна активност је изразито ниска и креће се од $257 \mu\text{g/mol}$ (ТА089) – што је најснажнија вредност, до $919 \mu\text{g/mol}$ (ФГ025).

Подаци из табеле 38 су анализирани методом главних компоненти (РСА). Резултати ове анализе су приказани на графикону 27. Укупна приказана варијабилност износи 98.1%, при чему на прву осу одлази 68.9% а на другу 29.2% варијабилности.

Популације на десној страни графикана ФГ025 и ФГ020 имају најнижи садржај праћених метаболита у приказаном скупу од 5 популација. Највишим садржајем флаваноида и највишом антиоксидативном активношћу

карактерише се популација ТА089, док популације РА089 и ЦС122 имају највиши садржај фенолних једињења.



Графикон 27. PCA анализа секундарних метаболита 5 популација врсте *Trifolium repens*. (АА – антиоксидативна активност, КФЈ – количина фенолних једињења, КФЛ – количина флавоноида)

4.2.4.1. Изофлавони (фитоестрогени)

У табели 39 приказани су резултати анализе цветова, листова и стабљика код три популације беле детелине на присуство четири групе изофлавона.

Количина изофлавона у цвету беле детелине била је изузетно ниска. Садржај даидзеина и формонетина је био испод лимита детекције. Генистеин је измерен само у популацији ТА089, док је биоханин био присутан у две популације - ТА089 и ФГ025.

Укупан садржај фитоестрогена у листу је био знатно виши него у цвету. Упркос томе количина генистеина је у сва три узорка била испод лимита детекције. Концентрација даидзеина је у једном узорку била испод лимита детекције, а вредност у популацији ЦС122 је била нешто виша од вредности у

популацији ФГ025. Формонетин је измерен у све три популације, а највиша вредност је присутна у популацији ТА089 (0.2488 mg/g). Биоханин А је био присутан у две популације. Највиша укупна количина изофлавона од 0.7091 mg/g налазила се у узорку из популације ЦС122.

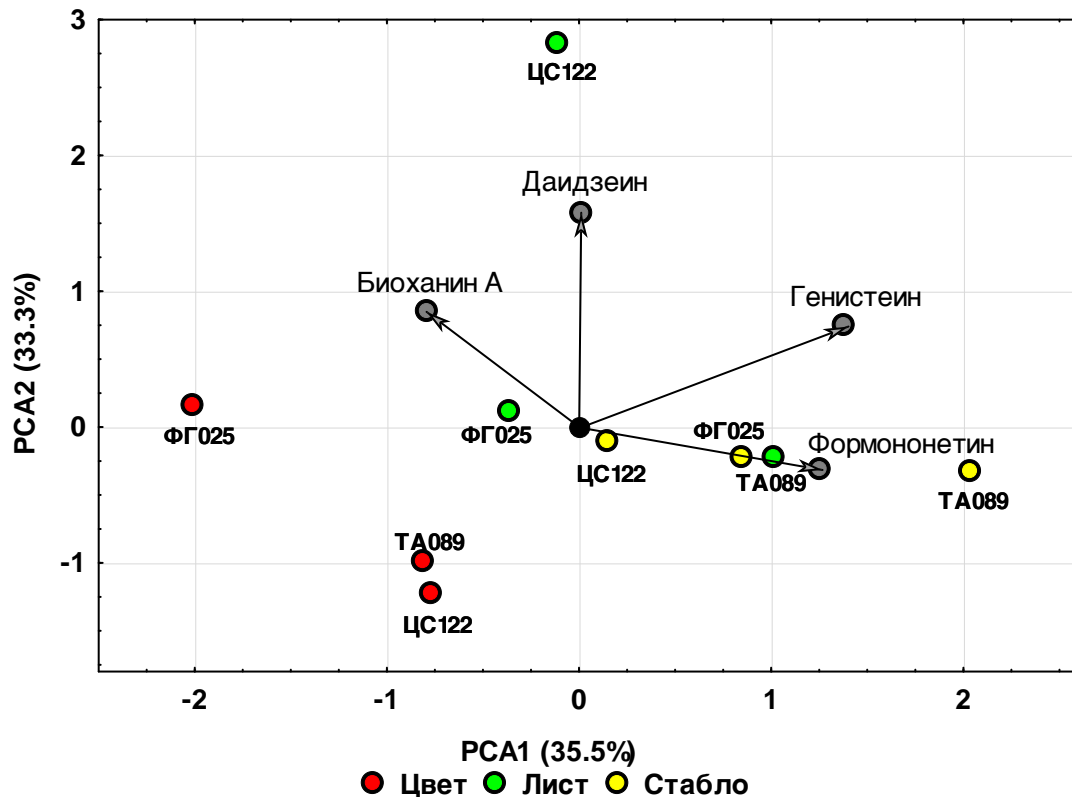
У стабљници беле детелине од сва четири праћена „хормона” садржај даидзеина је био најнижи. У једном узорку је био испод лимита детекције, док је код популације ФГ025 износио 0.0703 mg/g а у популацији ЦС122 - 0.05 mg/g. Количина генистеина се јавила у опсегу од 0.0439 mg/g (ЦС122) до 0.1947 mg/g (ТА089). Формонетин је био најприсутнији изофлавон у стабљници, највиша вредност је била 0.2113 mg/g (ТА089). Биоханин А је такође присутан у сва три узорка, и у овом случају популација ТА089 је имала највиши садржај изофлавона – 0.1347 mg/g. Укупно је највише изофлавона било у узорку из популације ТА089.

Табела 39. Садржај четири групе изофлавона у цветовима, листовима и стабљикама популација беле детелине.

део биљке	популација	даидзеин	генистеин	формонетин	биоханин А	укупно
цвет	ТА089	0.0000	0.0233	0.0000	0.0762	0.0995
	ФГ025	0.0000	0.0000	0.0000	0.3742	0.3742
	ЦС122	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
лист	ТА089	0.0000	0.0000	0.2488	0.0000	0.2488
	ФГ025	0.0810	0.0000	0.0933	0.0799	0.2542
	ЦС122	0.2990	0.0000	0.1910	0.2192	0.7091
стабљика	ТА089	0.0000	0.1947	0.2113	0.1347	0.5407
	ФГ025	0.0703	0.1178	0.1098	0.0677	0.3656
	ЦС122	0.0500	0.0439	0.1151	0.0924	0.3014

Подаци из табеле 39 су анализирани методом главних компоненти (РСА). Резултати ове анализе су приказани на графикону 28. Укупна варијабилност приказана са прве две осе износи 68.8%, при чему прва оса носи 35.5% а друга 33.3%. На распоред популација по хоризонтали највише утиче садржај формонетина, док је садржај даидзеина најодговорнији за вертикално раздвајање. Узорак ТА089 из стабљике је на крајњој десној страни, са највише формонетина, док узорак стабљике ФГ025 и листа ТА089 имају нешто мање истог хормона. Сви узорци цвета су насупрот вектора особина што

означава низак садржај изофлавона. Положај узорка листа популације ЦС122 (на графикану 28) условљен је садржајем даидзеина.



Графикон 28. Графички приказ пројекција 3 популације врсте *Trifolium repens* и 4 изофлавона, на прву и другу коресподентну осу.

4.3. Резултати анализе врсте *Trifolium hybridum*

Од почетних 11 популација које су укључене у пољски експеримент, за анализу је одабрано 6 популација (ИС037, ИС059, ИС077, ИС086, РА100 и ЦС072). Стопа преживљавања популације ЦС072 је била 60%, док је ИС086 имала 75% преживелих јединки. Код осталих популација стопа преживљавања је била 100%. Популације које нису увршћене у експеримент имале су веома слабу клијавост или пак нису могле да преживе током прве године истраживања.

4.3.1. Морфолошке карактеристике

За сваку од посматраних морфолошких особина и сваку годину је извршена једнофакторијална анализа варијанси (Табела 40). Вредности зелене

масе у првој и другој години нису испуњавале услов хомогености варијанси те је у овим случајевима извршена трансформација података квадратним кореном.

Из табеле 40 се уочава значајна статистичка разлика (на нивоу $p < 0.01$) између посматраних популација код свих морфолошких особина, осим код ширине листа.

Табела 40. Једнофакторијална анализа варијансе праћених морфолошких особина врсте *Trifolium hybridum*.

особина	2010. година		2011. година	
	F	p	F	p
зелена маса	14.2	0	14.0	0
висина	13.4	0	9.15	0
број изданака	4.10	0.0018	10.8	0
број интернодија	5.69	0.0001	10.8	0
број грана	7.84	0	8.77	0
дужина листа	7.00	0	8.30	0
ширина листа	1.09	0.3684	0.06	0.9977

Принос зелене масе

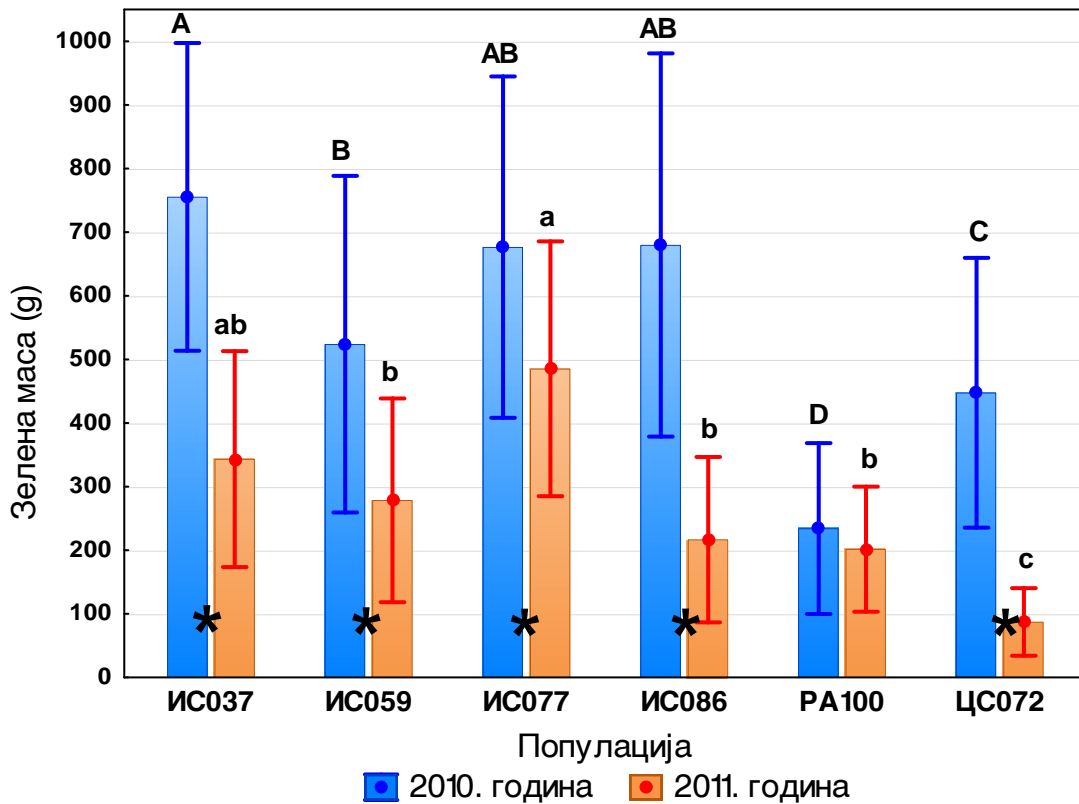
У табели 41 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем зелене масе појединачних биљака врсте *T. hybridum*.

Табела 41. Просечне вредности зелене масе (g), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	756 ± 242 (32%)	343 ± 170 (49%)	-55 %
ИС059	524 ± 265 (51%)	278 ± 160 (58%)	-47 %
ИС077	676 ± 268 (40%)	485 ± 200 (41%)	-28 %
ИС086	680 ± 301 (44%)	217 ± 130 (60%)	-68 %
РА100	234 ± 134 (57%)	202 ± 98 (49%)	-14 %
ЦС072	448 ± 212 (47%)	87 ± 53 (61%)	-81 %
просек	553	267	-52%

Посматрањем резултата приказаних у табели 41 уочава се да у 2010. години просечна зелена маса варира у опсегу од 234 g (РА100) до 756 g (ИС037). Највећи коефицијент варијације од 57% имала је популација РА100 са истовремено најнижом вредношћу просечне масе док је популација ИС037 са највишом вредношћу масе имала најнижи КВ (32%). Са графикана 29 се уочава да су статистички најбоље резултате у 2010. години оствариле популације

ИС037 (756 g), ИС086 (680 g) и ИС077 (676 g) што је обележено великим словима А и АВ на графикаону 29.



Графикон 29. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за зелену масу (g) популација врсте *T. hybridum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

У 2011. години просечни принос зелене масе се креће у опсегу од 87 g (ЦС072) до 485 g (ИС077). Код свих популација осим код РА100 долази и до повећања коефицијента варијације. Статистички најбоље резултате поред ИС077 остварује и популација ИС037 (343 g).

Смањење просечног приноса зелене масе у 2011. години забележено је код свих популација и креће се од 14% (РА100) до чак 81% (ЦС072). Ово смањење није статистички значајно једино код популације РА100 (Графикон 1).

Просечно смањење зелене масе код свих популација током две године износи 286 g односно 49%.

Принос суве материје

Вредности суве материје популација шведске детелине крећу се од 65.5 g (РА100) до 189 g (ИС037). Поред популације ИС037 високом вредношћу карактерише се и популација ИС086. Сразмерно са падом зелене масе смањује се садржај и суве масе по биљци. Просечне вредности у 2011. години се крећу од 18.7 g (ЦС072) до 94.6 g (ИС077).

Табела 42. Просечне вредности суве материје (g) по популацију, приказане за 2010. и 2011.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	189.0 ± 60.5	72.0 ± 35.7	-62%
ИС059	120.5 ± 61.0	55.6 ± 32.0	-54%
ИС077	162.2 ± 64.3	94.6 ± 39.0	-42%
ИС086	183.6 ± 81.3	44.7 ± 26.8	-76%
РА100	65.5 ± 37.5	39.4 ± 19.1	-40%
ЦС072	112.0 ± 53.0	18.7 ± 11.4	-83%
просек	138.8	54.2	-61%

Висина биљака

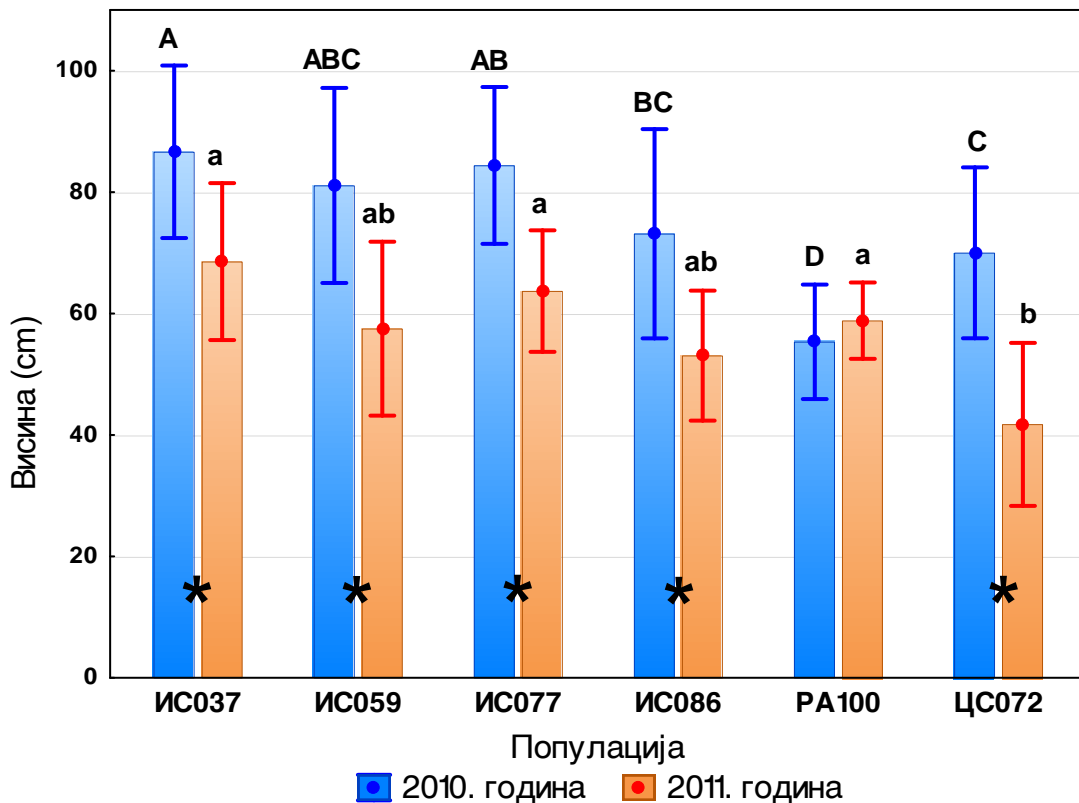
У табели 43 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем висине појединачних биљака врсте *T. hybridum*.

Табела 43. Просечне вредности висине (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	86.7 ± 14.2 (16%)	68.6 ± 12.9 (19%)	-21 %
ИС059	81.1 ± 16.1 (20%)	57.5 ± 14.3 (25%)	-29 %
ИС077	84.4 ± 12.9 (15%)	63.7 ± 10.0 (16%)	-25 %
ИС086	73.2 ± 17.2 (24%)	53.1 ± 10.7 (20%)	-27 %
РА100	55.4 ± 9.4 (17%)	58.8 ± 6.3 (11%)	6 %
ЦС072	70.0 ± 14.1 (20%)	41.8 ± 13.4 (32%)	-40 %
просек	75.1	57.2	-23 %

У 2010. години просечна висина биљака варира у опсегу од 55.4 cm (РА100) до 86.7 cm (ИС037). Вредности коефицијената варијације су релативно ниски и уједначени. Са графикана 30 се уочава да статистички најбоље резултате поред ИС037 остварују популације ИС077 (84.4 g) и ИС059 (81.1 g).

У 2011. години просечна висина варира од 41.8 cm (ЦС072) до 68.6 cm (ИС037). Популација РА100 бележи повећање просечне висине у односу на 2010. годину при чему то повећање није статистички значајно (Графикон 30). Остале популације бележе статистички значајно смањење просечне висине које се креће од 21% (ИС037) до 40% (ЦС072). С обзиром да је популација РА100 забележила извесно повећање висине а све остале популације имају статистички значајан пад дошло је до уједначавања популација тако да између пет најбољих популација у 2011. години нема статистички значајних разлика.



Графикон 30. Средње вредности, стандардна девијација и post hoc тестови за висину (cm) популација врсте *T. hybridum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Број изданака

У табели 44 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја изданака појединачних биљака врсте *T. hybridum*.

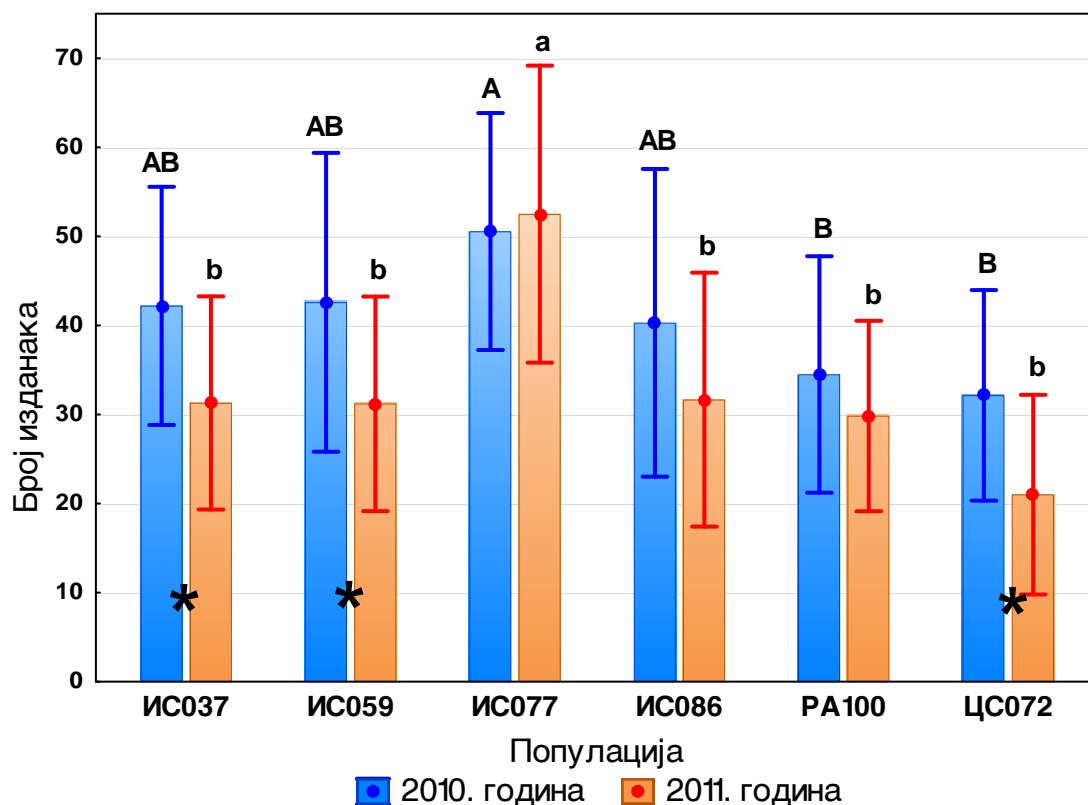
Просечан број изданака у 2010. години варира у опсегу од 32.2 (ЦС072) до 50.6 (ИС077). Популација ИС077 имала је најнижи КВ (26%), највиши КВ се јавио у популацији ИС086 (43%). Са графикана 31 се уочава да су у 2010.

години статистички најбоље резултате оствариле популације ИС077, ИС059, ИС037 и ИС086.

Табела 44. Просечне вредности броја изданака, стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	42.2 ± 13.4 (32%)	31.3 ± 12 (38%)	-26 %
ИС059	42.6 ± 16.8 (39%)	31.2 ± 12 (39%)	-27 %
ИС077	50.6 ± 13.3 (26%)	52.5 ± 16.7 (32%)	4 %
ИС086	40.3 ± 17.3 (43%)	31.7 ± 14.3 (45%)	-21 %
РА100	34.5 ± 13.3 (38%)	29.8 ± 10.7 (36%)	-14 %
ЦС072	32.2 ± 11.8 (37%)	21.0 ± 11.2 (53%)	-35 %
просек	40.4	32.9	-20 %

У 2011. години долази до пада броја изданака код свих популација осим код ИС077 при чему је ова промена статистички значајна код ЦС072, ИС059 и ИС037.



Графикон 31. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број изданака популација врсте *T. hybridum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Због значајног пада осталих популација у 2011. години ИС077 бележи статистички најбоље резултате (52.5) док између осталих популација нема статистички значајних разлика.

Број интернодија

У табели 45 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја интернодија појединачних биљака врсте *T. hybridum*.

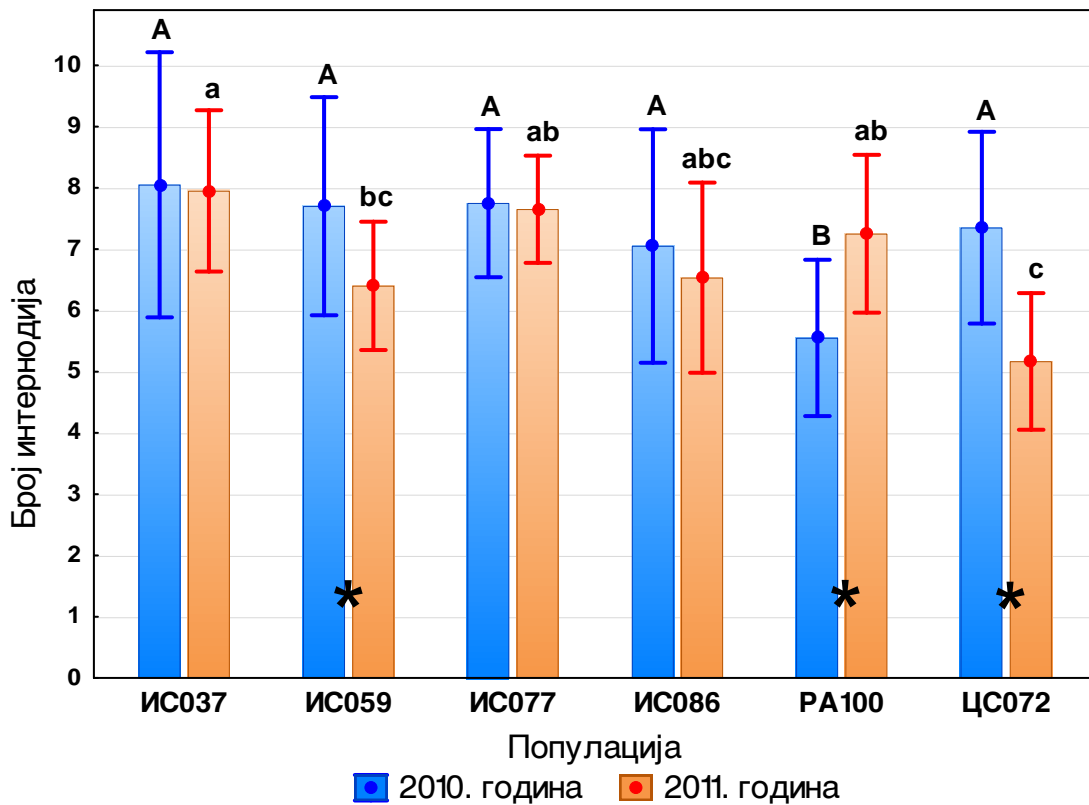
Табела 45. Просечне вредности броја интернодија, стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	8.05 ± 2.16 (27%)	7.95 ± 1.32 (17%)	-1 %
ИС059	7.70 ± 1.78 (23%)	6.40 ± 1.05 (16%)	-17 %
ИС077	7.75 ± 1.21 (16%)	7.65 ± 0.88 (11%)	-1 %
ИС086	7.05 ± 1.90 (27%)	6.53 ± 1.55 (24%)	-7 %
РА100	5.55 ± 1.28 (23%)	7.25 ± 1.29 (18%)	31 %
ЦС072	7.35 ± 1.57 (21%)	5.17 ± 1.11 (22%)	-30 %
просек	7.24	6.82	-4 %

У 2010. години просечан број интернодија варира у опсегу од 5.55 (РА100) до 8.05 (ИС037). Вредности коефицијента варијације су релативно ниски и крећу се од 16% (ИС077) до 27% (ИС086). Популација РА100 бележи статистички значајно мањи број интернодија у односу на остале популације (Графикон 32).

У 2011. години популација РА100 бележи статистички значајно повећање броја интернодија од 31% док остале популације имају смањење просечног броја интернодија које је статистички значајно код ЦС072 (30%) и ИС059 (17%) (Графикон 32).

У 2011. години просечан број интернодија варира у опсегу од 5.17 (ЦС072) до 7.95 (ИС037). Коефицијенти варијације су у највећем броју случајева нижи него у 2010. години. Статистички најбоље резултате остварују популације ИС037 (7.95), ИС077 (7.65), РА100 (7.25) и ИС086 (6.53).



Графикон 32. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број интернодија популација врсте *T. hybridum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звездице приказују статистички значајне разлике између година.

Број бочних грана

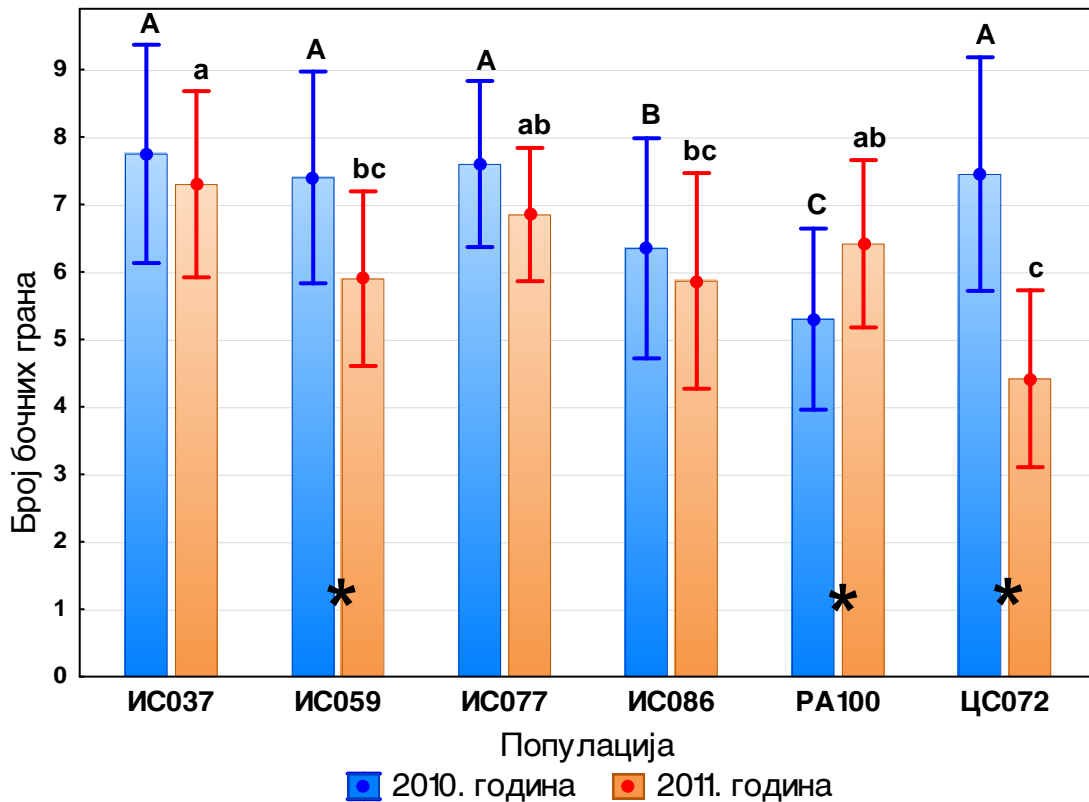
У табели 46 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја бочних грана појединачних биљака врсте *T. hybridum*.

Табела 46. Просечне вредности броја бочних грана, стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	7.75 ± 1.62 (21%)	7.30 ± 1.38 (19%)	-6 %
ИС059	7.40 ± 1.57 (21%)	5.90 ± 1.29 (22%)	-20 %
ИС077	7.60 ± 1.23 (16%)	6.85 ± 0.99 (14%)	-10 %
ИС086	6.35 ± 1.63 (26%)	5.87 ± 1.60 (27%)	-8 %
РА100	5.30 ± 1.34 (25%)	6.42 ± 1.24 (19%)	21 %
ЦС072	7.45 ± 1.73 (23%)	4.42 ± 1.31 (30%)	-41 %
просек	6.97	6.13	-11 %

Просечан број бочних грана у 2010. години варира у опсегу од 5.30 (РА100) до 7.60 (ИС077). Вредности коефицијента варијације се крећу од 16% (ИС077) до 26% (ИС086). Статистички најбоље резултате у овој години су оствариле популације ИС037 (7.75), ИС077 (7.60), ЦС072 (7.45) и ИС059 (7.40) (Графикон 5).

У 2011. години најнижи просечан број бочних грана имала је популација ЦС072 (4.42) док је највиши број од 7.30 имала популација ИС037. Популација РА100 бележи раст, од 21%, док остале популације бележе смањење броја бочних грана. Ово смањење је статистички значајано код ЦС072 (41%) и код ИС059 (20%).



Графикон 33. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број бочних грана популација врсте *T. hybridum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

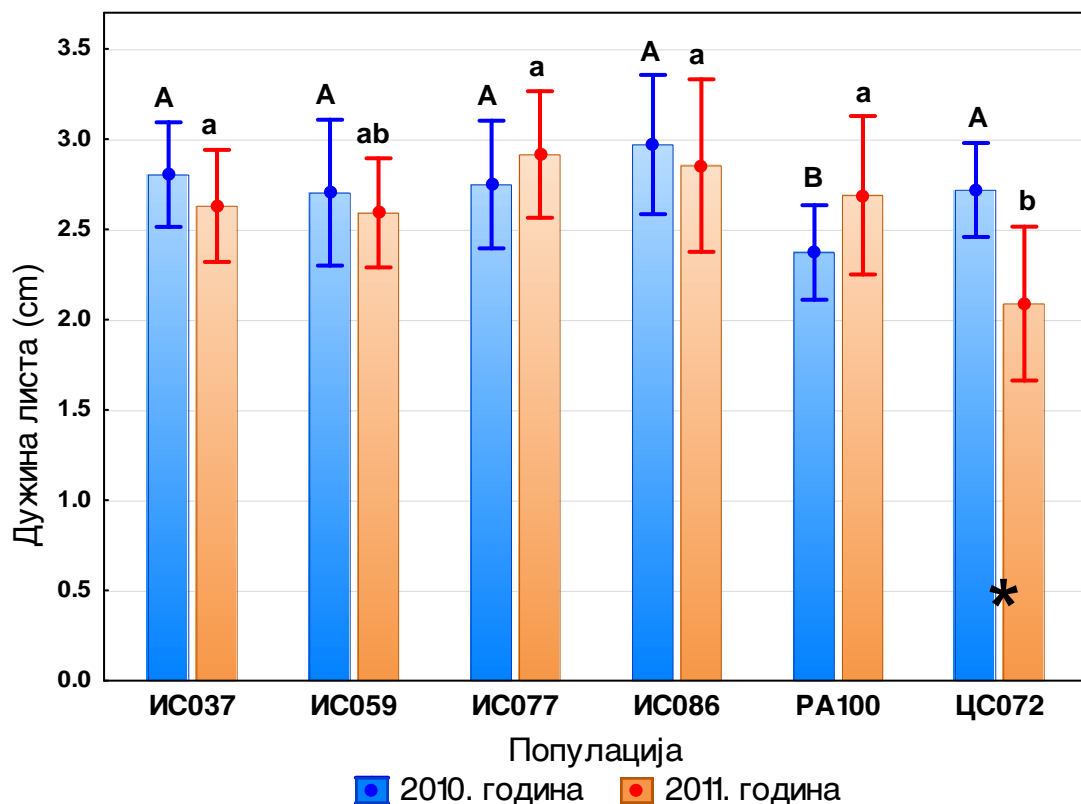
Дужина листа

У табели 47 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем дужине листа појединачних биљака врсте *T. hybridum*.

Табела 47. Просечне вредности дужине листа (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	2.80 ± 0.29 (10%)	2.63 ± 0.31 (12%)	-6 %
ИС059	2.70 ± 0.4 (15%)	2.59 ± 0.3 (12%)	-4 %
ИС077	2.75 ± 0.35 (13%)	2.92 ± 0.35 (12%)	6 %
ИС086	2.97 ± 0.39 (13%)	2.85 ± 0.48 (17%)	-4 %
РА100	2.37 ± 0.26 (11%)	2.69 ± 0.44 (16%)	14 %
ЦС072	2.72 ± 0.26 (10%)	2.09 ± 0.43 (20%)	-23 %
просек	2.72	2.63	-3 %

Просечна дужина листа у 2010. години креће се од 2.37 cm (РА100) до 2.97 cm (ИС086). Вредности коефицијента варијације су релативно ниске и уједначене, крећу се од 10% (ИС037 и ИС072) до 15% (ИС059). Једина популација која се током 2010. године статистички значајно издвојила по својој, у овом случају ниском вредношћу дужине листа, је РА100 (Графикон 34).



Графикон 34. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за дужину листа (cm) популација врсте *T. hybridum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

У 2011. години просечна дужина листа варира у опсегу од 2.09 cm (ЦС072) до 2.92 cm (ИС077). Коефицијенти варијације су нешто виши него у 2010. години али и даље релативно мали. У 2011. години долази до статистички значајног опадања просечне дужине листа код популације ЦС072 тако да она у овој години бележи статистички најмању вредност ове особине.

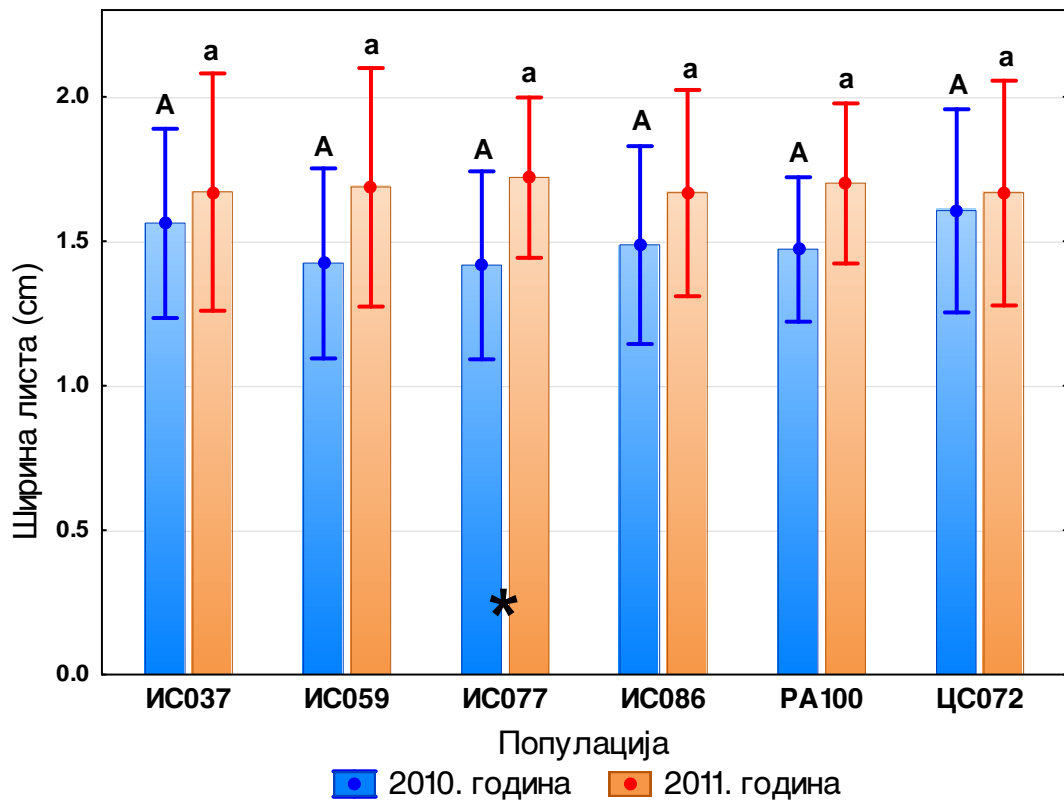
Ширина листа

У табели 48 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем ширине листа појединачних биљака врсте *T. hybridum*.

Табела 48. Просечне вредности ширине листа (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

Популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС037	1.56 ± 0.33 (21%)	1.67 ± 0.41 (25%)	7 %
ИС059	1.42 ± 0.33 (23%)	1.69 ± 0.41 (24%)	19 %
ИС077	1.42 ± 0.33 (23%)	1.72 ± 0.28 (16%)	21 %
ИС086	1.49 ± 0.34 (23%)	1.67 ± 0.36 (21%)	12 %
РА100	1.47 ± 0.25 (17%)	1.70 ± 0.28 (16%)	16 %
ЦС072	1.61 ± 0.35 (22%)	1.67 ± 0.39 (23%)	4 %
просек	1.49	1.69	13 %

У 2010. и 2011. не постоји статистички значајних разлика у ширини листа између популација. Код свих популација је уочено повећање ширине листа у 2011. години а то повећање је статистички значајно код популације ИС077 (Графикон 35).



Графикон 35. Средње вредности, стандардна девијација и post hoc тестови за ширину листа (cm) популација врсте *T. hybridum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Корелације морфолошких особина

За израчунавање парцијалних коефицијента корелације коришћене су све појединачне вредности особина анализираних популација.

Табела 49. Корелације морфолошких особина популација врсте *Trifolium hybridum*.

	зелена маса	висина	број изданака	број интернодија	бр. бочних грана	дужина листа	ширина листа
зелена маса		***	***	**	**		*
висина	0.549		**	***	***		**
бр. изданака	0.722	0.239		*	*		
бр. интернодија	0.265	0.351	0.223		***		
бр. бочних грана	0.245	0.415	0.190	0.868			
дужина листа	0.103	0.103	-0.069	0.082	0.022		***
ширина листа	-0.18	-0.258	-0.140	0.013	-0.115	0.485	

корелације су статистички значајне на нивоу (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

Код шведске детелине коефицијент корелације израчунат је на три нивоа значајности, при чему се на свим нивоима појавила статистичка значајност. Зелена маса биљке је високо корелисана са висином и бројем изданака; висина са бројем интернодија и бројем бочних грана; број интернодија и број бочних грана као и дужина и ширина листа међусобно.

Зелена маса и висина су негативно корелисане са ширином листа. Ове корелације су статистички значајне.

Мултиваријациона анализа морфолошких особина

Једнофакторијална МАНОВА је показала да у обе посматране године постоји статистички значајна разлика између популација уколико посматрамо све морфолошке особине заједно (у 2010. години је Wilk's $\Lambda = 0.261$, $F = 4.913$, $p < 0.0001$, док је у 2011. години Wilk's $\Lambda = 0.285$, $F = 3.663$, $p < 0.0001$).

Да би се установио значај сваке особине за раздвајање посматраних популација, примењена је дискриминантна анализа за сваку годину посебно (табела 50).

Табела 50. Дискриминантна анализа морфолошких особина популација врсте *Trifolium hybridum*.

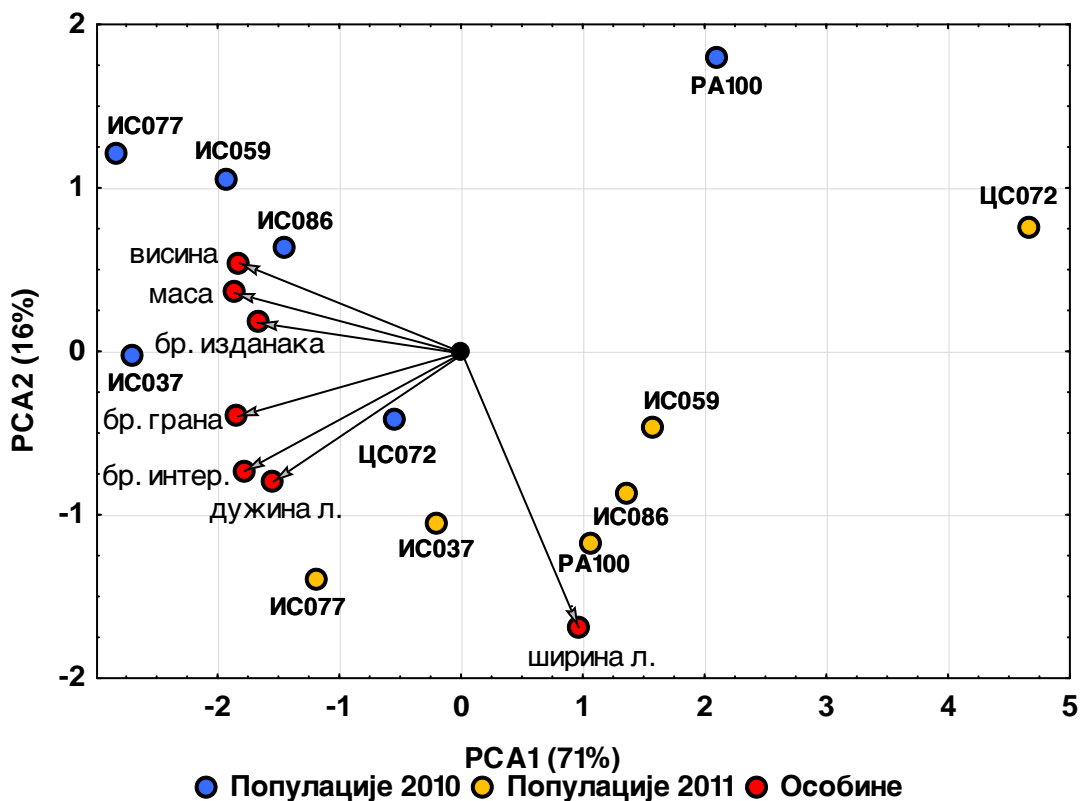
	2010. година			2011. година		
	Wilk's Λ	p	R ²	Wilk's Λ	p	R ²
зелена маса	0.354	0.0000	0.677	0.331	0.0196	0.746
висина	0.313	0.0012	0.359	0.295	0.6863	0.559
бр. изданака	0.328	0.0001	0.622	0.319	0.0747	0.697
бр. интернодија	0.283	0.1089	0.762	0.312	0.1531	0.806
бр. бочних грана	0.294	0.0213	0.770	0.302	0.3790	0.836
дужина листа	0.325	0.0002	0.321	0.373	0.0002	0.139
ширина листа	0.285	0.0809	0.385	0.292	0.8331	0.176

У 2010. години статистички значајан допринос разликовању популација имају зелена маса (Wilk's $\Lambda = 0.354$), број изданака (Wilk's $\Lambda = 0.328$), дужина листа (Wilk's $\Lambda = 0.325$) и висина (Wilk's $\Lambda = 0.313$). Број бочних грана има утицаја на нивоу значајности $p < 0.05$ док број интернодија и ширина листа немају статистички значајног утицаја на разликовање популација. У 2011. години само дужина листа има статистички значајног утицаја ($p < 0.01$) на

раздвајање популација, зелена маса има статистички значајан утицај на нивоу $p < 0.05$, док остале особине немају статистички значајан утицај на раздвајање популација.

Код већине особина у 2010. години се уочава висока редувантност (R^2) мерених особина (само код висине, ширине и дужине листа је она мања од 60%). У 2011. години проценат редувантности се код свих особина осим ширине и дужине листа даље повећава што доводи до смањеног значаја истих на раздвајање популација. Тако да у 2011. години само дужина листа статистички значајно утуче на раздвајање популација на нивоу $p < 0.01$. Ширина листа, и поред тога што има низак ниво редувантности, не доприноси раздвајању популација јер нема статистички значајних разлика по овој особини између популација ни у једној од посматраних година.

Како би се јасније уочио однос популација у посматраним годинама у односу на њихове морфолошке особине, извршена је анализа главних компоненти чији је графички приказ дат на графикаону 36.



Графикон 36. Графички приказ резултата анализе главних компоненти морфолошких особина популација врсте *Trifolium hybridum* у равни прве и друге осе.

Анализа главних компоненти је показала да прве две осе обухватају 93% варијабилности морфолошких карактеристика, од тога на прву осу отпада 83% укупне варијабилности а на другу 10%.

Посматрајући прву осу уочавамо да све популације осим РА100 у 2010. години бележе боље резултате у свим посматраним особинама осим у ширини листа. У 2011. све популације осим РА100 бележе смањење просечних вредности посматраних параметара. Највећи пад у вредностима морфолошких особина је остварила популација ЦС072 (која у 2011. години код свих особина бележи најниже резултате) а затим и ИС059 и ИС086. Најмањи пад просечних вредности је забележен код ИС077 и ИС037 које су и у 2010. години имале најбоље резултате. Популација РА100, за разлику од осталих у 2011. бележи повећање броја бочних грана, броја интернодија и дужине листа. Положај популација у односу на другу осу је одређен ширином листа тако да се у доњем делу графика налазе популације са већом просечном ширином листа. Уочава се да код свих популација долази до повећања просечне ширине листа у 2011. години.

4.3.2. Хемијски састав суве материје

На испитиваним популацијама врсте *Trifolium hybridum* су мерене следеће хемијске карактеристике: сирови пепео, сирови протеини, сирова целулоза, сирове масти и безазотне екстрактивне материје (БЕМ). Просечне вредности су дате у табели 51.

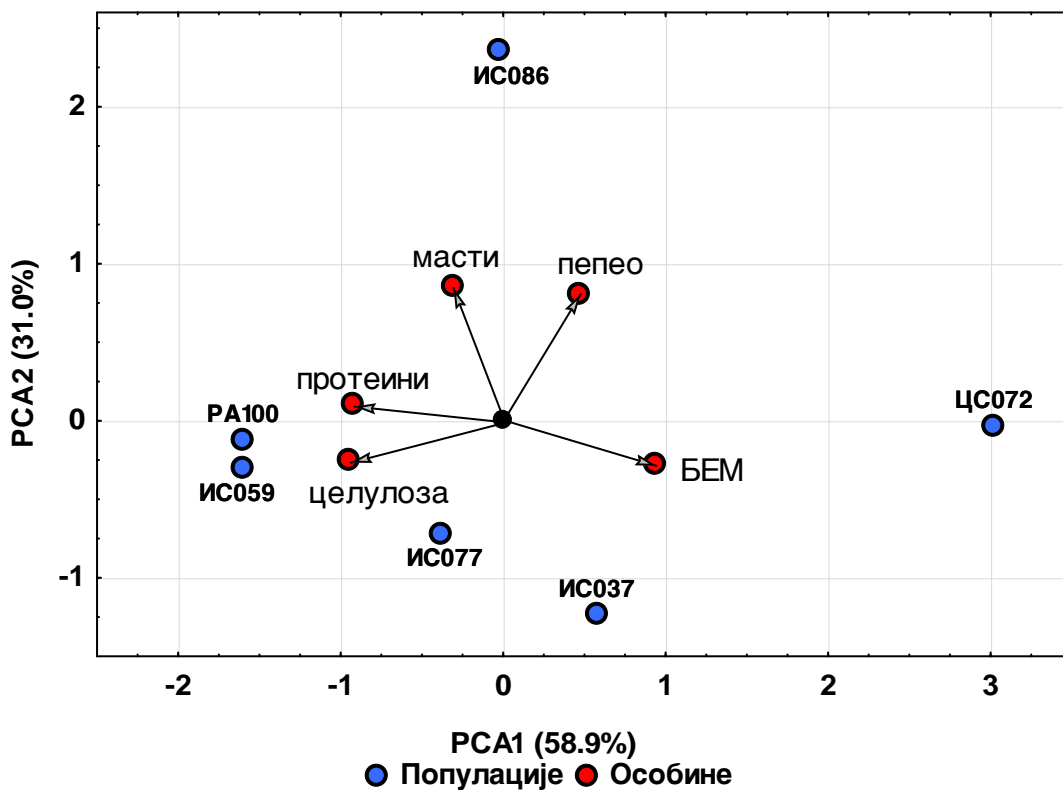
Табела 51. Просечне вредности и стандардне девијације хемијских особина популација врсте *Trifolium hybridum* изражене у процентима суве материје.

популација	пепео	протеини	целулоза	масти	БЕМ
ИС037	11.88 ± 0.90	18.86 ± 1.83	23.21 ± 1.43	2.03 ± 0.158	44.02 ± 3.27
ИС059	12.58 ± 0.10	20.47 ± 1.24	24.61 ± 1.36	2.13 ± 0.030	40.21 ± 1.16
ИС077	13.57 ± 0.90	19.63 ± 1.15	24.17 ± 1.43	1.86 ± 0.042	40.77 ± 1.37
ИС086	15.73 ± 1.52	19.52 ± 1.42	21.87 ± 0.56	2.51 ± 0.031	40.37 ± 3.68
РА100	12.96 ± 0.15	20.21 ± 0.93	25.24 ± 0.32	2.12 ± 0.107	39.47 ± 1.59
ЦС072	15.03 ± 0.19	18.64 ± 0.34	17.78 ± 0.62	1.91 ± 0.064	46.64 ± 3.51
просек	13.63	19.56	22.81	2.09	41.91

Популација која у сувој материји садржи највиши проценат протеина је ИС059 (20.47%), док су најниже вредности забележене код популације ЦС072 (18.64%). Максимална вредност целулозе је присутна у популацији РА100 (25.24%) док је најнижа код популације ЦС072 (17.78%). Вредности сировог пепела крећу се од 11.18% (ИС037) до 15.73% (ИС086). Популација ИС077 имала је најнижи садржај масти – 1.86%, док је у узорку из популације ИС086 тај удео највиши – 2.51%. Подаци из табеле 51 су анализирани методом главних компоненти (РСА). Резултати ове анализе су графички приказани на графикону 37.

Најбољи однос протеина и целулозе јавио се у популацији ИС086, која истовремено има и највиши садржај масти.

Анализа главних компоненти је показала да прве две осе обухватају 90% варијабилности хемијских карактеристика, од тога на прву осу отпада 58.9% укупне варијабилности а на другу 31%.



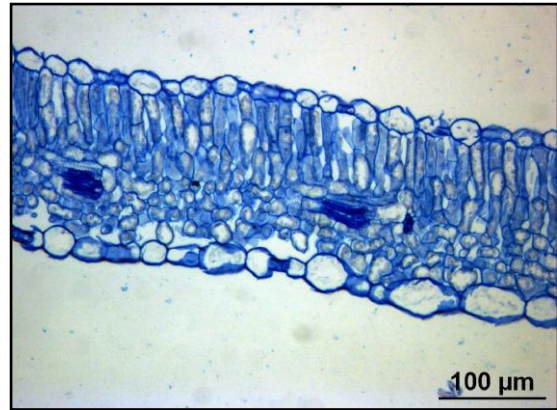
Графикон 37. Графички приказ пројекција 6 популација врсте *Trifolium hybridum* и 5 хемијских особина, на прве две коресподентне осе.

Положај популација у односу на прву осу је одређен количином протеина, целулозе и БЕМ-а, тако да се у левом делу графика налазе популације које се карактеришу високим садржејем протеина (РА100 и ИС059) и целулозе (РА100, ИС059 и ИС077) док се на десној страни налазе популације ЦС072 и ИС037 које имају високи садржај БЕМ-а и веома низак садржај протеина док се ЦС072 карактерише и ниским садржајем целулозе. На другој оси се издваја популација ИС086 са високим садржајем масти и пепела. Остале популације су у количини масти уједначене док се повећана количина пепела налази и код ЦС072.

4.3.3. Анатомија листа



Слика 21. Пресек листа врсте *Trifolium hybridum* у нивоу централног нерва.



Слика 22. Пресек у бочном делу листа врсте *Trifolium hybridum*.

Епидермис лица и налицја чини по један слој ћелија. Палисадно ткиво се састоји из 2 слоја ћелија док се сунђерасто ткиво састоји из већег броја ћелија неправилног облика са бројним интерцелуларима. Код свих комбинација особина-пресек је био испуњен услов хомогености варијанси те није било потребе за трансформацијом измерених величина. Резултати ових анализа су дати у табели 52.

Табела 52. Анализа варијансе анатомских карактеристика врсте *Trifolium hybridum*.

	епидермис лица		палисадно ткиво		сунђерасто ткиво		епидермис налицја		дебљина листа		дебљина центр. нерва	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
популација	3.67	0.013	1.54	0.216	3.26	0.022	3.51	0.016	1.780	0.155	3.65	0.013
пресек	0.62	0.604	0.28	0.843	2.12	0.106	1.69	0.177	2.316	0.083		
попул×пресек	0.922	0.543	0.76	0.714	1.26	0.248	1.16	0.320	0.446	0.959		

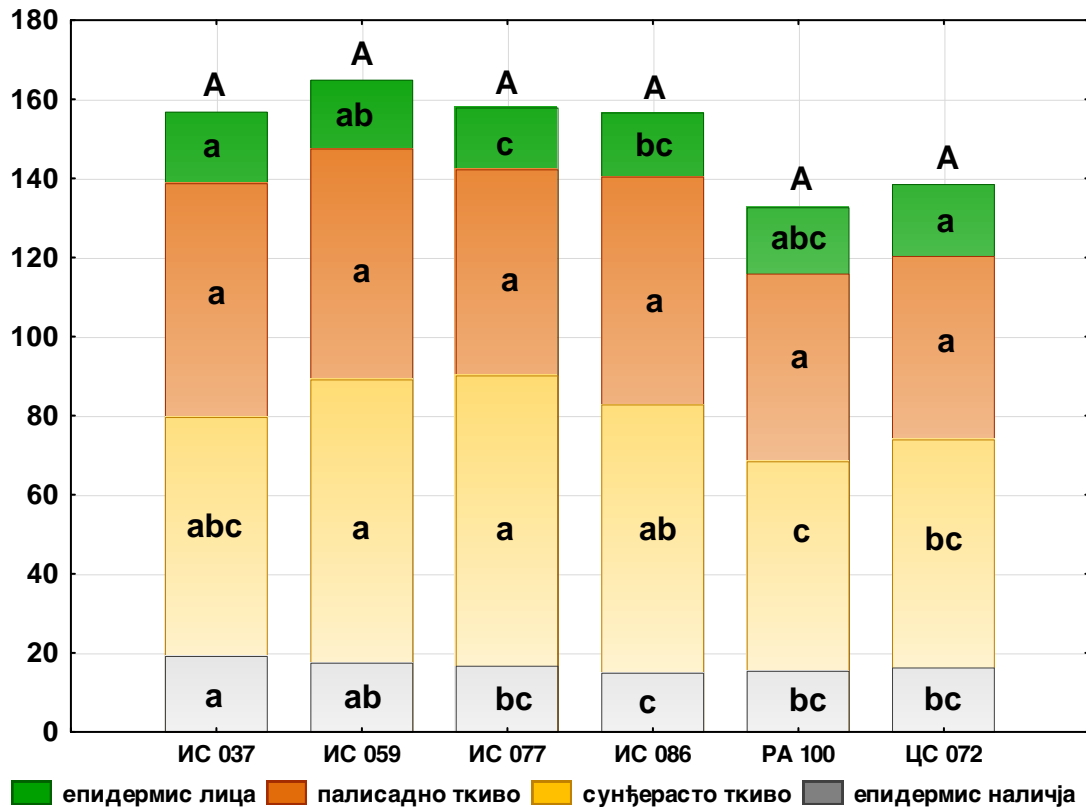
Из табеле 52 се уочава да ни код једне особине не постоји значајна статистичка разлика између популација на нивоу $p < 0.01$. Код епидермиса лица, сунђерастог ткива, епидермиса наличја и дебљине централног нерва постоји статистички значајна разлика на нивоу $p < 0.05$. Ни код једне особине нема статистички значајних разлика између положаја пресека листа. Такође се види да нема значајне интеракције између популације и пресека.

Табела 53. Средње вредности (μm) и стандардна девијација анатомских карактеристика листа врсте *Trifolium hybridum*.

популација	епидермис лица	палисадно ткиво	сунђерасто ткиво	епидермис наличја	дебљина листа	дебљина центр. нерва
ИС037	18.10 ± 2.02	59.09 ± 12.9	60.39 ± 12.2	19.09 ± 2.68	156.7 ± 22.2	529.2 ± 87.4
ИС059	17.40 ± 1.84	58.39 ± 10.4	71.56 ± 10.4	17.39 ± 1.69	164.7 ± 18.8	520.8 ± 65.8
ИС077	15.64 ± 1.71	52.08 ± 12.4	73.37 ± 13.6	16.63 ± 2.26	157.7 ± 23.4	572.2 ± 88.5
ИС086	16.21 ± 2.44	57.57 ± 15.7	67.79 ± 15.3	14.87 ± 2.15	156.4 ± 31.6	409.4 ± 72.9
РА100	16.78 ± 1.65	47.45 ± 7.1	52.92 ± 7.5	15.35 ± 2.59	132.5 ± 11.7	487.1 ± 95.5
ЦС072	18.17 ± 1.85	46.36 ± 8.7	57.64 ± 6.5	16.17 ± 2.59	138.3 ± 13.2	404.4 ± 59.6
просек	17.05	53.48	63.94	16.58	151.1	487.2

Највиши епидермис лица имају популације ЦС072 (18.17 μm) и ИС037 (18.10 μm) док код популације ИС077 пречник ових ћелија има најниже вредности (15.64 μm). Вредности дебљине палисадног слоја крећу се од 46.36 μm (ЦС072) до 59.09 μm (ИС037). Најмања дебљина сунђерастог ткива је забележена код популације РА100 (52.92 μm) а највећа код популација из источне Србије: ИС059 (71.56 μm) и ИС077 (73.37 μm). Ћелије које чине епидермис наличја су највеће дебљине унутар популације ИС037 (19.09 μm) а најтање код популације ИС086 (14.87 μm). Популације се статистички значајно разликују по дебљини централног нерва где се вредности крећу од 572.2 μm код ИС077 до 404.4 μm код ЦС072.

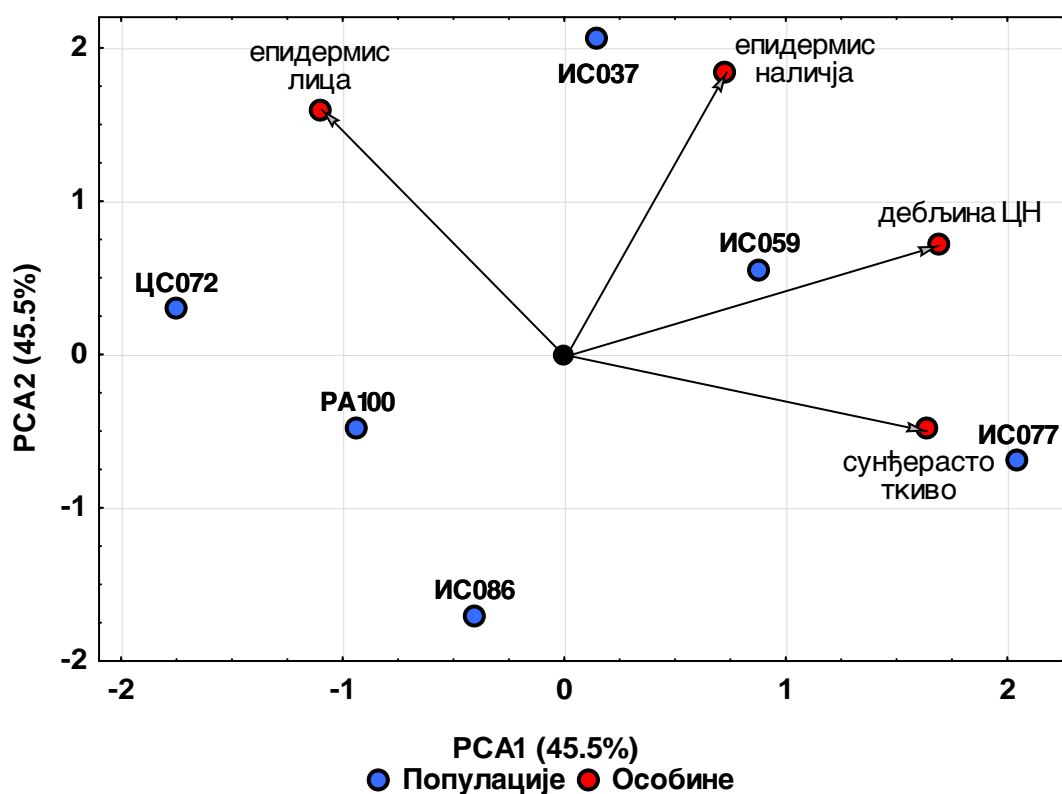
На графикону 38 је дат приказ резултата из табеле 53.



Графикон 38. Приказ средњих вредности и post hoc Фишеровог LSD теста за епидермис лица, палисадно ткиво, сунђерасто ткиво и епидермис налицја популација врсте *Trifolium hybridum*. Различита слова унутар стубића означавају статистички значајне разлике одговарајућих особина ($p < 0.05$). Велика слова показују разлике између популација.

Генерално популације из источне Србије које су се издвојиле раније као приносније (ИС037, ИС059, ИС077), са веома добрим квалитетом суве материје се одликују и већом укупном дебљином листа.

У анализи главних компоненти (PCA) укључене су следеће особине: епидермис лица, сунђерасто ткиво, епидермис налицја и дебљина централног нерва. Палисадно ткиво и дебљина листа нису укључену у анализу јер се популације по овој особини не разликују на прагу значајности $p < 0.05$. Резултати добијени овом методом су приказани на графикону 39.



Графикон 39. PCA анализа анатомских карактеристика 6 популација врсте *Trifolium hybridum*.

Прве две осе учествују са 91% у приказивању укупне варијабилности. Са графика се уочава да се популација ИС077 издваја по дебљини сунђерастог ткива и дебљини централног нерва. ИС037 се издваја по висини епидермиса лица и налицја. ИС059 има добре карактеристике све четири посматране особине. ЦС072 има високу дебљину епидермиса листа. Популације РА100 и ИС086 бележе просечне или исподпросечне вредности за посматране особине.

4.3.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност

Вредност добијене мерењем секундарних метаболита приказане су табеларно као средње вредности прерачунате на основу мерења три узорка.

Количина фенолних једињења варира у опсегу од 46.8 mg GA/g екстракта код популације ИС077 до 69.9 mg GA/g код популације ИС086. Најнижа концентрација флавоноида измерена је код популације ИС037 - 55.3 mg Ru/g, док је највиша вредност од 79.8 mg Ru/g забележена у узорку из

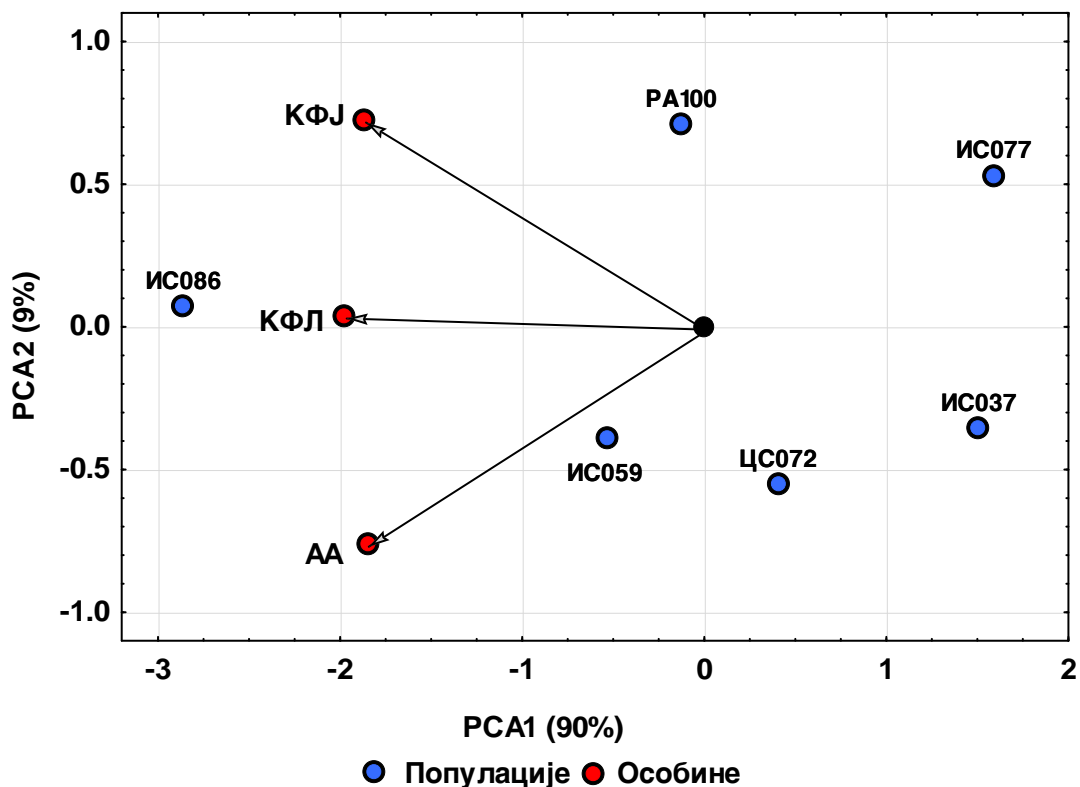
популације ИС086. Најјача антиоксидативна активност је забележена код ИС037 (324 $\mu\text{g}/\text{mol}$) а најслабија код ИС077 (467 $\mu\text{g}/\text{mol}$).

Табела 54. Антиоксидативна активност (IC_{50} вредности изражене у $\mu\text{g}/\text{ml}$), количина фенолних једињења ($\text{mg GA}/\text{g}$ екстракта) и количина флавоноида ($\text{mg Ru}/\text{g}$ екстракта) 6 популација врсте *Trifolium hybridum*.

Популација	антиоксидативна активност ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ^a	количина фенолних једињења ($\text{mg GA}/\text{g}$)	количина флавоноида ($\text{mg Ru}/\text{g}$)
ИС037	428	48.8	55.3
ИС059	368	60.1	64.5
ИС077	467	46.8	61.1
ИС086	324	69.9	79.8
РА100	423	58.6	68.8
ЦС072	382	53.2	60.1
просек	399	56.2	64.9

^a антиоксидативна активност је утолито јача уколико је њена измерена вредност мања.

Подаци из табеле су анализирани методом главних компоненти (РСА). Резултати ове анализе су приказани на графикону 40.



Графикон 40. РСА анализа секундарних метаболита 6 популација врсте *Trifolium hybridum*. (АА – антиоксидативна активност, КФЈ – количина фенолних једињења, КФЛ – количина флавоноида)

Прве две осе приказују 99% варијабилности између популација. Прва оса учествује са 90%, а друга са 9% на раздвајање података. Како је популација ИС086 имала више вредности мерених особина она се издвојила од осталих на левој страни графикона. Популације ИС059, РА100 и ЦС072 имају нешто мање вредности при чему ИС059 и ЦС072 има јачу антиоксидативну активност док РА100 има вишу концентрацију флавоноида. Популације ИС037 и ИС077 имају најмање вредности у свим посматраним особинама.

4.3.4.1. Изофлаволи (фитоестрогени)

Количина даидзеина и генистеина у узорку ИС086 била је испод лимита детекције. У осталим узорцима измерене су вредности приказане у табели 55. Концентрација формонетина је у две популације била испод лимита детекције, док је вредност у узорку ИС086 била веома ниска (0.0923 mg/g). Само је биоханин А измерен у све три популације, а највиша вредност је била у популацији ИС037 (0.183 mg/g). Узорак ИС059 одликује се највишим укупним садржајем изофлаволи у цвету – 0.7745 mg/g.

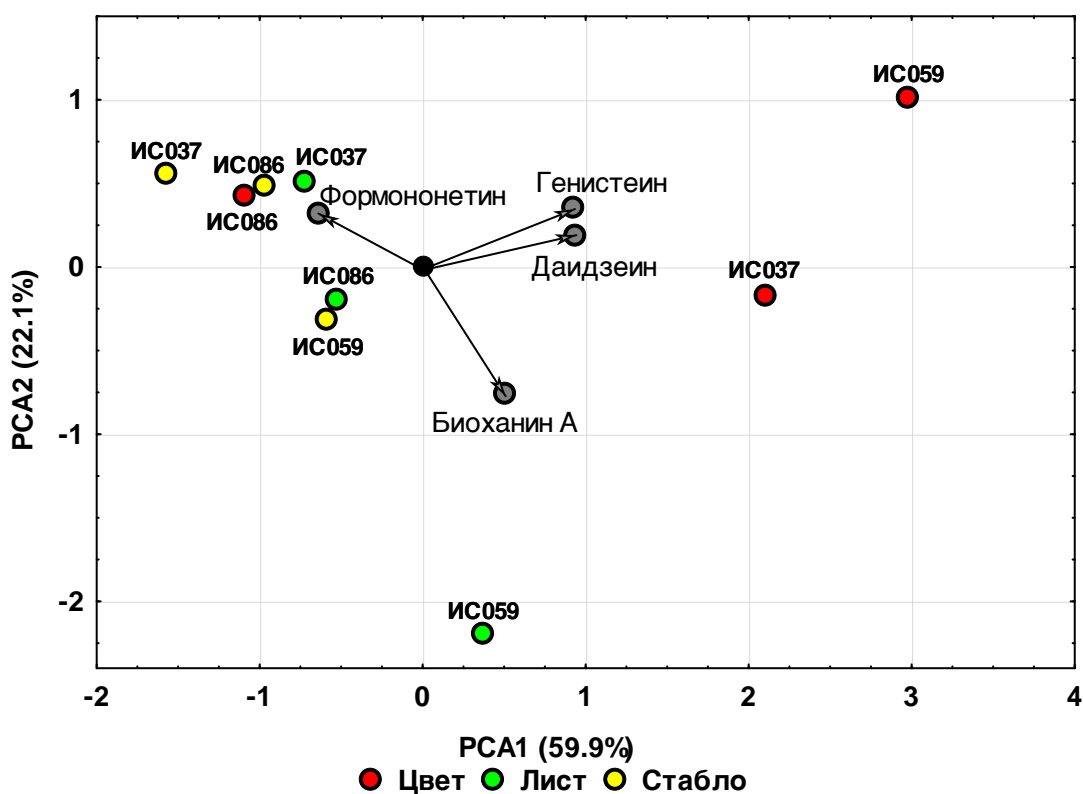
Табела 55. Садржај четири групе изофлаволи у цветовима, листовима и стабљикама популација врсте *T. hybridum*.

популација	део биљке	даидзеин	генистеин	формонетин	биоханин А	укупно
цваст	ИС037	0.4556	0.0474	0	0.1830	0.6861
	ИС059	0.5520	0.0938	0	0.1287	0.7745
	ИС086	0	0	0.0923	0.0570	0.1493
лист	ИС037	0	0	0	0	0
	ИС059	0	0	0	0.2709	0.2709
	ИС086	0	0	0.0311	0.0969	0.1280
стабљика	ИС037	0	0	0.1936	0.0970	0.2906
	ИС059	0	0	0.0455	0.1070	0.1526
	ИС086	0	0	0.0596	0.0334	0.0930

Вредности даидзеина и генистеина у свим популацијама били су испод лимита детекције, формонетин у две а биоханин А у једној популацији. Највиши садржај изофлаволи у листу имала је популација ИС059 – 0.2709 mg/g.

Даидзеин и генистеин су и у стабљици били испод лимита детекције. Количина формонетина се кретала од 0.0455 mg/g (ИС059) до 0.1936 mg/g (ИС037), док је концентрација биоханина А била највећа у популацији ИС059 (0.1070 mg/g) а најнижа у популацији ИС086 (0.0334 mg/g).

У зависности од популације или биљног органа разликује се врста присутног изофлавона, а код шведске детелине анализама је утврђено постојање сва четири основна изофлавона. Највиши садржај изофлавона код шведске детелине измерен је у цвету, а популација са највише изофлавона у цвету као и највишим укупним садржајем фитоестрогена је ИС059. У популацијама ИС037 и ИС059 преовлађује даидзеин док је у популацији ИС086 скоро једнака количина формонетина и биоханина А.



Графикон 41. Графички приказ пројекција 3 популације врсте *Trifolium hybridum* и 4 изофлавона, на прву и другу коресподентну осу.

На графикону 41 приказано је 82% укупне варијабилности, при чему прва оса носи 59.9% варијабилности а друга приказује 22.1%. На раздвајање по хоризонтали највише утиче садржај даидзеина у узорцима. Тако се на горњој десној страни издвајају узорци са нешто вишим садржајем генистеина и

даидзеина (цвет ИС059 и цвет ИС037). На супротној страни графикана налазе се узорци са већом количином формонетина: стабљика ИС037 и ИС086, цваст ИС086 и лист ИС037. На раздвајање по вертикалној оси највећи утицај има биоханин А. Узорак у смеру вектора ове особине, у доњем делу графикана са највишим садржајем биоханина А у листу је ИС059.

4.4. Резултати анализе врсте *Trifolium pannonicum*

Од почетних 10 популација које су укључене у пољски експеримент, за анализу морфолошких особина, квалитета суве материје и анатомије листа одабрано је 5 популација (ИС059, ЦС091, ЦС105, ЦС119 и ЦС146). Анализа укупних фенола, флавоноида, антиоксидативне активности и изофлавона рађена је на 7 популација (ИС059, РА123, ЦС091, ЦС105, ЦС119, ЦС131, ЦС146). Стопа преживљавања популације ЦС091 била је 85%, док су остале популација имале стопу преживљавања 100%. Популације чија морфометрија и квалитет нису праћени одликовале су се ниском стопом преживљавања.

4.4.1. Морфолошке карактеристике

Резултати морфолошких анализа су дати у табели 56. У 2010. години статистички значајна разлика између популација на нивоу $p < 0.01$ не постоји код броја изданака, ширине листа и дужине листа. У 2011. години статистички значајан разлика између популација не постоји код висине, дужине листа и ширине листа.

Табела 56. Једнофакторијална анализа варијансе праћених морфолошких особина врсте *Trifolium pannonicum*.

особина	2010. година		2011. година	
	F	p	F	p
зелена маса	4.67	0.0018	5.29	0.0007
висина	3.09	0.0191	1.24	0.2980
број изданака	1.44	0.2258	3.86	0.0061
број интернодија	4.76	0.0015	6.69	0.0001
број грана	5.29	0.0007	4.76	0.0016
дужина листа	0.80	0.5272	2.51	0.0477
ширина листа	1.74	0.1479	3.20	0.0167

Принос зелене масе

У табели 57 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем зелене масе појединачних биљака врсте *T. pannonicum*.

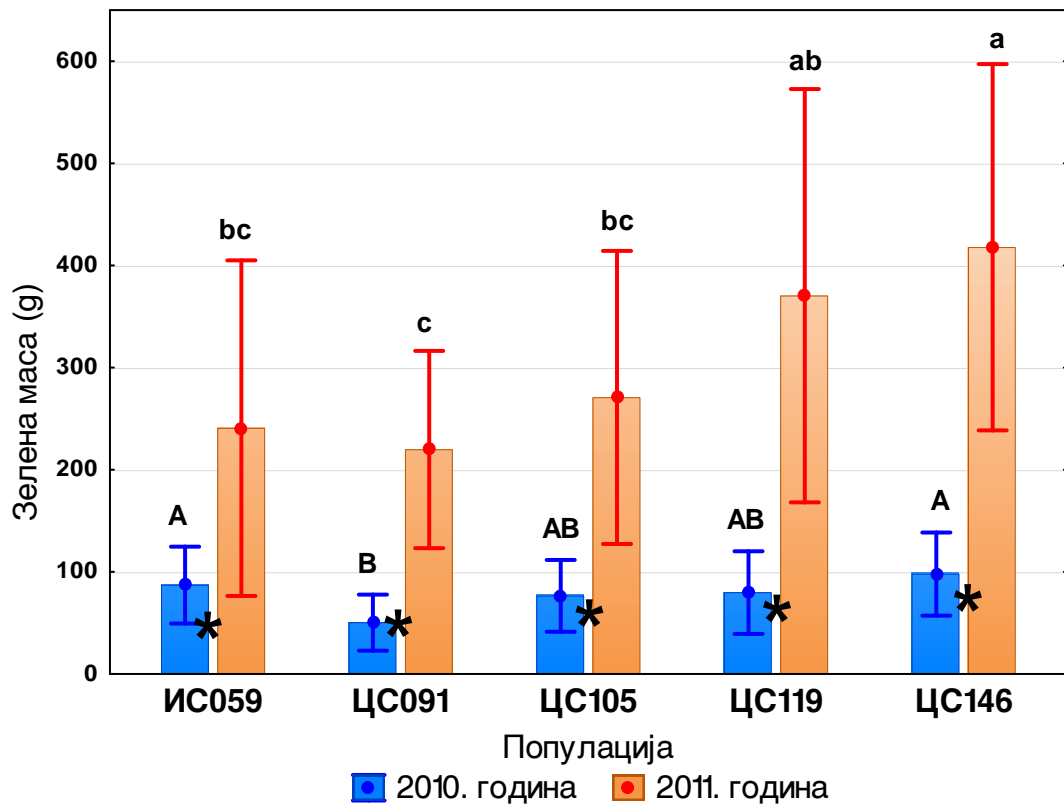
Табела 57. Просечне вредности зелене масе (g), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	87.1 ± 37.7 (43%)	240.7 ± 164.3 (68%)	176 %
ЦС091	50.3 ± 27.5 (55%)	219.8 ± 96.6 (44%)	337 %
ЦС105	76.5 ± 35.1 (46%)	270.8 ± 143.5 (53%)	254 %
ЦС119	79.7 ± 40.5 (51%)	370.4 ± 202.3 (55%)	365 %
ЦС146	97.9 ± 40.7 (42%)	417.9 ± 179.3 (43%)	327 %
просек	78.27	306.91	292 %

У 2010. години просечан принос зелене масе се креће у опсегу од 50.3 g (ЦС091) до 97.7 g (ЦС146). Са графикана 42 се уочава да су статистички највећи принос зелене масе имале популације ЦС146 (97.9 g) и ИС059 (87.1 g) док су нешто нижи просечни принос зелене масе забележиле популације ЦС105 (76.5 g) и ЦС119 (79.7 g). Статистички најнижи принос у 2010. години је остварила популација ЦС091 (50.3 g). Коефицијенти варијације су уједначени и високи и налазе се између 42% (ЦС146) и 55% (ЦС091).

У 2011. години долази до статистички значајног повећања просечног приноса зелене масе код свих посматраних популација (Графикон 42). Повећање приноса се креће у распону од 176% (ИС059) до 365% (ЦС119). У овој години максималан принос од 417.9 g остварила је популација ЦС146, док је популација ЦС091 са својих 219.8 g задржала најмањи принос као и у претходној години. Код свих популација, осим ЦС091, дошло је до повећања КВ у 2011. години, ово повећање је најизраженије у случају популација ИС059 и ЦС119.

Просечни принос свих праћених популација, од 2010. до 2011. се повећао за 214.03 g. Популација са највише надморске висине (ЦС146) током обе године је постигла најбољи принос, при чему генерално популације из централне Србије, са преко 1000 m надморске висине имају јако добре резултате у 2011. години.



Графикон 42. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за зелену масу (g) популација врсте *T. ranponicum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Принос суве материје

Табела 58. Просечне вредности суве материје (g) по популацију, приказане за 2010. и 2011. год.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	21.8 ± 9.4	45.7 ± 31.2	110%
ЦС091	11.6 ± 6.3	44 ± 19.3	279%
ЦС105	20.7 ± 9.5	52.8 ± 28	155%
ЦС119	21.1 ± 10.7	70.4 ± 38.4	234%
ЦС146	23.5 ± 9.8	91.9 ± 39.4	291%
просек	19.7	61.0	309 %

Сува маса популација врсте *T. ranponicum* креће се од 11.6 g (ЦС091) до 23.5 g (ЦС146). Изузев популације ЦС091 вредности суве масе су уједначене код осталих популација. У 2011. години просечне вредности зелене масе по популацији су више у односу на претходну годину. Најнижа вредност као и у претходној години припада популацији ЦС091 (44 g) а највиша популацији ЦС146 (91.9 g).

Висина биљака

У табели 59 су приказане просечне вредности биљака добијене мерењем висине појединачних биљака врсте *T. ranponicum*.

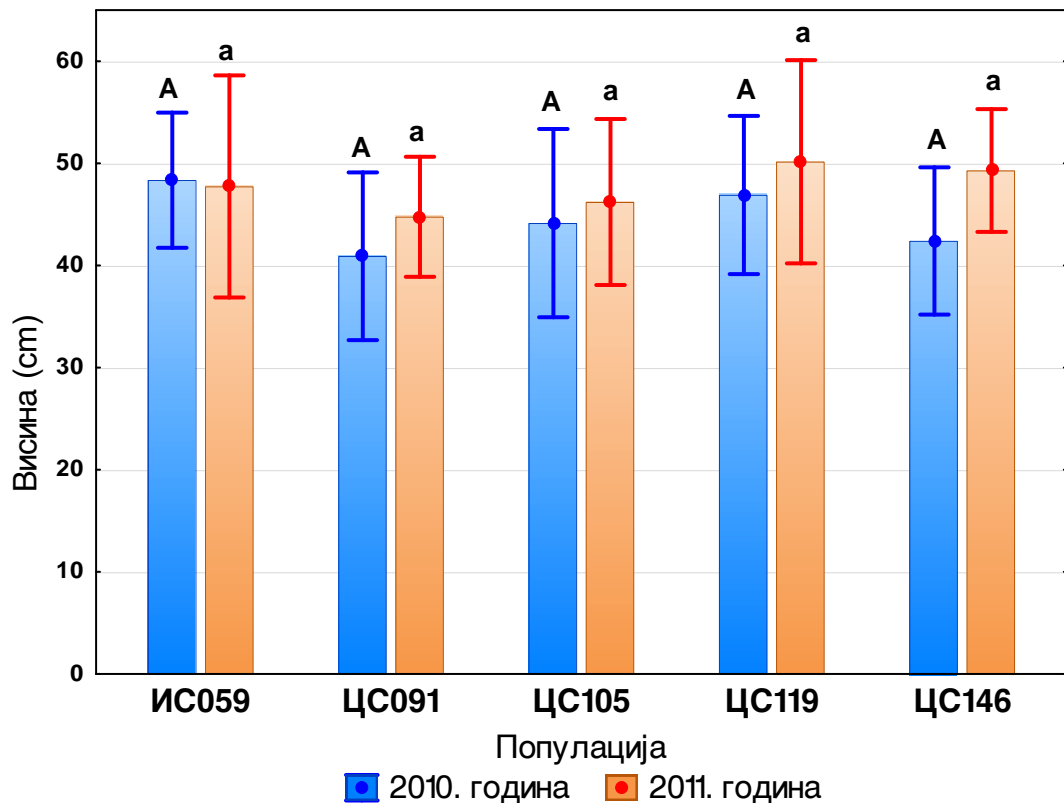
Табела 59. Просечне вредности висине (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	48.4 ± 6.62 (14%)	47.7 ± 10.88 (23%)	-1 %
ЦС091	40.9 ± 8.21 (20%)	44.8 ± 5.88 (13%)	9 %
ЦС105	44.2 ± 9.22 (21%)	46.2 ± 8.13 (18%)	5 %
ЦС119	46.9 ± 7.75 (17%)	50.2 ± 9.95 (20%)	7 %
ЦС146	42.4 ± 7.21 (17%)	49.3 ± 6.01 (12%)	16 %
просек	44.5	47.7	7 %

Из приложених резултата уочава се да је, током 2010. године, најмање вредности висине биљака имала популација ЦС091 (40.9 cm) док је популација ИС059 са просечно 48.4 cm имала највећу вредност. Између популација у 2010.-ој години не постоје статистички значајне разлике (све популације су обележене великим словом А, графикон 43). Коефицијенти варијације су релативно ниски и уједначени а крећу се у распону од 14% (ИС059) до 21% (ЦС105).

У 2011. години просечна висина биљака се креће у интервалу од 44.8 cm (ЦС091) до 50.2 cm (ЦС119). Популације у 2011. се међусобно не разликују статистички значајно.

Код четири популације долази до благог пораста висине у 2011. години али ни код једне популације нема статистички значајних промена у односу на 2010. годину (Графикон 43).



Графикон 43. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за висину (cm) популација врсте *T. ranunculicum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Број изданака

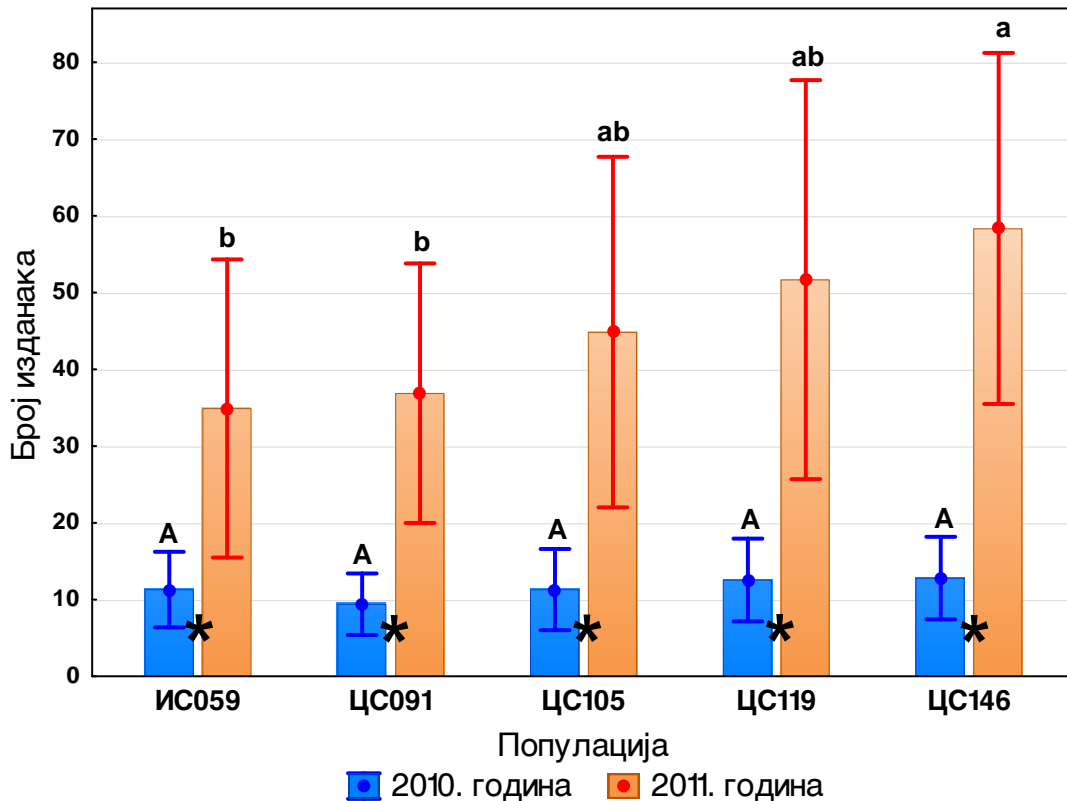
У табели 60 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја изданака појединачних биљака врсте *T. ranunculicum*.

Табела 60. Просечне вредности броја изданака, стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	11.3 ± 4.92 (44%)	34.9 ± 19.4 (56%)	209 %
ЦС091	9.4 ± 4.01 (43%)	36.9 ± 16.9 (46%)	292 %
ЦС105	11.3 ± 5.28 (47%)	44.8 ± 22.8 (51%)	297 %
ЦС119	12.6 ± 5.38 (43%)	51.7 ± 26.0 (50%)	312 %
ЦС146	12.8 ± 5.38 (42%)	58.4 ± 22.9 (39%)	356 %
просек	11.5	45.6	293 %

У 2010. години број изданака по биљци се креће у интервалу од 9.4 (ЦС091) до 12.8 (ЦС146). Коефицијенти варијације се крећу од 42% (ЦС146) до 47% (ЦС105).

У 2011. години код свих популација се јавља статистички значајно повећање броја изданака. Процент повећања се креће у распону од 209% (ИС059) до 356% (ЦС146). Највећи број изданака у 2011. години се јавља код популације ЦС146 (58.4) а најмањи број изданака се јавља код ИС059 (34.9) и ЦС091 (36.9). Коефицијент варијације за ову особину се повећао у 2011. години код свих популација осим код ЦС146.



Графикон 44. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број изданака популација врсте *T. rannonicum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Број интернодија

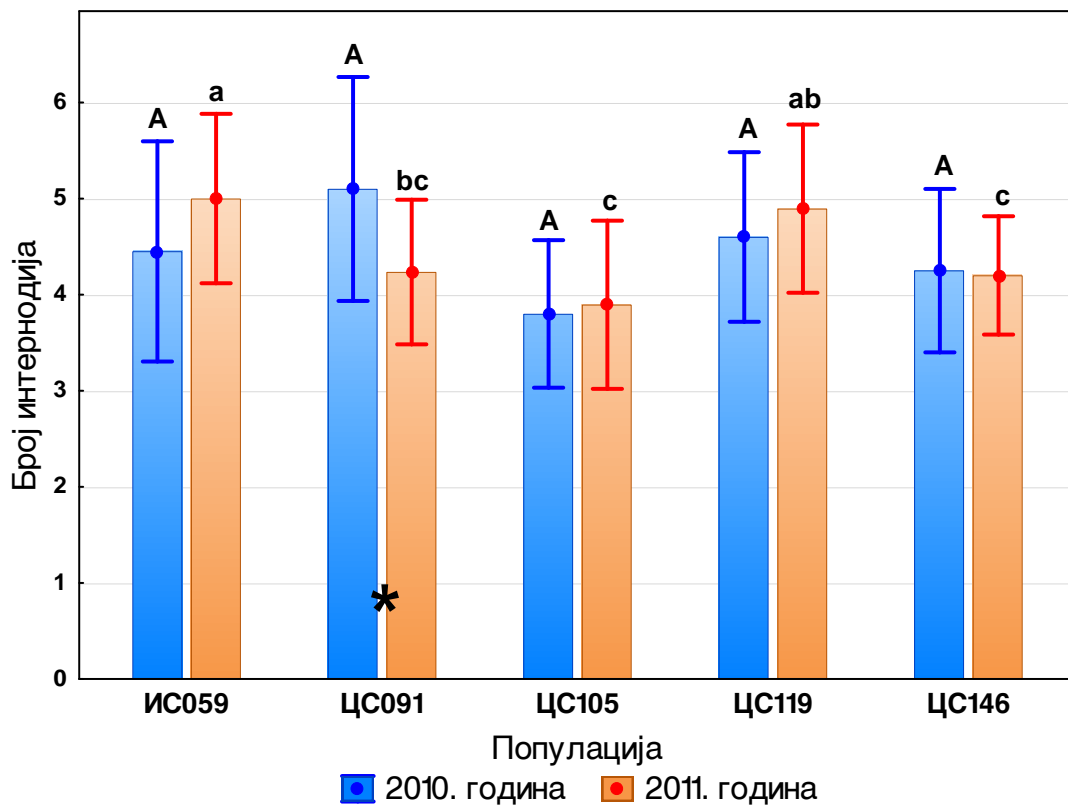
У табели 61 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја интернодија појединачних биљака врсте *T. rannonicum*.

У 2010. години највећи број интернодија је имала популација ЦС091 (5.10) а најмањи број је остварила популација ЦС105 (3.80). Статистички значајна разлика између популација у овој години не постоји. Коефицијенти варијације су уједначени код свих популација и крећу се од 19% (ЦС119) до 26% (ИС059).

Табела 61. Просечне вредности броја интернодија, стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	4.45 ± 1.15 (26%)	5.00 ± 0.88(18%)	12 %
ЦС091	5.10 ± 1.17 (23%)	4.24 ± 0.75(18%)	-17 %
ЦС105	3.80 ± 0.77 (20%)	3.89 ± 0.88(22%)	2 %
ЦС119	4.60 ± 0.88 (19%)	4.89 ± 0.88(18%)	6 %
ЦС146	4.25 ± 0.85 (20%)	4.20 ± 0.62(15%)	-1 %
просек	4.44	4.45	0 %

У 2011. години просечан број интернодија се креће од 3.89 (ЦС105) до 5.00 (ИС059). Само код једне популације се јавила статистички значајна промена (ЦС091), број интернодија је опао за 17%. Коефицијенти варијације се нису значајно променили у односу на 2010. годину.



Графикон 45. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број интернодија популација врсте *T. ranunculoides*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Просечан број интернодија за све популације износи 4.44 у 2010.-ој и 4.45 у 2011., што указује да ово није варијабилана особина.

Број бочних грана

У табели 62 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја бочних грана појединачних биљака врсте *T. rannonicum*.

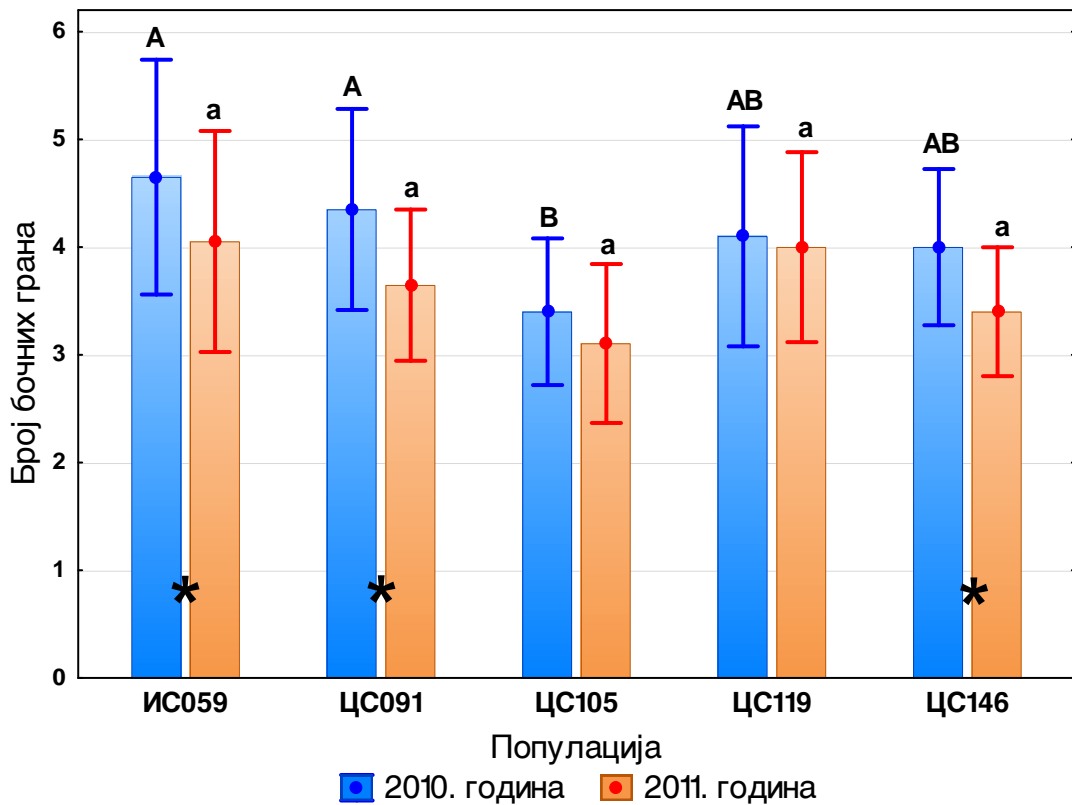
Табела 62. Просечне вредности броја бочних грана, стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	4.65 ± 1.09 (23%)	4.05 ± 1.03 (25%)	-13 %
ЦС091	4.35 ± 0.93 (21%)	3.65 ± 0.70 (19%)	-18 %
ЦС105	3.40 ± 0.68 (20%)	3.11 ± 0.74 (24%)	-9 %
ЦС119	4.10 ± 1.02 (25%)	4.00 ± 0.88 (22%)	-2 %
ЦС146	4.00 ± 0.73 (18%)	3.40 ± 0.60 (18%)	-15 %
просек	4.10	3.64	-11 %

У 2010. години највећи просечан број бочних грана се јавља код популације ИС059 (4.65), док је најмањи број у 2010. години забележен код популације ЦС146 (4.00). Статистички значајно нижа вредност у скупу свих популација се јавила само код ЦС105 (Графикон 46). Коефицијенти варијације се крећу од 18% (ЦС146) до 25% (ЦС119).

У 2011. години највишу вредност бележи популација ИС059 (4.05) док је најнижа просечна вредност броја бочних грана унутар популације ЦС105 (3.11) Са графикана 46 се уочава да не постоји значајна разлика између популација у 2011.-ој години.

Статистички значајан пад вредности током две године јавио се код популација ИС059, ЦС091 и ЦС146, мада је је тренд опадања бочних грана присутан код свих генотипова и у просеку износи 11%.



Графикон 46. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број бочних грана популација врсте *T. rannonicum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Дужина листа

У табели 63 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем дужине листа појединачних биљака врсте *T. rannonicum*.

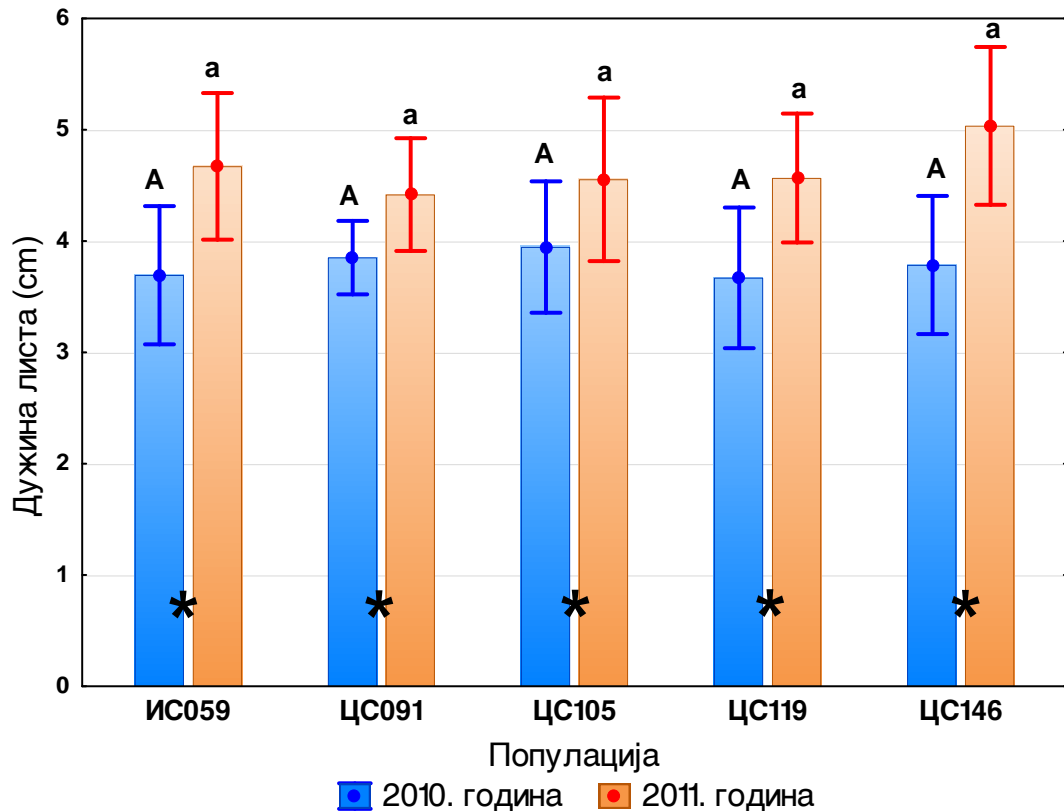
Табела 63. Просечне вредности дужине листа (cm), стандардне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	3.69 ± 0.62 (17%)	4.67 ± 0.66 (14%)	27 %
ЦС091	3.85 ± 0.33 (9%)	4.42 ± 0.51 (11%)	15 %
ЦС105	3.95 ± 0.59 (15%)	4.55 ± 0.73 (16%)	15 %
ЦС119	3.67 ± 0.63 (17%)	4.57 ± 0.58 (13%)	25 %
ЦС146	3.79 ± 0.62 (16%)	5.04 ± 0.71 (14%)	33 %
просек	3.79	4.66	23 %

У 2010. години популација ЦС105 је имала највећу просечну дужину листа (3.95 cm), док се најнижа просечна вредност јавила код популације ЦС119

(3.67 cm). Између популација у првој години није се јавила значајна разлика на прагу значајности $p < 0.01$ (Табела 56). Коефицијент варијације код свих популација је релативно низак и креће се од 9% (ЦС091) до 17% (ИС059 и ЦС119).

У 2011. код свих популација може се приметити статистички значајно повећање просечне дужине листа (Графикон 47). Повећање је највеће у случају популације ЦС146 (33%) а најмање у случају популација ЦС091 и ЦС105 (15%). У 2011. години највећу просечну дужину листа имају популације ЦС146 (5.04 cm) и ИС059 (4.67 cm), најмање вредности има популација ЦС091 (4.42 cm). Коефицијенти варијације су као и у 2010. години ниски и крећу се од 11% (ЦС091) до 16% (ЦС105).



Графикон 47. Средње вредности, стандардна девијација и post hoc тестови за дужину листа (cm) популација врсте *T. rannonicum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

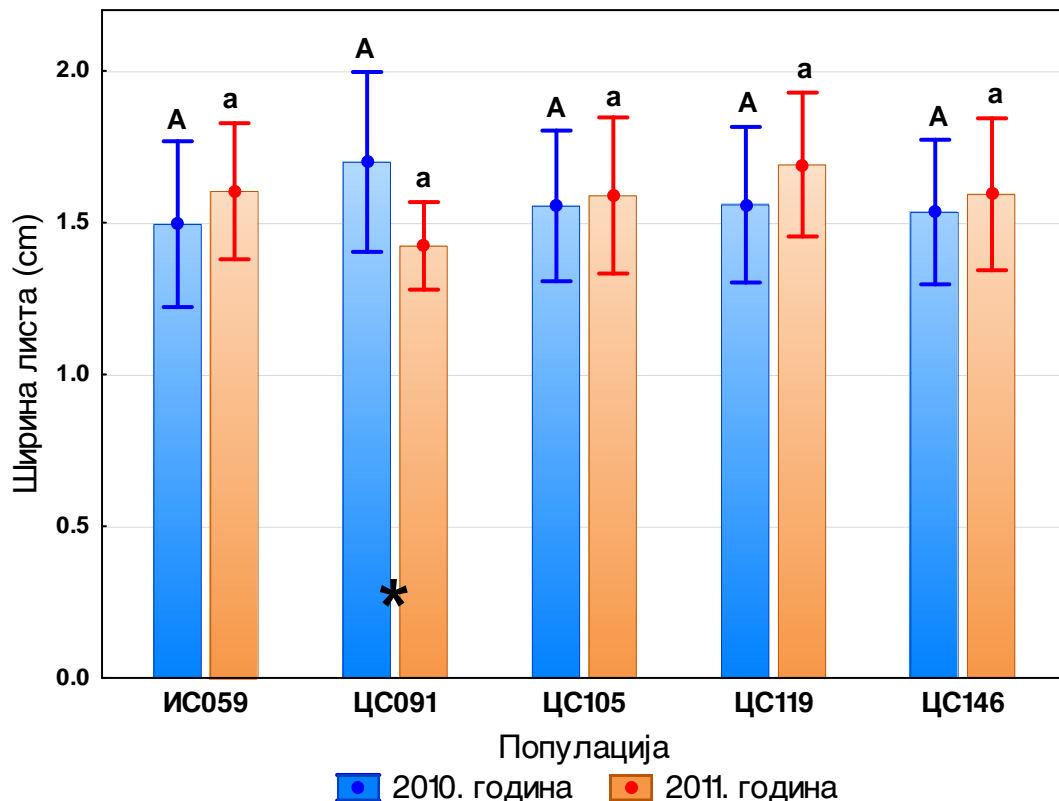
Ширина листа

У табели 64 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем ширине листа појединачних биљака врсте *T. rannonicum*.

Табела 64. Просечне вредности ширине листа (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2010. и 2011., као и процентуална промена у односу на 2010. годину.

популација	2010. година	2011. година	промена у односу на 2010. годину
ИС059	1.50 ± 0.27 (18%)	1.60 ± 0.22 (14%)	7 %
ЦС091	1.70 ± 0.30 (17%)	1.42 ± 0.14 (10%)	-16 %
ЦС105	1.56 ± 0.25 (16%)	1.59 ± 0.26 (16%)	2 %
ЦС119	1.56 ± 0.26 (16%)	1.69 ± 0.24 (14%)	8 %
ЦС146	1.54 ± 0.24 (16%)	1.59 ± 0.25 (16%)	3 %
просек	1.57	1.58	1 %

У 2010. години популација ИС059 је имала најмању просечну ширину листа (1.50 cm), док је популација ЦС091 забележила највећу просечну ширину листа (1.70 cm). Између популација у првој години није се јавила значајна разлика у просечној ширини листа на прагу значајности $p < 0.01$ (Табела 56). Коефицијент варијације је веома уједначен и креће се у интервалу од 16% до 19%.



Графикон 48. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за ширину листа (cm) популација врсте *T. rannonicum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2010. а малим у 2011. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

У 2011. години ширина листа се статистички значајно променила једино код популације ЦС091 где је установљено смањење за 16% (Графикон 48). У овој години просечна ширина листа се креће у интервалу од 1.42 cm (ЦС091) до 1.69 cm (ЦС119).

Просечна вредност ширине листа у 2010-ој за све популације износи 1.57 cm а у 2011-ој 1.58 cm. Промена од 1% је занемарљива.

Корелације морфолошких особина

За израчунавање парцијалног коефицијента корелације коришћене су све појединачне вредности особина анализираних популација. Приказ је извршен за 2011. која представља годину снажнијег и потпунијег развоја јединки у односу на 2010.

Табела 65. Парцијални коефицијенти корелације морфолошких особина популација врсте *Trifolium rannonicum* у 2011. години.

	зелена маса	висина	број изданака	број интернодија	бр. бочних грана	дужина листа	ширина листа
зелена маса		***	***	*	*	**	
висина	0.536		**	***	***	*	
бр. изданака	0.836	0.333					
бр. интернодија	0.237	0.461	0.037		***		
бр. бочних грана	0.264	0.492	0.081	0.854			
дужина листа	0.324	0.212	0.163	0.168	0.173		***
ширина листа	0.150	0.145	-0.072	0.093	0.035	0.362	

корелације су статистички значајне на нивоу (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

Коефицијенти корелације за особине популација *Trifolium rannonicum* израчунати су на три нивоа значајности. Најјаче корелације јављају се између масе и висине као и масе и броја изданака; броја интернодија и броја бочних грана. Дужина и ширина листа су позитивно корелисане на нивоу од 99.9%, као и висина са бројем изданака и бројем бочних грана. Постоји само једна негативна корелација и она није статистички значајна.

Мултиваријациона анализа морфолошких особина

Једнофакторијална МАНОВА је показала да у обе посматране године постоје статистички значајне разлика између популација уколико посматрамо

све морфолошке особине заједно (у 2010. години је Wilk's $\Lambda = 0.422$, $F = 3.111$, $p < 0.0001$, док је у 2011. години Wilk's $\Lambda = 0.435$, $F = 2.785$, $p < 0.0001$).

Да би се установио значај сваке особине на раздвајање посматраних популација, примењена је дискриминантна анализа за сваку годину посебно (табела 66).

Табела 66. Дискриминантна анализа морфолошких особина популација врсте *Trifolium pannonicum*.

	2010. година			2011. година		
	Wilk's Λ	p	R^2	Wilk's Λ	p	R^2
зелена маса	0.500	0.0043	0.528	0.457	0.3916	0.784
висина	0.469	0.0508	0.102	0.444	0.8162	0.425
бр. изданака	0.436	0.5570	0.474	0.445	0.7682	0.735
бр. интрнодија	0.485	0.0141	0.440	0.482	0.0728	0.705
бр. бочних грана	0.499	0.0045	0.476	0.461	0.3061	0.719
дужина листа	0.445	0.3124	0.176	0.489	0.0448	0.244
ширина листа	0.454	0.1658	0.173	0.505	0.0148	0.266

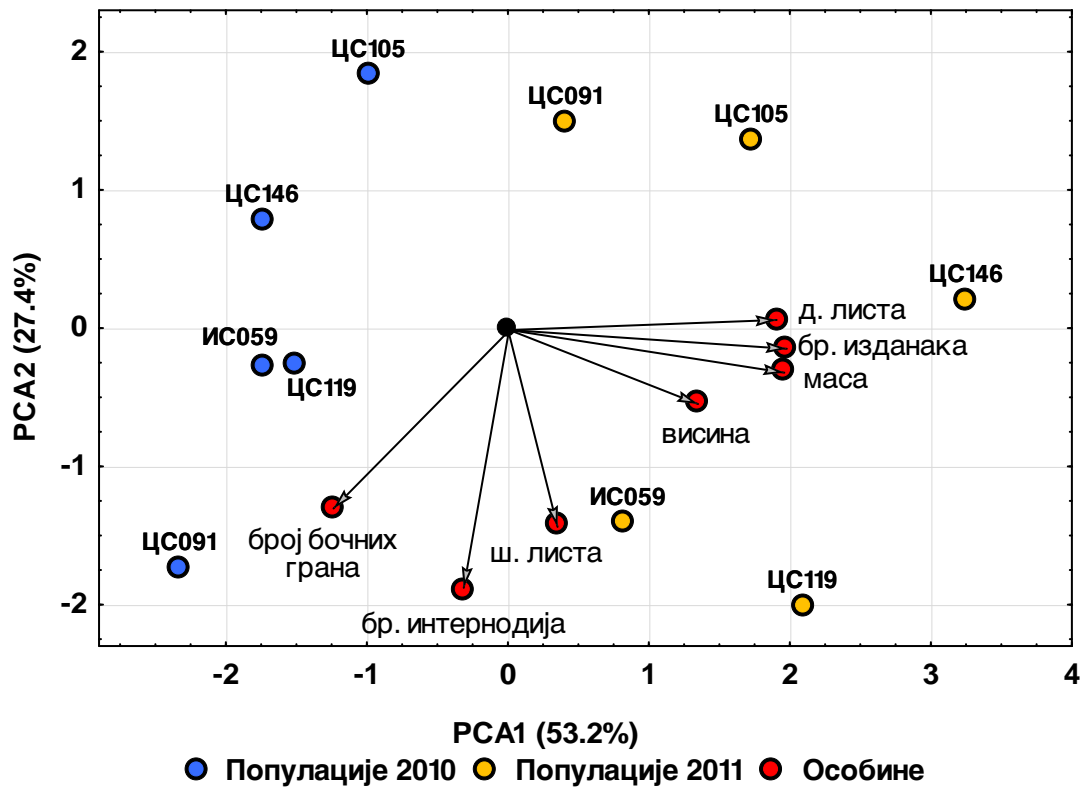
У 2010. години статистички значајан допринос разликовању популација на нивоу $p < 0.01$ имају зелена маса (Wilk's $\Lambda = 0.500$) и број бочних грана (Wilk's $\Lambda = 0.499$).

У 2011. години ни једна од посматраних особина нема статистички значајног утицаја на разликовање популација на нивоу $p < 0.01$, ипак ширина листа и дужина листа имају значаја на нивоу $p < 0.05$.

У 2010. години уочава се висока редувантност (R^2) масе (52%), броја изданака (47%), броја интернодија (44%) и броја бочних грана (47%). Редувантност се у 2011. години повећала код свих посматраних особина. Висока редувантност указује на то да се велики део варијабилности једне особине може објаснити варијабилношћу осталих посматраних особина.

Ширина и дужина листа нису високо редувантне особине али њихов утицај на раздвајање популација није значајан јер се популације по овим особинама јако мало разликују.

Просечне вредности посматраних морфолошких особина су анализиране методом главних компоненти, а графички приказ добијених резултата је дат на графикону 49.



Графикон 49. Графички приказ анализе главних компоненти анализираних морфолошких особина популација врсте *Trifolium pannonicum* у равни прве и друге осе.

Метода главних компоненти (PCA) је показала да прве две осе обухватају 80.6% укупне варијабилности. Прва оса захвата 53.2% а друга 27.4% варијабилности.

На првој осе се уочава раздвајање популација на основу године. Све популације праћене током 2010. се налазе на левој страни графика док се популације из 2011. налазе на десној страни. Особине које највише утичу на овакав распоред популација дуж прве осе су: зелена маса, висина, број изданака и дужина листа. Код свих популација је дошло до увећања ових особина, при чему је то увећање најизраженије код популација ЦС146, ЦС119 и ЦС105. Популације ЦС091 и ИС059 су имале релативно ниске вредности за ове особине како у 2010. тако и у 2011. години.

Распореду популација дуж вертикалне осе највише доприносе број интернодија, број бочних грана и ширина листа, тако да се у доњем делу графика налазе популације које имају више просечне вредности ове три особине. Популација ЦС091 се у 2010. години налази у доњем а 2011. године у

горњем делу графика што указује на пад у ове три посматране особине док се код осталих популација не запажа битнији померај дуж вертикалне осе. Број бочних грана је усмерен улево што указује на извесно смањење ове особине у 2011. години.

4.4.2. Хемијски састав суве материје

На испитиваним популацијама врсте *Trifolium pannonicum* су мерене следеће хемијске карактеристике: сирови пепео, сирови протеини, сирова целулоза, сирове масти и безазотне материје (БЕМ). Просечне вредности су дате у табели 67.

Табела 67. Просечне вредности хемијских особина и стандардне девијације популација врсте *Trifolium pannonicum* изражене у процентима суве материје.

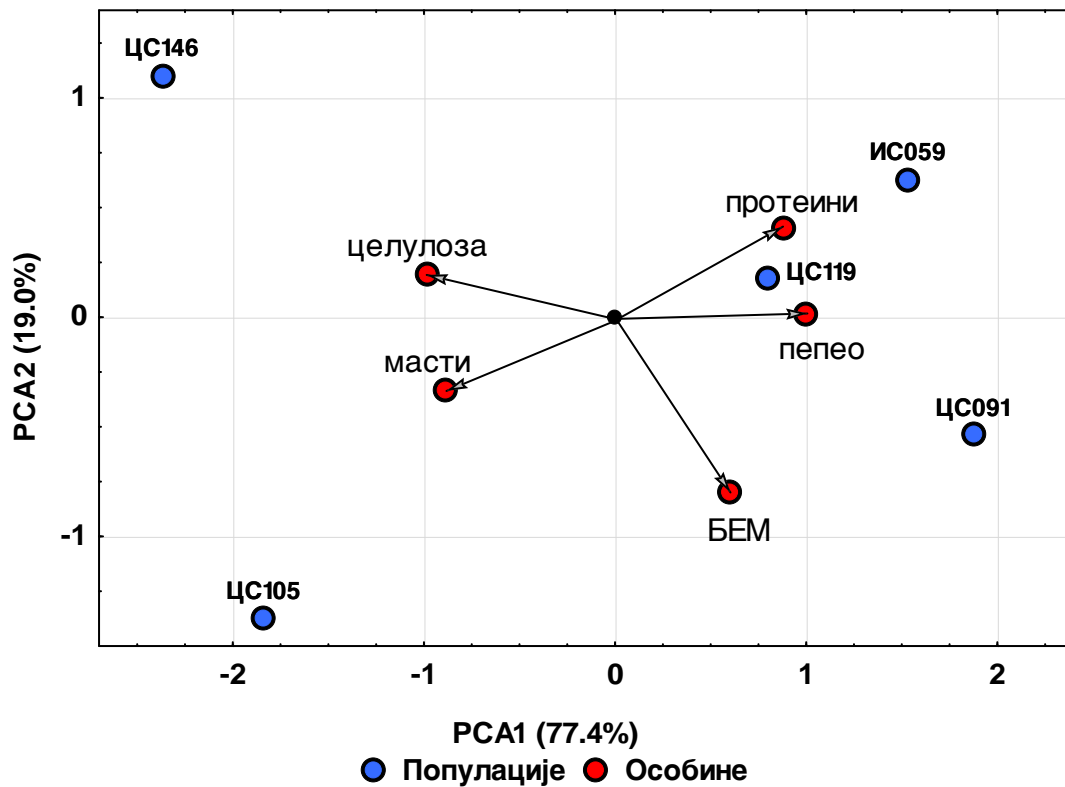
популација	пепео	протеини	целулоза	масти	БЕМ
ИС059	14.76 ± 0.53	18.60 ± 0.65	30.20 ± 1.39	1.79 ± 0.013	34.65 ± 2.58
ЦС091	15.37 ± 0.58	18.62 ± 0.59	27.85 ± 0.11	2.07 ± 0.104	36.09 ± 1.38
ЦС105	10.38 ± 0.32	15.97 ± 0.86	35.56 ± 1.78	2.56 ± 0.112	35.53 ± 3.07
ЦС119	13.97 ± 0.91	17.70 ± 1.41	31.62 ± 2.08	1.86 ± 0.053	34.85 ± 4.45
ЦС146	9.88 ± 0.37	17.09 ± 1.35	38.37 ± 1.84	2.46 ± 0.167	32.20 ± 3.72
просек	13.07	17.37	32.36	2.14	35.06

Вредности сирових протеина се крећу у опсегу од 15.97% (ЦС105) до 18.62% (ЦС091). Процент сирове целулозе је највиши у популацији ЦС146 (38.37%) а најнижи у узорку популације ЦС091 (27.85%). Најповољнији однос протеина и целулозе јавио се код популације ЦС091.

Садржај пепела је најнижи унутар популације ЦС146 (9.88%) а највиши код ЦС091 (15.37%). Вредности за масти се крећу у распону од 1.79% (ИС059) до 2.56% (ЦС105).

Садржај суве материје је релативно висок, са широким распоном вредности од 204 g (ЦС091) до 300 g (ЦС105).

Подаци из табеле 67 су анализирани методом главних компоненти (РСА) а резултати ове методе су приказани на графикону 50.



Графикон 50. Графички приказ анализе главних компоненти анализираних хемијских особина популација врсте *Trifolium rannonicum* у равни прве и друге осе.

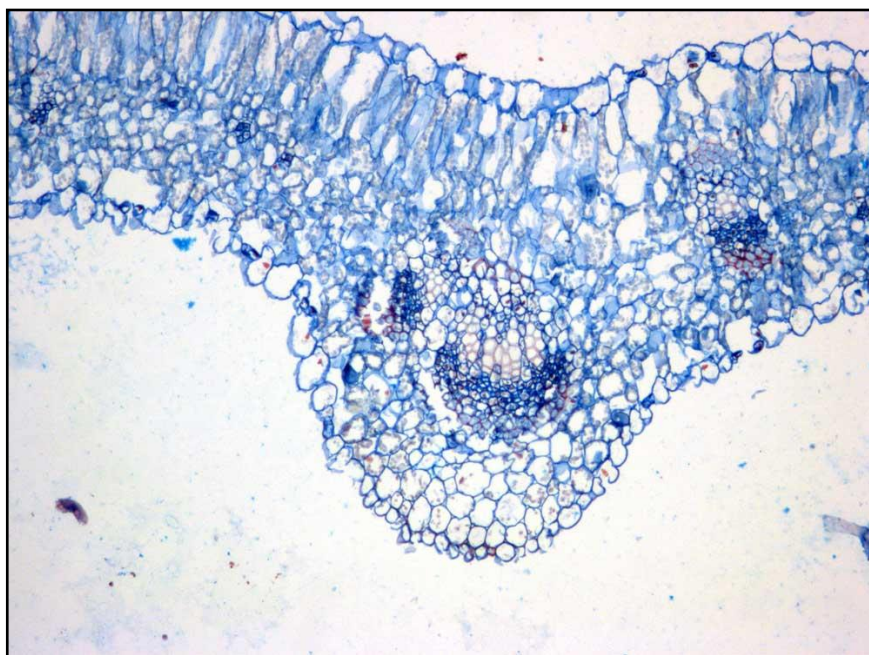
Анализа главних компоненти (Графикон 50) је показала да прве две осе обухватају 96% варијабилности хемијских карактеристика, од тога на прву осу отпада 77% укупне варијабилности а на другу 19%.

На положај популација које се налазе на левој страни (ЦС146 и ЦС105) утиче повећани садржај целулозе и масти. Популација ЦС146 има највиши садржај целулозе, и скоро највиши садржај масти; док популација ЦС105 има највећи проценат масти а најмање протеина о чему говори супротна оријентација стрелице за протеине. Популације ЦС091 и ИС059 се издвајају високим садржајем протеина и пепела. Популација ЦС119 бележи просечне вредности за све посматране хемијске карактеристике.

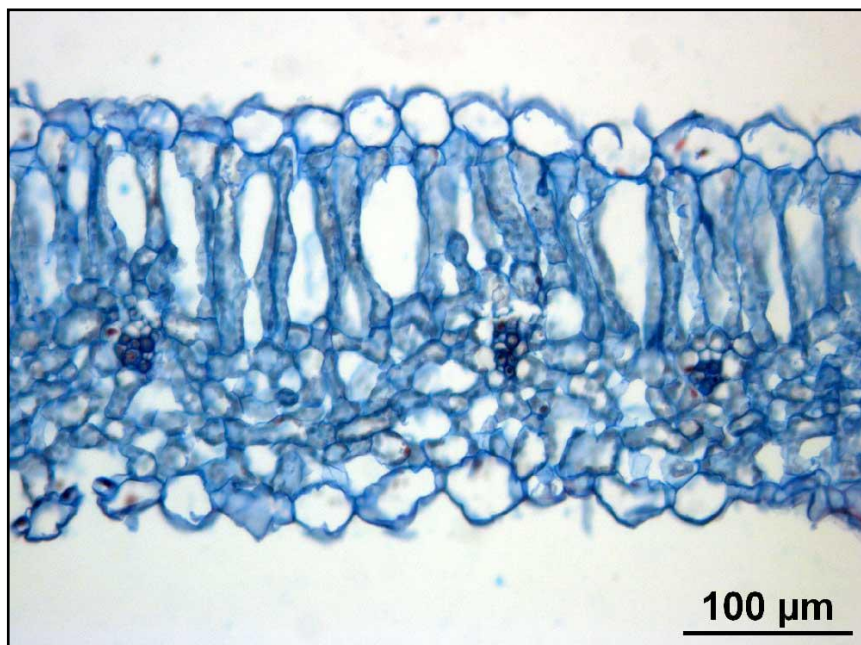
4.4.3. Анатомија листа

Приказани пресек (Слика 23) направљен је на средњој лисци тролиска врсте *T. rannonicum*. На слици се уочавају овалне ћелије епидермиса

лица и наличја (по један слој), веома крупне ћелије једнослојног палисадног ткива и већи број округлих до неправилних ћелија сунђерастог ткива.



Слика 23. Пресек листа врсте *Trifolium ranunculicum* у нивоу централног нерва.



Слика 24. Попречни пресек у бочном делу листа врсте *Trifolium ranunculicum*.

У табели 68 су приложени резултати двофакторијалне анализе варијансе анатомских карактеристика листа, при чему је за сваку анатомску особину урађена засебна анализа.

Табела 68. Анализа варијансе анатомских карактеристика врсте *Trifolium pannonicum*.

	епидермис лица		палисадно ткиво		сунђерасто ткиво		епидермис наличја		дебљина листа		дебљина центр. нерва	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
популација	0.62	0.651	6.38	0.000	7.07	0.000	1.97	0.107	8.13	0.000	2.78	0.055
пресек	3.15	0.029	1.28	0.287	0.73	0.539	0.83	0.483	1.73	0.167		
попул × пресек	0.95	0.504	0.41	0.957	1.39	0.189	0.60	0.837	0.88	0.566		

За сваку особину код које постоји статистички значајна разлика међу испитиваним популацијама урађен је Фишеров LSD post hoc тест (Графикон 51). Из табеле 68 се види да статистички значајна разлика између популација (на нивоу $p < 0.01$) постоји за палисадно ткиво, сунђерасто ткиво и дебљину листа. Код висине епидермиса, и дебљине централног нерва нема статистички значајних разлика између популација. Ни код једне особине не постоји статистички значајна разлика између положаја лисних пресека а такође није забележена ни интеракција између популација и пресека. Резултати мерења анатомских карактеристика листа су дати у табели 69.

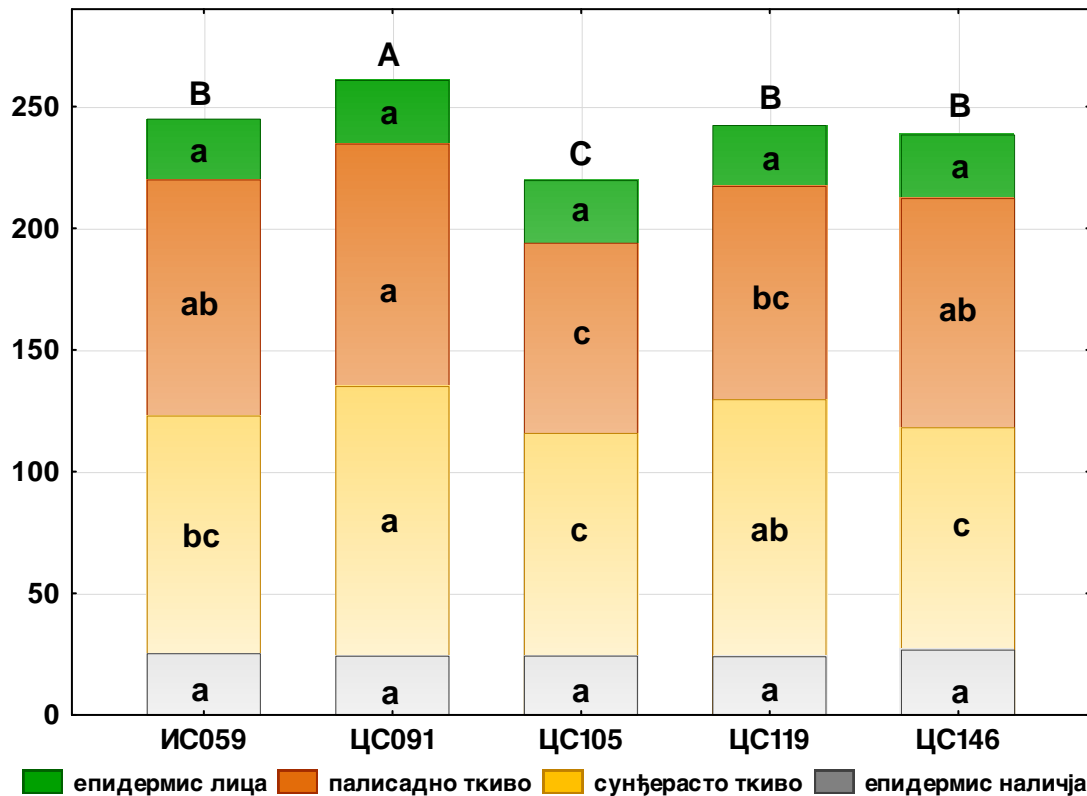
Табела 69. Средње вредности (μm) и стандардна девијација анатомских карактеристика листа врсте *Trifolium pannonicum*.

популација	епидермис лица	палисадно ткиво	сунђерасто ткиво	епидермис наличја	дебљина листа	дебљина центр. нерва
ИС059	24.98 ± 2.46	96.97 ± 10.9	97.6 ± 11.7	25.12 ± 3.09	244.7 ± 12.3	437.9 ± 62.0
ЦС091	26.12 ± 3.53	99.54 ± 16.2	110.8 ± 14.0	24.11 ± 3.81	260.6 ± 21.9	556.8 ± 85.0
ЦС105	25.69 ± 2.99	78.13 ± 15.2	91.5 ± 14.5	24.17 ± 2.81	219.4 ± 25.1	460.5 ± 35.9
ЦС119	25.06 ± 3.70	87.57 ± 15.5	105.5 ± 14.2	23.92 ± 2.66	242.1 ± 19.1	514.9 ± 36.7
ЦС146	26.11 ± 3.34	94.14 ± 15.2	91.3 ± 19	26.67 ± 4.86	238.2 ± 32.7	460.0 ± 87.4
просек	25.59	91.27	99.33	24.80	241.0	486.1

Вредности епидермиса лица крећу се од 24.98 μm (ИС059) до 26.12 μm (ЦС091). Најдебље палисадно ткиво имају листови биљака популације ЦС091 (99.54 μm) а најтање ткиво, листови популације ЦС105 (78.13 μm). Дебљина сунђерастог ткива се креће од 91.3 μm (ЦС146) до 105.5 μm (ЦС119). Најнижа вредност епидермиса наличја листа је измерена код популације ЦС119 (23.92 μm) а највиша код популације ЦС146 (26.67 μm).

Најдебљи лист и највећа дебљина у нивоу централног нерва је добијана код популације ЦС091.

Графички приказ резултата из табеле 69 је дат на графикону 51.

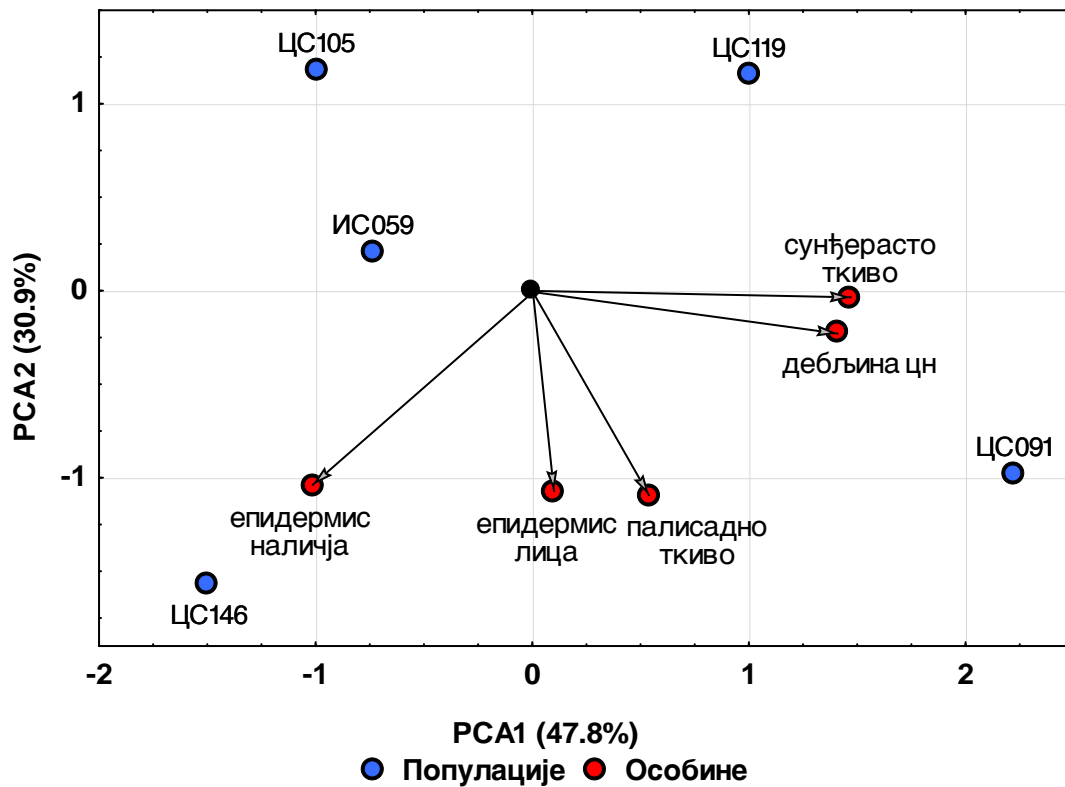


Графикон 51. Приказ средњих вредности епидермиса лица, палисадног ткива, сунђерастог ткива и епидермиса налицја 5 популација врсте *Trifolium pannonicum*. Мала слова означавају статистички значајне разлике у оквиру одређеног лисног слоја ($p < 0.05$). Велика слова означавају статистички значајне разлике у укупној дебелини листа

Са графикана 51 се примећује да статистички највећу дебелину листа има популација ЦС091 (260 μm). Ова популација бележи и статистички најдебље лисне слојеве. Осим ЦС091 статистички најдебље палисадно ткиво имају и ИС059 и ЦС146, док статистички најдебље сунђерасто ткиво има ЦС119. ЦС105 бележи статистички најмању дебелину листа као и најмању дебелину палисадног и сунђерастог ткива. Дебелина централног нерва је највећа код ЦС091 (556.8 μm) и ЦС119 (514.9 μm).

Код свих популација је дебелина сунђерастог ткива већа у односу на палисадно ткиво, изузев код популације ЦС146.

Анатомске карактеристике листа су анализиране и методом главних компоненти (РСА). Графички приказ резултата ове анализе је дат на графикану 52.



Графикон 52. PCA анализа анатомских карактеристика 5 популација врсте *Trifolium rannonicum*.

Укупна варијабилност података представљена је са две осе, при чему прва показује 47.8% а друга 30.9% варијабилности. Популације у доњем делу графикана издвајају се дебљином појединих слојева. У левом доњем углу присутна је популација ЦС146 са високим вредностима епидермиса лица и наличја. У доњем десном делу издвојила се популација ЦС091, на њен положај утичу вредности палисадног, сунђерастог ткива и дебљина централног нерва. Остале популације имају ниже вредности приказаних особина, посебно ЦС105, односно ЦС119.

4.4.4. Секундарни метаболити и антиоксидативна активност

У табели 70 приказане су вредности укупне количине фенолних једињења и концентрација флавоноида у метанолском екстракту узорака 7 популација *T. rannonicum*. Поред тога приказане су и IC_{50} вредности за антиоксидативну активност екстраката упоређиваних популација. До сада су морфолошке, анатомске и анализе састава суве материје рађене на пет

популација, овде су уведене још две: РА123 и ЦС131. Две додатне популације (одликовале су се ниском стопом преживљавања (недовољног броја јединки за анализу) па нису могле да уђу у претходне анализе. Те две популације се истичу у овом скупу високим вредностима праћених параметара.

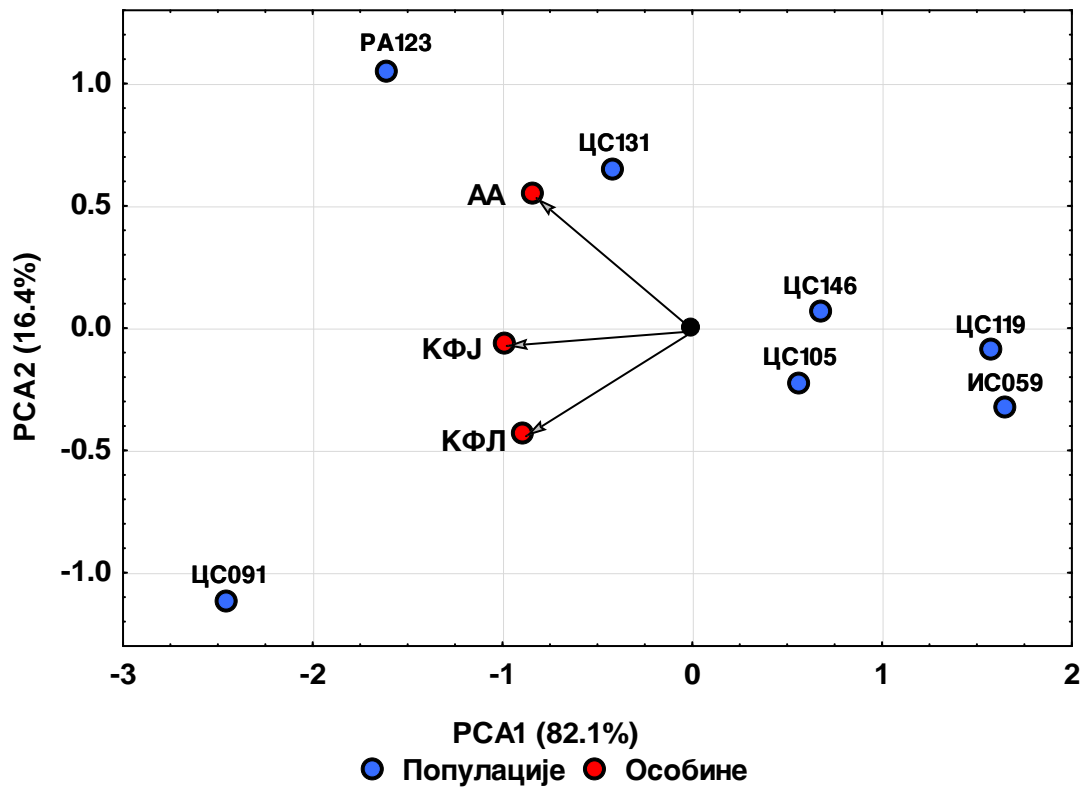
Табела 70. Антиоксидативна активност (IC_{50} вредности изражене у $\mu\text{g/ml}$), количина фенолних једињења (mg GA/g екстракта) и количина флавоноида (mg Ru/g екстракта) 7 популација врсте *Trifolium ranponnicum*.

Популација	антиоксидативна активност ($\mu\text{g/ml}$) ^a	количина фенолних једињења (mgGA/g)	количина флавоноида (mgRu/g)
ИС059	82.0	57.0	110.3
РА123	44.8	107.1	189.3
ЦС091	55.0	120.1	351.7
ЦС105	67.8	71.2	161.6
ЦС119	75.4	53.7	110.8
ЦС131	51.0	76.9	180.5
ЦС146	63.7	63.3	154.3
просек	62.8	78.5	179

^a антиоксидативна активност је утолико јача уколико је њена измерена вредност мања.

Способност неутрализације DPPH^+ радикала међу популацијама врсте *T. ranponnicum* је са најслабијом вредношћу утврђена у узорку из популације ИС059 - $82 \mu\text{g/ml}$, док је највећа способност утврђена за узорак популације РА123 - $44.8 \mu\text{g/ml}$. Количина укупних фенолних једињења креће се у посматраним узорцима од 53.7 mg GA/g (ЦС119) до 120.1 mg GA/g (ЦС091). Поред популације ЦС091 код које су забележене највише вредности, добри резултати су присутни и код популација РА123 (107.1 mg GA/g). У циљу утврђивања варијабилности концентрације флавоноида утврђиван је њихов квантитативни удео, као најзначајније групе у оквиру класе фенолних једињења. Концентрација флавоноида се кретала од 110.3 до 351.7 mg Ru/g . Најнижа вредност је била присутна код популације ИС059 а највиша код популације ЦС091.

Како би се јасније приказала структурираност података из претходне табеле коришћена је метода главне компоненте (РСА). Подаци су приказани коришћењем прве две осе, при чему прва носи 82.1% варијабилности а друга 16.4% . Укупно је овим графиканом приказано 98.5% варијабилности почетних информација.



Графикон 53. PCA анализа анатомских карактеристика 7 популација врсте *Trifolium rannonicum* (AA – антиоксидативна активност, КФЈ – концентрација фенолних једињења, КФЛ – концентрација флаваноида).

Као што је у претходном тексту наглашено, популација ЦС091 се издваја по високом садржају укупних фенола као и по садржају флаваноида. О томе говори и њен положај у левом доњем делу графикана. Популација РА123 има највишу антиоксидативну активност, и она је у левом горњем делу. Високу антиоксидативну активност и садржај фенола срећемо и код популације ЦС131. Остале популације, које су присутне у десном делу графикана, су просечне или испод просечне по свим испитиваним особинама.

4.4.4.1. Изофлавонони (фитоестрогени)

У табелама 71, 72 и 73 приказане су вредности четири групе изофлавонона у цвастима, листовима и стабљикама врсте *T. rannonicum*. Изофлавонони су испитивани и код додатне две популације: РА123 и ЦС131.

У три узорка садржај даидзеина у цвасти је био испод лимита детекције. Највиша концентрација је нађена у узорку ЦС146 (0.6457 mg/g) док је најнижа измерена у узорку ЦС119 (0.0718 mg/g). Количина генистеина је била

измерена у свим узорцима. Највиша концентрација налазила се у узорку ЦС131 (0.2731 mg/g) а најнижа у популацији ЦС091 (0.0549 mg/g). Формонетин је у четири популације био испод лимита детекције, у осталим се вредност кретала од 0.0309 mg/g (ЦС105) до 0.1246 mg/g (ЦС146). Биоханин А је најзаступљенији изофлавоноид у цветима. Измерен је у свим популацијама, при чему вредност која је добијена у популацији ЦС131 (0.2976 mg/g) је највиша вредност једног изофлавоноида у цвасти. Укупна количина изофлавоноида је била највиша у популацији ЦС146 (1.3031 mg/g), највећи допринос овој вредности има садржај даидзеина.

Табела 71. Садржај изофлавоноида у цвастима популација *T. rannonicum*.

популација	даидзеин	генистеин	формонетин	биоханин А	укупно
ИС059	0.1110	0.0598	0.0000	0.0678	0.2385
РА123	0.1036	0.1176	0.0407	0.1933	0.4551
ЦС091	0.0000	0.0549	0.0000	0.2506	0.3055
ЦС105	0.0000	0.1066	0.0309	0.1509	0.2884
ЦС119	0.0718	0.1746	0.0439	0.1618	0.4520
ЦС131	0.0000	0.2731	0.0000	0.2976	0.5706
ЦС146	0.6457	0.2394	0.1246	0.2934	1.3031
просек	0.1332	0.1466	0.0343	0.2022	0.5162

У пет узорка од 7 количина даидзеина у листу је била испод лимита детекције. Остали узорци су се одликовали ниским садржајем РА123 (0.1335 mg/g) и ЦС131 (0.1483 mg/g). Генистеин се кретао од 0.0848 mg/g (ЦС091) до 0.7284 mg/g (РА123). Формонетин је такође као даидзеин измерен само у два узорка у ниској концентрацији: РА123 (0.0760 mg/g) и ЦС131 (0.0735 mg/g). Биоханин А је био присутан у свим популацијама, највиша концентрација од 0.3846 mg/g измерена је у популацији ЦС091 а најнижа у популацији ИС059 (0.1431mg/g).

Популација која се издваја по укупном садржају изофлавоноида у листу је РА123 (1.2587 mg/g).

У 6 од 7 узорка садржај даидзеина је био испод лимита детекције. Слична појава је присутна и код формонетина, само у две популације вредности су биле мерљиве. У популацији ЦС146 било је највише генистеина (0.2241 mg/g), док се код популације ЦС119 јавило највише биоханина А (0.1545 mg/g).

Табела 72. Садржај изофлавона у листовима популација *T. ranunculoides*.

популација	даидзеин	генистеин	формонетин	биоханин А	укупно
ИС059	0.0000	0.1192	0.0000	0.1431	0.2623
РА123	0.1335	0.7284	0.0760	0.3207	1.2587
ЦС091	0.0000	0.0848	0.0000	0.3846	0.4694
ЦС105	0.0000	0.1876	0.0000	0.2507	0.4383
ЦС119	0.0000	0.2944	0.0000	0.2096	0.5040
ЦС131	0.1483	0.1615	0.0735	0.1718	0.5550
ЦС146	0.0000	0.2921	0.0000	0.2620	0.5542
просек	0.0403	0.2669	0.0214	0.2489	0.5774

Табела 73. Садржај изофлавона у стабљници популација *T. ranunculoides*.

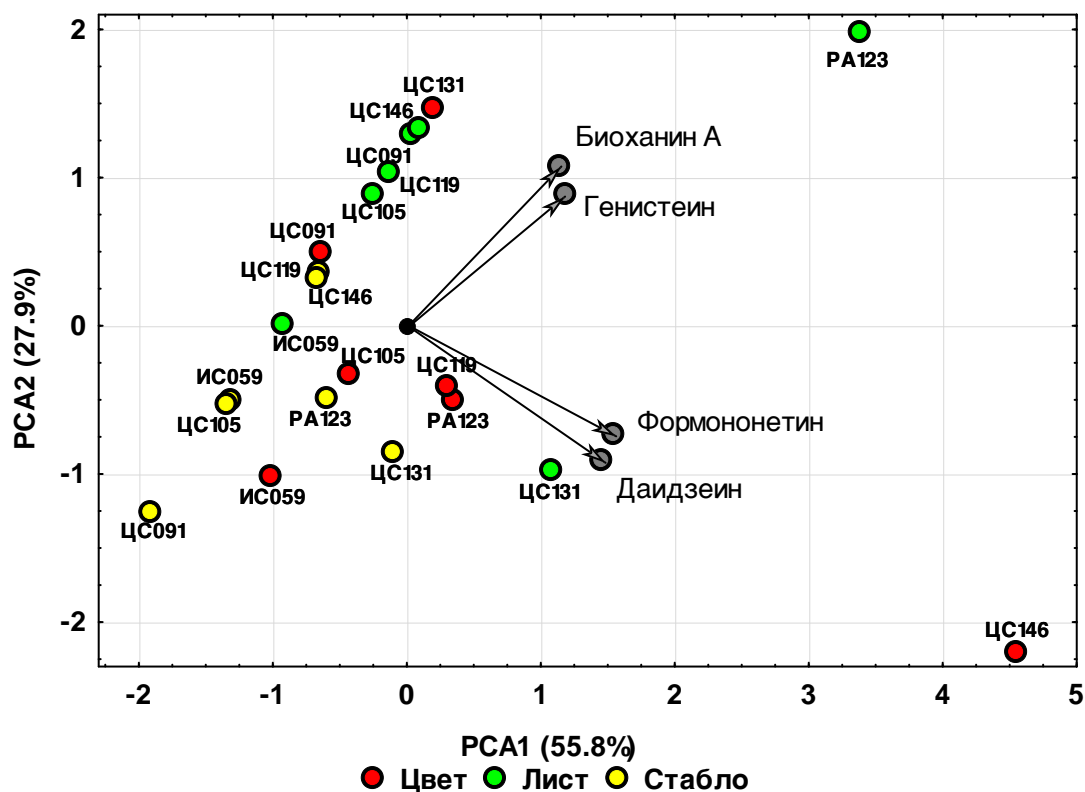
популација	даидзеин	генистеин	формонетин	биоханин А	укупно
ИС059	0.0000	0.0938	0.0000	0.0712	0.1651
РА123	0.0466	0.1276	0.0168	0.1107	0.3016
ЦС091	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
ЦС105	0.0000	0.0949	0.0000	0.0663	0.1612
ЦС119	0.0000	0.1963	0.0000	0.1545	0.3508
ЦС131	0.0000	0.0880	0.0601	0.1288	0.2769
ЦС146	0.0000	0.2241	0.0000	0.1317	0.3558
просек	0.0067	0.1178	0.0110	0.0947	0.2302

Укупно највише изофлавона у стабљници измерено је у популацији ЦС146 (0.3558 mg/g).

На графикону 54 приказан је распоред популација и биљних делова у односу на садржај изофлавона.

Укупна варијабилност приказана првим двама коресподентним осама износи 83.7%. Прва оса има највећи утицај на раздвајање вредности, што је изражено преко процента варијабилности од 55.8%. Допринос друге осе износи 27.9%. Највећи број популација налази се на левој страни графика и садржај изофлавона код њих је низак. На десној страни, у доњем десном углу издвојила се популација ЦС146. Овакав положај условљен је садржајем даидзеина и формонетина у цвету, који је значајно виши у поређењу са другим популацијама. Још једна популација – РА123 у листу има далеко више генистеина и биоханина А у поређењу са осталима популацијама услед чега је на графику позиционирана у смеру вектора ових особина. Стабљика садржи

најмање изофлавона, у листовима генерално има више генистеина и биоханина
А док цвасти имају већи садржај формононетна и даидзеина.



Графикон 54. Графички приказ пројекција 7 популација врсте *Trifolium rannonicum* и 4 изофлавона, на прву и другу коресподентну осу.

4.5. Резултати анализе врсте *Trifolium montanum*

Од почетних 14 популација које су укључене у пољски експеримент, за анализу је одабрано 10 (ИС059, РА089, ТА097, ТА098, ТА104, ЦС068, ЦС091, ЦС092, ЦС105 и ЦС146). Мерење морфолошких особина је вршено у 2011. и 2012. години. Процент преживелих биљака у овим годинама дат је у табели 74.

Табела 74. Процент преживелих биљака у 2011. и 2012. години популација врсте *Trifolium montanum*.

популација	ИС059	РА089	ТА097	ТА098	ТА104	ЦС068	ЦС091	ЦС092	ЦС105	ЦС146
% преживелих у 2011. год.	93%	93%	90%	88%	95%	88%	90%	93%	93%	88%
% преживелих у 2012. год.	60%	80%	55%	65%	55%	55%	80%	55%	55%	55%

4.5.1. Морфолошке особине

Резултати морфолошких анализа једнофакторијалном АНОВА-ом су дати у табели 75. Статистички значајне разлике (на нивоу $p < 0.01$) између популација не постоје код броја интернодија и броја бочних грана у 2011. години као и у случају висине и броја изданака у 2012. години. Разлике за број изданака у 2012. постоје на нивоу $p < 0.05$.

Табела 75. Једнофакторијална анализа варијансе праћених морфолошких особина врсте *Trifolium montanum*.

особина	2011. година		2012. година	
	F	p	F	p
зелена маса	3.65	0.0003	2.92	0.0037
висина	4.51	0	1.52	0.1501
број изданака	2.65	0.0068	2.06	0.0384
број интернодија	0.76	0.6569	3.99	0.0002
број грана	0.61	0.7895	4.44	0.0001
дужина листа	6.17	0	2.91	0.0038
ширина листа	5.31	0	3.81	0.0003

Принос зелене масе

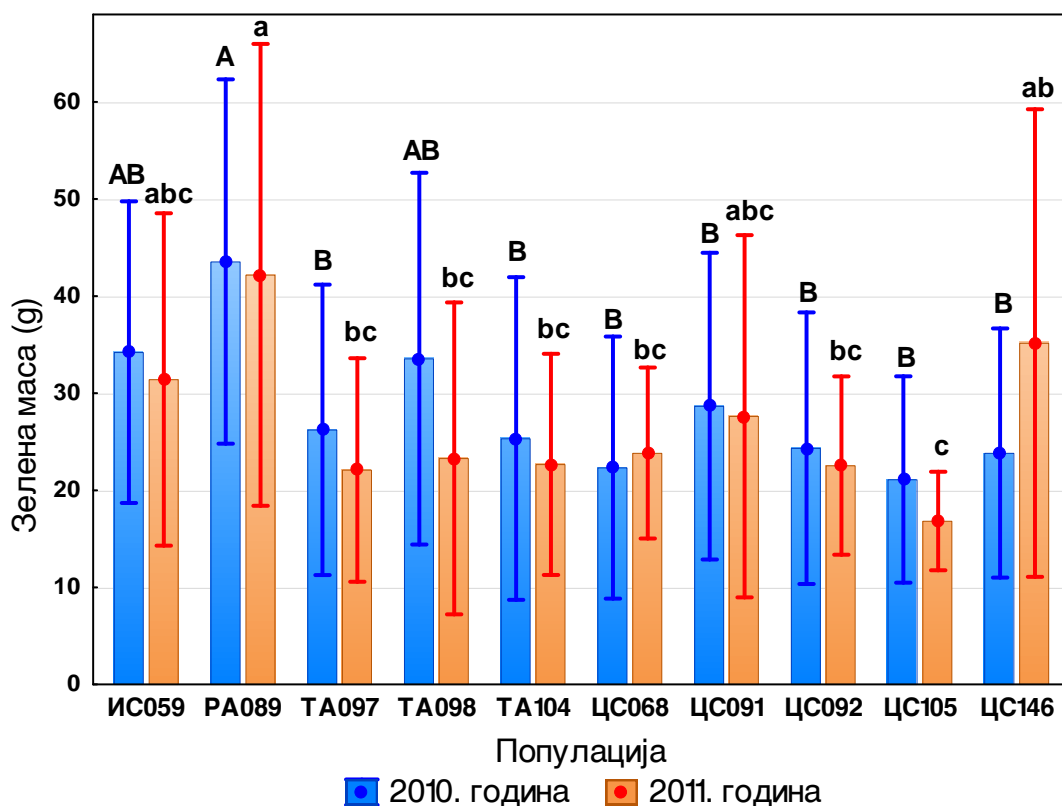
У табели 76 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем зелене масе појединачних биљака врсте *T. montanum*.

Табела 76. Просечне вредности зелене масе (g), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2011. и 2012., као и процентуална промена у односу на 2011. годину.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	34.2 ± 15.5 (45%)	31.4 ± 17.1 (54%)	-8 %
РА089	43.6 ± 18.8 (43%)	42.2 ± 23.8 (56%)	-3 %
ТА097	26.2 ± 15.0 (57%)	22.1 ± 11.5 (52%)	-16 %
ТА098	33.6 ± 19.1 (57%)	23.3 ± 16.1 (69%)	-31 %
ТА104	25.3 ± 16.6 (66%)	22.7 ± 11.4 (50%)	-10 %
ЦС 068	22.3 ± 13.5 (60%)	23.8 ± 8.8 (37%)	7 %
ЦС091	28.7 ± 15.8 (55%)	27.6 ± 18.7 (68%)	-4 %
ЦС092	24.3 ± 14.0 (57%)	22.5 ± 9.2 (41%)	-7 %
ЦС105	21.1 ± 10.6 (50%)	16.8 ± 5.1 (30%)	-20 %
ЦС146	23.8 ± 12.8 (54%)	35.2 ± 24.1 (68%)	48 %
просек	28.3	26.8	-5 %

У 2011. години просечна зелена маса се креће у опсегу од 21.1 g (ЦС105) до 43.6 g (РА089). Коефицијенти варијације су високи и крећу се од 43% (РА089) до 66% (ТА104). Са графикана 55 се уочава да су у 2011. години

статистички најбоље резултате оствариле популације РА089 (43.6 g), ИС059 (34.2 g) и ТА098 (33.6 g).



Графикон 55. Средње вредности, стандардна девијација и post hoc тестови за зелену масу (g) популација врсте *T. montanum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2011. а малим у 2012. години ($p < 0.01$). Звездике приказују статистички значајне разлике између година.

У 2012. години просечна зелена маса се креће у опсегу од 16.8 g (ЦС105) до 42.2 g (РА089). Статистички најбоље резултате су оствариле популације РА089 (42.2 g), ЦС146 (35.2 g), ИС059 (31.4 g) и ЦС091 (27.6 g). Ипак примећује се да се принос зелене масе код популација ИС059 и ЦС091 не разликују статистички значајно од популације које су имале најлошије резултате. У 2012. години већина популације је забележила смањење просечног приноса зелене масе. Највеће смањење је имала популација ТА098 (31%). Повећање просечне масе су забележиле популације ЦС146 (48%) и ЦС068 (23.8%). Ни код једне популације промена просечне масе у 2012. није статистички значајна.

Принос суве материје

Табела 77. Просечне вредности суве материје (g) по популацији, приказане за 2011. и 2012.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	10.43 ± 4.73	7.25 ± 3.95	-30%
РА089	13.17 ± 5.68	9.54 ± 5.38	-28%
ТА097	7.73 ± 4.43	5.35 ± 2.78	-31%
ТА098	9.91 ± 5.63	5.22 ± 3.61	-47%
ТА104	6.96 ± 4.57	5.06 ± 2.54	-27%
ЦС 068	5.82 ± 3.52	5.81 ± 2.15	0%
ЦС091	8.61 ± 4.74	6.21 ± 4.21	-28%
ЦС092	7.14 ± 4.12	4.79 ± 1.96	-33%
ЦС105	6.27 ± 3.15	3.61 ± 1.1	-42%
ЦС146	7.38 ± 3.97	7.57 ± 5.18	3%
просек	8.34	6.04	-28%

Вредности суве материје код популација врсте *T. montanum* крећу се од 5.8 g (ЦС068) до 13.2 g (РА089). У 2012. години вредности суве материје су у просеку ниже него у 2011. години и крећу се у ужем опсегу. Најнижа вредност је била присутна код популације ЦС105 (3.61 g) док је код популације РА089 вредност по биљци била највиша (9.54 g).

Висина биљака

У табели 78 су приказане просечне вредности висине биљака популација врсте *T. montanum*.

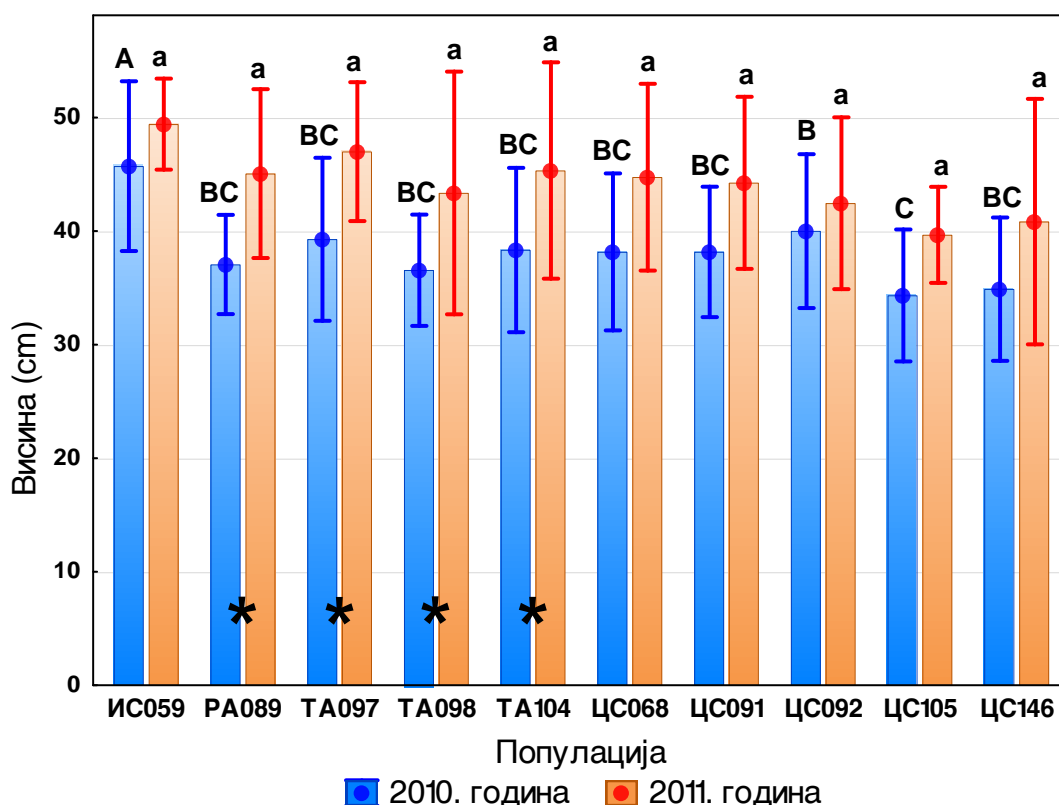
Табела 78. Просечне вредности висине (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2011. и 2012., као и процентуална промена у односу на 2011. годину.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	45.72 ± 7.5 (16%)	49.4 ± 4.0 (8%)	8 %
РА089	37.06 ± 4.4 (12%)	45.1 ± 7.4 (16%)	22 %
ТА097	39.28 ± 7.2 (18%)	47.0 ± 6.1 (13%)	20 %
ТА098	36.56 ± 4.9 (13%)	43.4 ± 10.7 (25%)	19 %
ТА104	38.33 ± 7.2 (19%)	45.3 ± 9.5 (21%)	18 %
ЦС089	38.17 ± 6.9 (18%)	44.7 ± 8.2 (18%)	17 %
ЦС091	38.17 ± 5.7 (15%)	44.2 ± 7.6 (17%)	16 %
ЦС092	40.00 ± 6.8 (17%)	42.4 ± 7.6 (18%)	6 %
ЦС105	34.33 ± 5.8 (17%)	39.7 ± 4.2 (11%)	16 %
ЦС146	34.89 ± 6.3 (18%)	40.8 ± 10.8 (26%)	17 %
просек	38.25	44.2	16 %

У 2011. години просечна висина се кретала у интервалу од 34.3 cm (ЦС105) до 45.7 cm (ИС059). Коефицијенти варијације су ниски и уједначени а крећу се у осегу вредности од 15% (ЦС091) до 19% (ТА104). Статистички највећу висину је забележила популација ИС059 (Графикон 56).

У 2012. години просечна висина се креће у интервалу од 39.7 cm (ЦС105) до 49.4 cm (ИС059). Биљке свих популације су забележиле раст просечне висине који се креће од 6% (ЦС105) до 22% (РА089). Популација ЦС146 је забележила нешто већи коефицијент варијације (26%) док је код осталих популација он остао релативно низак. Применом једнофакторијалне ANOVA-е (Табела 75) је утврђено да у 2012. години између популација нема статистички значајних разлика ($F = 1.52$, $p = 0.1501$).

Са графикона 56 се уочава да су статистички значајно повећање просечне висине у 2012. години оствариле биљке популације РА089 (22%), ТА097 (20%), ТА098 (19%) и ТА104 (18%).



Графикон 56. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за висину (cm) популација врсте *T. montanum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2011. а малим у 2012. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Број изданака

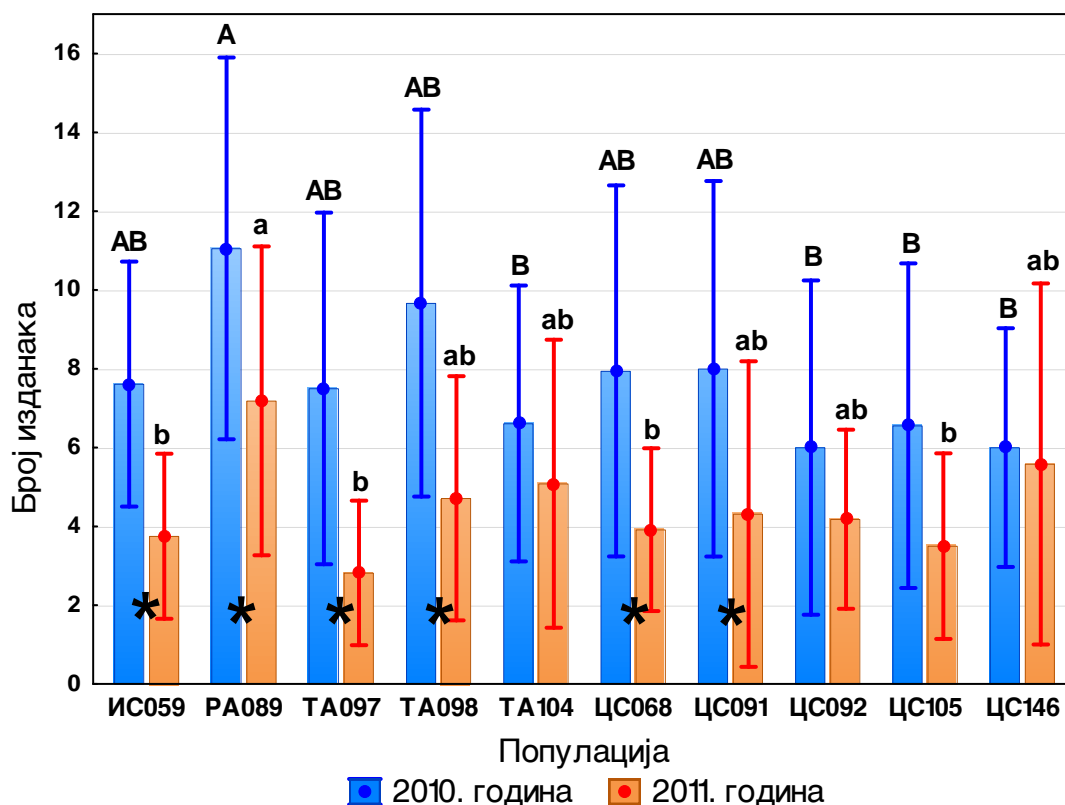
У табели 79 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја изданака појединачних биљака врсте *T. montanum*.

Табела 79. Просечне вредности броја изданака, стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2011. и 2012., као и процентуална промена у односу на 2011. годину.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	7.61 ± 3.1 (41%)	3.75 ± 2.1 (56%)	-51 %
РА089	11.06 ± 4.8 (44%)	7.19 ± 3.9 (55%)	-35 %
ТА097	7.50 ± 4.5 (59%)	2.82 ± 1.8 (65%)	-62 %
ТА098	9.67 ± 4.9 (51%)	4.71 ± 3.1 (66%)	-51 %
ТА104	6.61 ± 3.5 (53%)	5.08 ± 3.6 (72%)	-23 %
ЦС 068	7.94 ± 4.7 (59%)	3.92 ± 2.1 (53%)	-51 %
ЦС091	8.00 ± 4.8 (60%)	4.31 ± 3.9 (90%)	-46 %
ЦС092	6.00 ± 4.2 (71%)	4.18 ± 2.3 (54%)	-30 %
ЦС105	6.56 ± 4.1 (63%)	3.50 ± 2.4 (67%)	-47 %
ЦС146	6.00 ± 3.0 (50%)	5.58 ± 4.6 (82%)	-7 %
просек	7.70	4.50	-40 %

У 2011. години просечан број изданака се креће у интервалу од 6.00 (ЦС105 и ЦС146) до 11.06 (РА089). Коефицијенти варијације се налазе у опсегу од 41% (ИС059) до 71% (ЦС092).

У 2012. години просечан број изданака се креће од 3.50 (ЦС105) до 7.19 (РА089). Коефицијенти варијације су се повећали код скоро свих популација тако да се они у 2011. години налазе у интервалу од 53% (ЦС068) до 90% (ЦС091). У 2012. години све популације су забележиле смањење просечног броја изданака. Ово смањење је статистички значајно код популација ТА097 (62%), ИС059 (51%), ТА098 (51%), ЦС068 (51%), ЦС091 (46%) и РА089 (35%) (Графикон 57).



Графикон 57. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број изданака популација врсте *T. montanum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2011. а малим у 2012. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

Број интернодија

У табели 80 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја интернодија појединачних биљака врсте *T. montanum*.

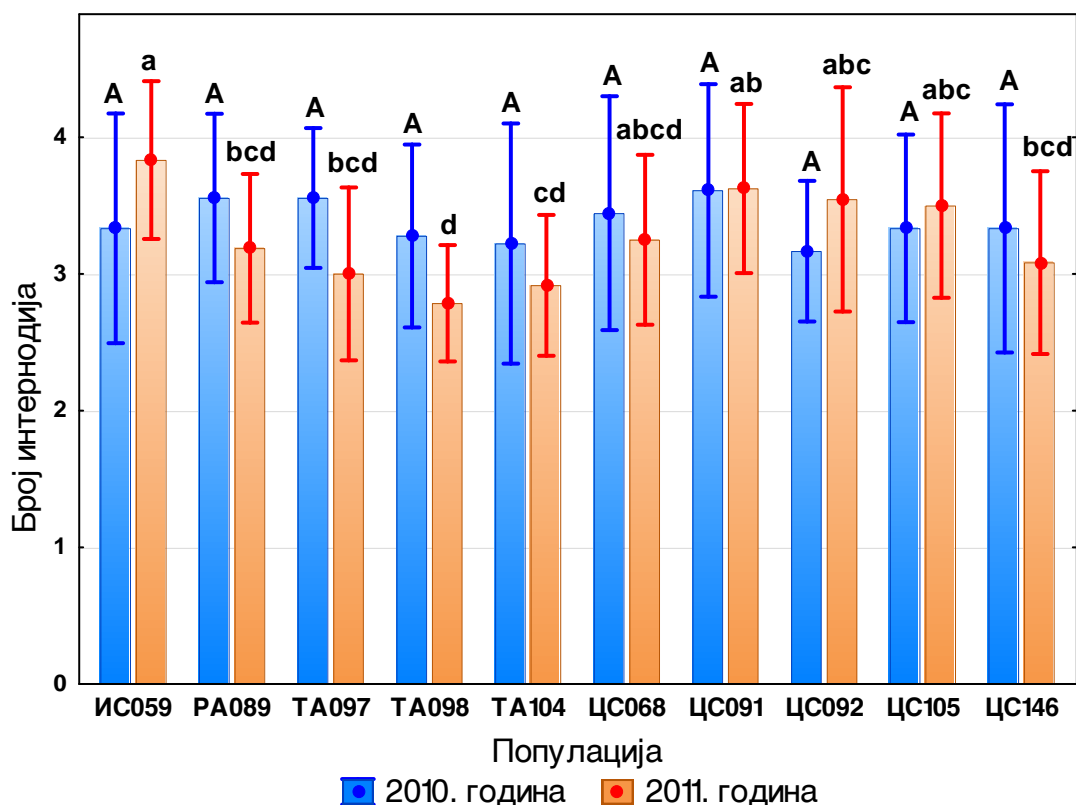
У 2011. години просечан број интернодија се налази у опсегу вредности од 3.17 (ЦС092) до 3.61 (ЦС091). Коефицијенти варијације су релативно ниски и уједначени а крећу се у интервалу од 14% (ТА097) до 27% (ТА104 и ЦС146). Применом једнофакторијалне ANOVA-е (Табела 75) је утврђено да нема статистички значајне разлике у просечном броју интернодија између било које две од посматраних популација ($F = 0.76$, $p = 0.657$).

У 2012. години просечан број интернодија се налази у опсегу вредности од 2.79 (ТА098) до 3.83 (ИС059). Коефицијенти варијације се нису значајно променили у односу на 2011. годину. Статистички највећи просечан број интернодија су забележиле популације ИС059 (3.83), ЦС091 (3.63), ЦС092 (3.55), ЦС105 (3.50) и ЦС089 (3.25), при чему треба имати у виду да се популација

ЦС089 не разликује статистички значајно од ТА089 која је забележила најмањи просечан број интернодија.

Табела 80. Просечне вредности броја интернодија, стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2011. и 2012., као и процентуална промена у односу на 2011. годину.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	3.33 ± 0.84 (25%)	3.83 ± 0.57 (15%)	15 %
РА089	3.56 ± 0.62 (17%)	3.19 ± 0.54 (17%)	-10 %
ТА097	3.56 ± 0.51 (14%)	3.00 ± 0.63 (21%)	-16 %
ТА098	3.28 ± 0.67 (20%)	2.79 ± 0.43 (15%)	-15 %
ТА104	3.22 ± 0.88 (27%)	2.92 ± 0.52 (18%)	-9 %
ЦС089	3.44 ± 0.86 (25%)	3.25 ± 0.62 (19%)	-6 %
ЦС091	3.61 ± 0.79 (22%)	3.63 ± 0.62 (17%)	1 %
ЦС092	3.17 ± 0.51 (16%)	3.55 ± 0.82 (23%)	12 %
ЦС105	3.33 ± 0.68 (21%)	3.50 ± 0.67 (19%)	5 %
ЦС146	3.33 ± 0.91 (27%)	3.08 ± 0.67 (22%)	-8 %
просек	3.38	3.27	-3 %



Графикон 58. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за број интернодија популација врсте *T. montanum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2011. а малим у 2012. години ($p < 0.01$). Звездице приказују статистички значајне разлике између година.

У 2012. години ни једна популација није забележила статистички значајну промену просечног броја интернодија у односу на претходну годину (Графикон 58). Највећи пад просечног броја интернодија су имале популације ТА097 (16%) и ТА098 (15%) док је највећи раст забележен код ИС059 (15%).

Број бочних грана

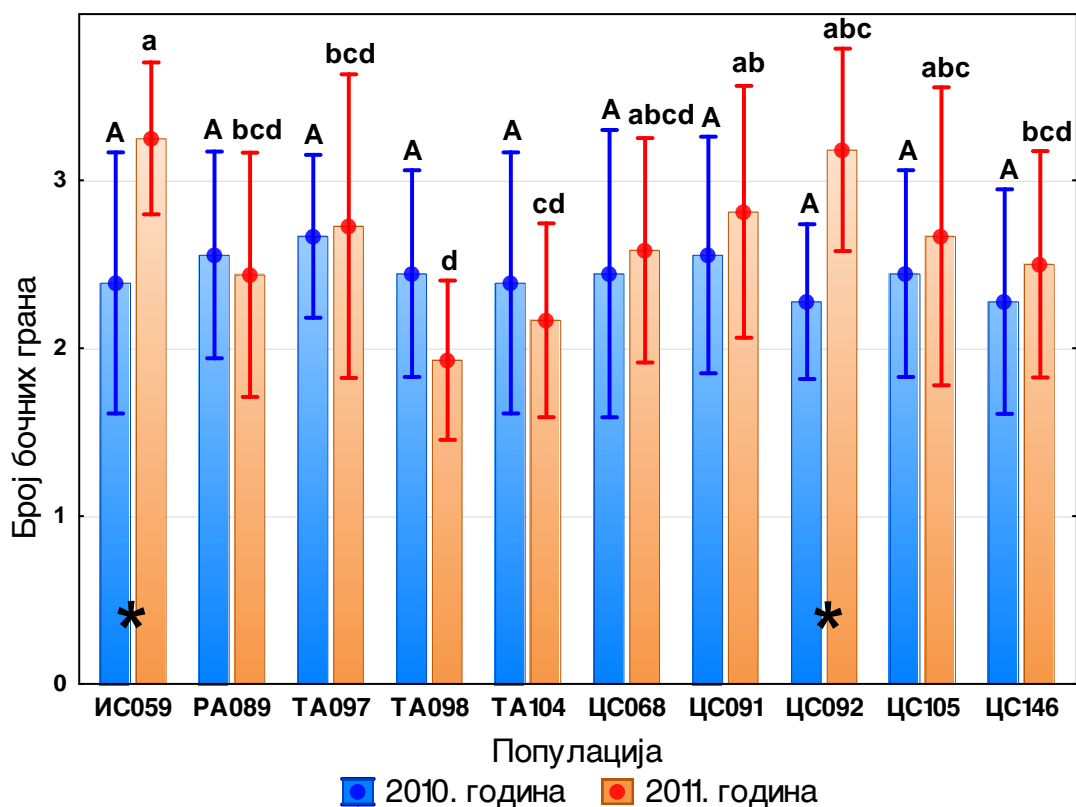
У табели 81 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем броја бочних грана појединачних биљака врсте *T. montanum*.

У 2011. години просечан број бочних грана се налази у опсегу вредности од 2.28 (ЦС092 и ЦС146) до 2.67 (ТА097). Коефицијенти варијације су уједначени а крећу се у интервалу од 18% (ТА097) до 35% (ЦС068). Применом једнофакторијалне ANOVA-е (Табела 75) је утврђено да нема статистички значајне разлике у просечном броју грана између било које две од посматраних популација ($F = 0.61, p=0.789$).

У 2012. години просечан број бочних грана се креће између 1.93 (ТА098) и 3.25 (ИС059). Коефицијенти варијације се нису битније мењали у односу на 2011. годину. Између 5 најбољих популација у 2012. години нема статистички значајне разлике (Графикон 59).

Табела 81. Просечне вредности броја бочних грана, стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2011. и 2012., као и процентуална промена у односу на 2011. годину.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	2.39 ± 0.78 (33%)	3.25 ± 0.45 (14%)	36 %
РА089	2.56 ± 0.62 (24%)	2.44 ± 0.73 (30%)	-5 %
ТА097	2.67 ± 0.49 (18%)	2.73 ± 0.9 (33%)	2 %
ТА098	2.44 ± 0.62 (25%)	1.93 ± 0.47 (25%)	-21 %
ТА104	2.39 ± 0.78 (33%)	2.17 ± 0.58 (27%)	-9 %
ЦС 068	2.44 ± 0.86 (35%)	2.58 ± 0.67 (26%)	6 %
ЦС091	2.56 ± 0.7 (28%)	2.81 ± 0.75 (27%)	10 %
ЦС092	2.28 ± 0.46 (20%)	3.18 ± 0.60 (19%)	39 %
ЦС105	2.44 ± 0.62 (25%)	2.67 ± 0.89 (33%)	9 %
ЦС146	2.28 ± 0.67 (29%)	2.5 ± 0.67 (27%)	10 %
просек	2.45	2.63	8 %



Графикон 59. Средње вредности, стандардна девијација и post hoc тестови за број бочних грана популација врсте *T. montanum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2011. а малим у 2012. години ($p < 0.01$). Звездиче приказују статистички значајне разлике између година.

Популације ЦС092 и ИС059 су имале статистички значајан раст просечног броја бочних грана од 39% односно 36% док популација ТА098 има смањење од 21% али оно није статистички значајно. Остале популације нису забележиле значајнију промену броја бочних грана у 2012. години.

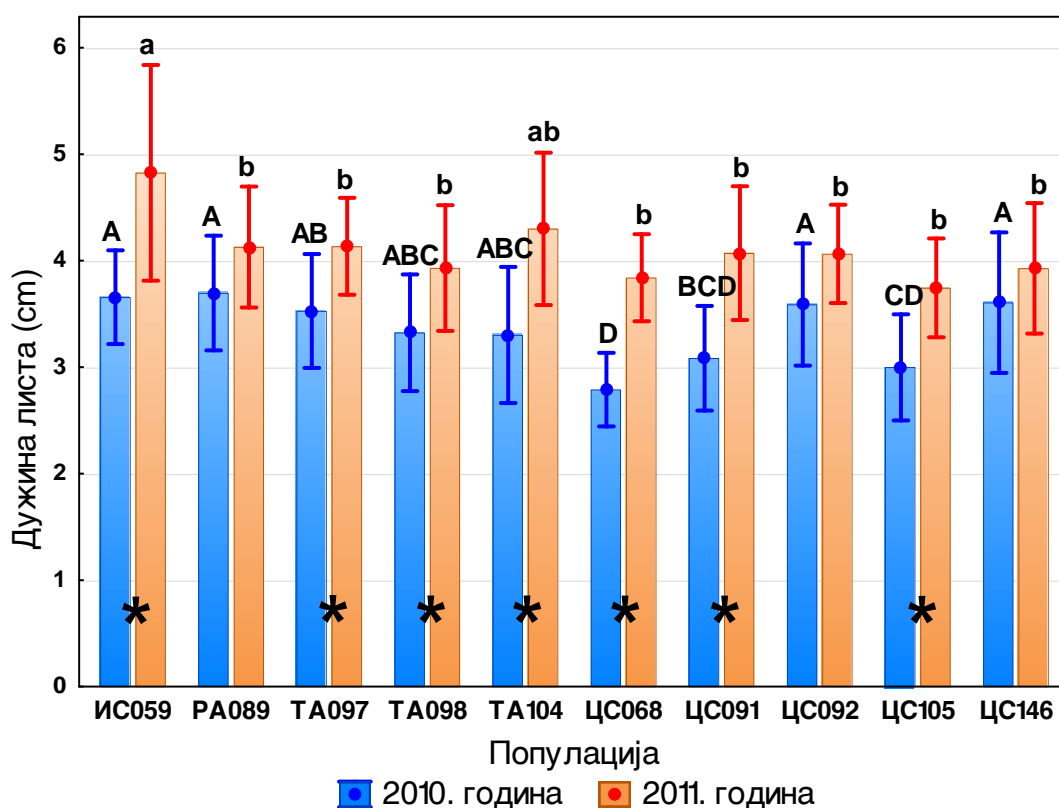
Дужина листа

У табели 82 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем дужине листа појединачних биљака врсте *T. montanum*.

У 2011. години дужина листа се налази у опсегу вредности од 2.79 cm (ЦС068) до 3.70 cm (РА089). Коефицијенти варијације су ниски и крећу се од 12% (ИС059 и ЦС068) до 19% (ТА104). Резултати Фишеровог LSD теста показују да међу 7 популација са највећом дужином листа не постоје статистички значајне разлике (Графикон 60).

Табела 82. Просечне вредности дужине листа (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2011. и 2012., као и процентуална промена у односу на 2011. годину.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	3.66 ± 0.44 (12%)	4.83 ± 1.01 (21%)	32 %
РА089	3.70 ± 0.54 (15%)	4.13 ± 0.57 (14%)	12 %
ТА097	3.53 ± 0.53 (15%)	4.13 ± 0.45 (11%)	17 %
ТА098	3.32 ± 0.55 (16%)	3.93 ± 0.59 (15%)	18 %
ТА104	3.30 ± 0.64 (19%)	4.30 ± 0.72 (17%)	30 %
ЦС 068	2.79 ± 0.35 (12%)	3.84 ± 0.41 (11%)	38 %
ЦС091	3.08 ± 0.49 (16%)	4.07 ± 0.63 (15%)	32 %
ЦС092	3.59 ± 0.57 (16%)	4.06 ± 0.46 (11%)	13 %
ЦС105	3.00 ± 0.50 (17%)	3.74 ± 0.46 (12%)	25 %
ЦС146	3.61 ± 0.66 (18%)	3.93 ± 0.61 (16%)	9 %
просек	3.56	4.10	23 %



Графикон 60. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за дужину листа (cm) популација врсте *T. montanum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2011. а малим у 2012. години ($p < 0.01$). Звезде приказују статистички значајне разлике између година.

У 2012. години просечна дужина листа варира у опсегу од 3.74 cm (ЦС105) до 4.83 cm (ИС059). Статистички најбоље резултате су оствариле популације ИС059 (4.83 cm) и ТА104 (4.30 cm). У 2012. години је код свих популација забележено повећање просечне дужине листа у односу на 2011. годину (Графикон 60). Ово повећање није било статистички значајно код популација РА089, ЦС092 и ЦС146 док је код осталих популација забележено статистички значајно повећање просечне дужине листа.

Ширина листа

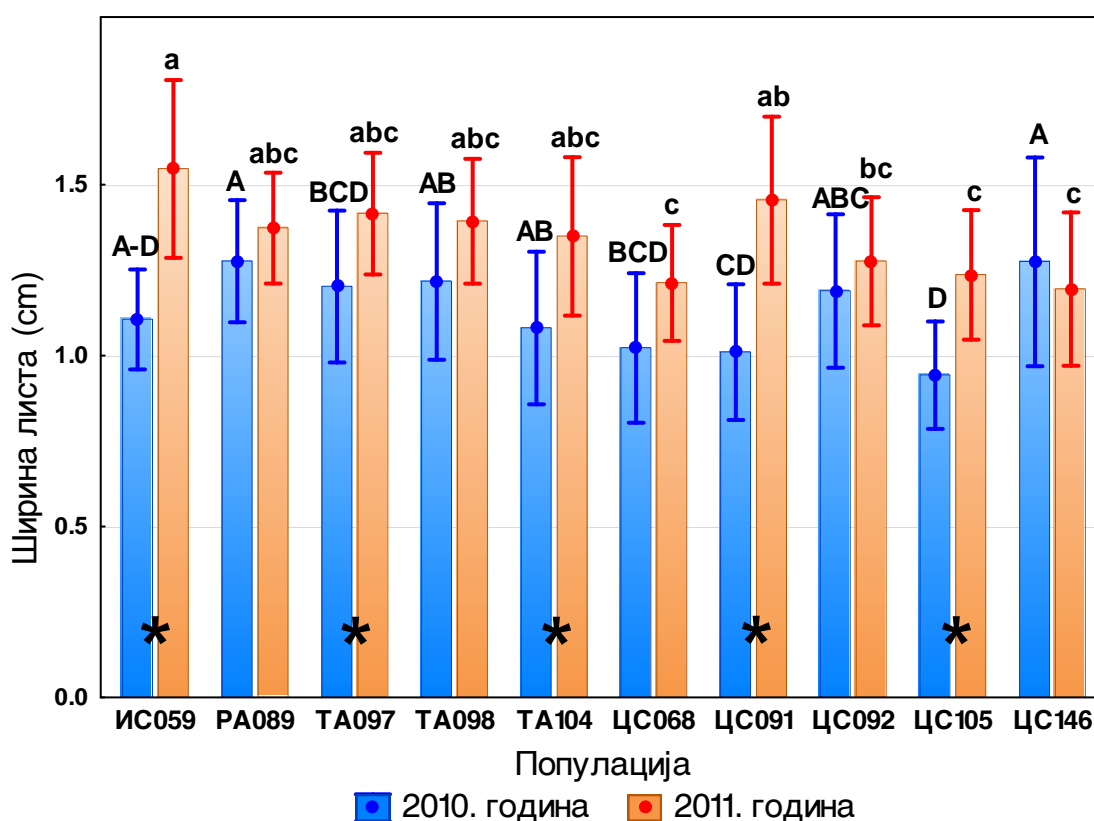
У табели 83 су приказане просечне вредности популација добијене мерењем ширине листа појединачних биљака врсте *T. montanum*.

Табела 83. Просечне вредности ширине листа (cm), стандарне девијације и коефицијенти варијације (%) за сваку популацију, приказане за 2011. и 2012., као и процентуална промена у односу на 2011. годину.

популација	2011. година	2012. година	промена у односу на 2011. годину
ИС059	1.11 ± 0.15 (13%)	1.55 ± 0.26 (17%)	40 %
РА089	1.28 ± 0.18 (14%)	1.37 ± 0.16 (12%)	7 %
ТА097	1.2 ± 0.22 (18%)	1.42 ± 0.18 (13%)	18 %
ТА098	1.22 ± 0.23 (19%)	1.39 ± 0.18 (13%)	14 %
ТА104	1.08 ± 0.22 (21%)	1.35 ± 0.23 (17%)	25 %
ЦС089	1.02 ± 0.22 (21%)	1.21 ± 0.17 (14%)	19 %
ЦС091	1.01 ± 0.2 (20%)	1.45 ± 0.24 (17%)	44 %
ЦС092	1.19 ± 0.22 (19%)	1.28 ± 0.19 (15%)	8 %
ЦС105	0.94 ± 0.16 (17%)	1.24 ± 0.19 (15%)	32 %
ЦС146	1.27 ± 0.31 (24%)	1.19 ± 0.22 (19%)	-6 %
просек	1.13	1.35	20 %

У 2011. години просечна ширина листа се креће у интервалу од 0.94 cm (ЦС105) до 1.28 cm (РА089). Коефицијенти варијације се налазе у опсегу вредности од 13% (ИС059) до 24% (ЦС146).

У 2012. години просечна ширина листа се креће у опсегу вредности од 1.19 cm (ЦС146) до 1.55 cm (ИС059). Дошло је до повећања просечне дужине листа код свих популација осим код ЦС146 која је имала за 6% мању ширину листа у 2012. него у 2011. години. Статистички значајно повећање просечне ширине листа су оствариле популације ЦС091 (44%), ИС059 (40%), ЦС105 (32%), ТА104 (24%) и ТА097 (18%).



Графикон 61. Средње вредности, стандардне девијације и post hoc тестови за дужину листа (cm) популација врсте *T. montanum*. Великим словима су означене статистички значајне разлике у 2011. а малим у 2012. години ($p < 0.01$). Звездике приказују статистички значајне разлике између година.

Корелације морфолошких особина

За израчунавање парцијалног коефицијента корелације коришћене су све појединачне вредности особина анализираних популација. Приказ резултата ове анализе је дат у табели 84.

Табела 84. Парцијални коефицијенти корелације морфолошких особина у 2011. години популација врсте *Trifolium montanum*

	зелена маса	висина	број б.изданака	број интернодија	бр. бочних грана	дужина листа	ширина листа
зелена маса		***	***	***	***	**	
висина	0.415			***	***	*	
бр. изданака	0.826	0.133		**	**		
бр. интрнодија	0.349	0.401	0.221		***		**
бр. бочних грана	0.367	0.291	0.224	0.808			**
дужина листа	0.21	0.154	0.071	-0.053	-0.143		***
ширина листа	-0.026	-0.069	-0.079	-0.195	-0.235	0.558	

корелације су статистички значајне на нивоу (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$)

Код врсте *T. montanum* добијен је већи број статистички значајних корелација. Високо корелисане особине са значајношћу на нивоу $p < 0.001$ су: зелена маса са висином, бројем изданака, бројем интернодија и бројем бочних грана. Висина је корелисана са бројем интернодија и бројем бочних грана. Број бочних грана и број интернодија међусобно као и дужина и ширина листа. Статистички значајне негативне корелације су успостављене између ширине листа са једне страни и броја изданака и броја бочних грана са друге.

Мултиваријациона анализа морфолошких особина

Једнофакторијална МАНОВА је показала да у обе посматране године постоји статистички значајна разлика између популација уколико посматрамо све морфолошке особине заједно (у 2011. години је Wilk's $\Lambda = 0.337$, $F = 3.146$, $p < 0.0001$, док је у 2012. години Wilk's $\Lambda = 0.296$, $F = 2.436$, $p < 0.0001$).

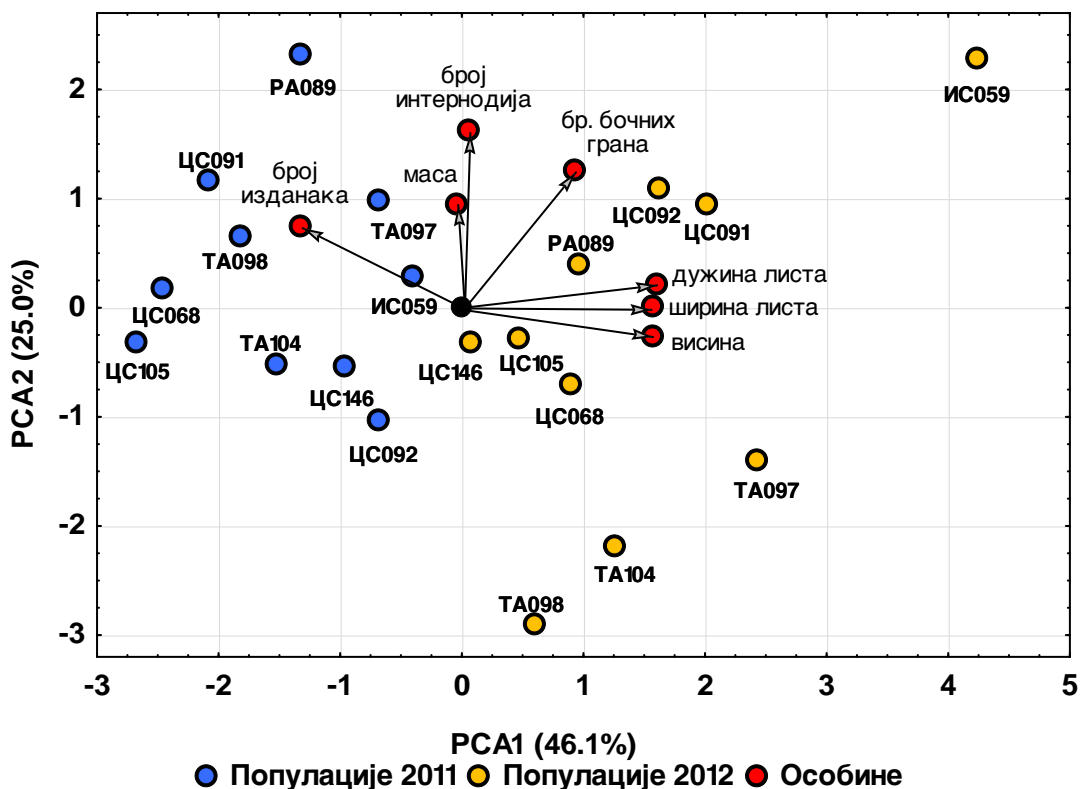
Да би се установио значај сваке од посматраних особина на раздвајање посматраних популација, примењена је дискриминантна анализа (табела 85).

У 2011. години статистички значајан допринос разликовању популација ($p < 0.01$) имају висина (Wilk's $\Lambda = 0.458$), зелена маса (Wilk's $\Lambda = 0.402$) и ширина листа (Wilk's $\Lambda = 0.395$). Број изданака и дужина листа имају утицаја на нивоу значајности $p < 0.05$ док број интернодија и број бочних грана немају статистички значајног утицаја на разликовање популација. Ширина и дужина листа имају најмању редувантност док зелена маса има највећу редувантност тако да се 82.6% варијабилности у маси може објаснити помоћу варијабилности осталих особина.

Табела 85. Дискриминантна анализа морфолошких особина популација врсте *Trifolium montanum*.

	2011. година			2012. година		
	Wilk's Λ	p	R ²	Wilk's Λ	p	R ²
зелена маса	0.402	0.0005	0.826	0.351	0.0205	0.677
висина	0.458	0.0000	0.464	0.336	0.1087	0.344
бр. изданака	0.376	0.0284	0.760	0.326	0.2782	0.643
бр. интернодија	0.367	0.1096	0.700	0.342	0.0567	0.297
бр. бочних грана	0.355	0.4711	0.698	0.336	0.1013	0.296
дужина листа	0.383	0.0105	0.326	0.330	0.1898	0.365
ширина листа	0.395	0.0015	0.302	0.354	0.0156	0.291

У 2012. години ни једна особина нема статистички значајан утицај на раздвајање популација на нивоу $p < 0.01$. Ширина листа (Wilk's $\Lambda = 0.354$), и зелена маса (Wilk's $\Lambda = 0.351$) имају статистички значајан утицај на нивоу $p < 0.05$. Графички приказ резултата PCA методе је дат на графикону 62.



Графикон 62. Графички приказ анализе главних компоненти анализираних морфолошких особина популација врсте *Trifolium montanum* у равни прве и друге осе.

Метода главних компоненти (PCA) је показала да прве две осе обухватају 71.1% укупне варијабилности. Прва оса захвата 46.1% а друга 25.0% варијабилности.

Дуж прве осе се уочава раздвајање популација по годинама. Са десне стране графика се налазе популације из 2012. године које се одликују већом ширином листа, дужином листа и висином док се популације из 2011. године одликују већим бројем изданака. Положај популација у односу на вертикалну осу је одређен бројем интернодија, бројем бочних грана и зеленом масом. Стрелица одређена бројем бочних грана је усмерена удесно што указује на извесно повећање ове особине у 2012. години док је зелена маса усмерена улево што говори да популације у 2012. години у већем броју случајева бележе изванредан пад масе.

У 2011. години најбоље резултате постиже популација РА089 а затим и ТА097. Такође и ЦС091 бележи добре резултате код већине особина али мале вредности за дужину и ширину листа. Најлошије резултате бележе ЦС105, ЦС068 и ТА104 које се не истичу ни по једној од посматраних особина.

У 2012. популација ИС059 код свих особина осим код масе и броја изданак има најбоље резултате док су зелена маса и број изданака најбоље код РА089. Популације ТА098, ЦС068 и ЦС105 су се у 2012. години показале као најлошије и код свих посматраних особина бележе просечне или испод просечне резултате посматраних особина.

4.5.2. Хемијски састав суве материје

На испитиваним популацијама врсте *Trifolium montanum* су мерене следеће хемијске карактеристике: сирови пепео, сирови протеини, сирова целулоза, сирове масти и безазотне екстрактивне материје (БЕМ). Мерења су вршена у 2011. години у три понављања. Просечне вредности су дате у табели 86.

Вредности сирових протеина као једног од најбитнијих показатеља квалитета, крећу се од 18.50% (ТА104) до 20.83% (ЦС105). Садржај целулозе је најнижи у узорку из популације ЦС068 (25.01%) а највиши проценат је добијен у популацији ЦС146 (29.95%). Најповољнији однос ових параметара јавља се у популацијама ТА097 и ТА098.

Табела 86. Просечне вредности и стандардне девијације хемијских особина популација врсте *Trifolium montanum* изражене у процентима суве материје.

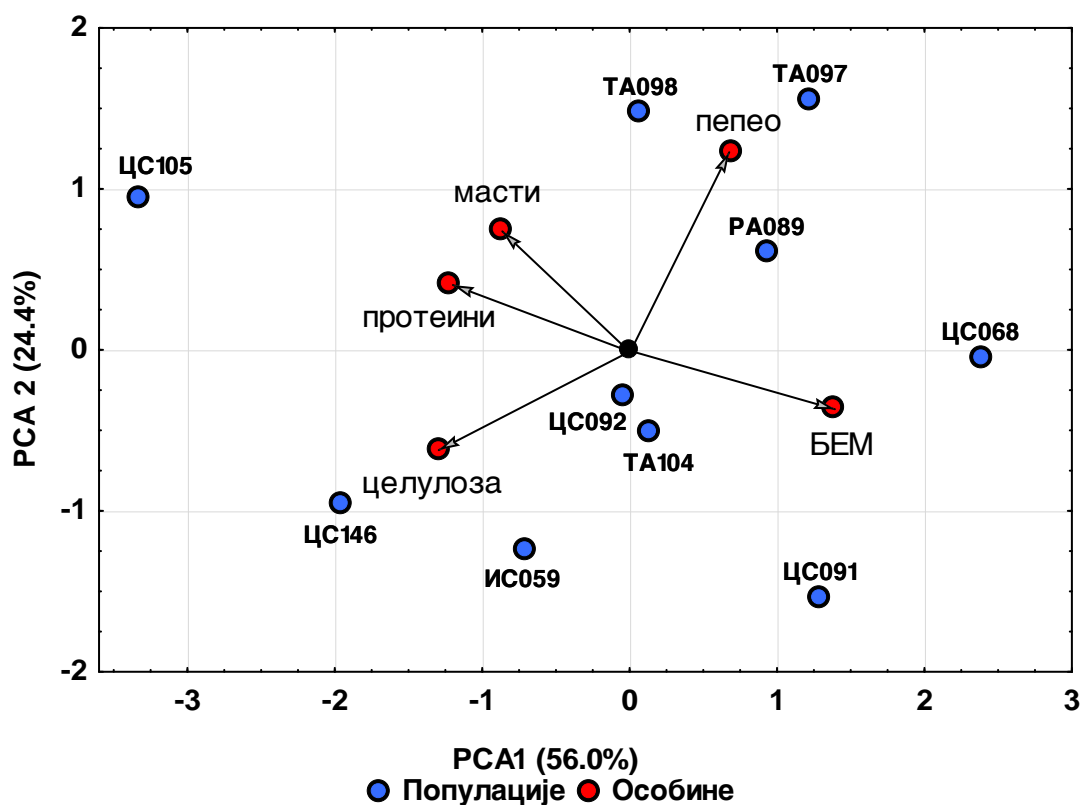
популација	пепео	протеини	целулоза	масти	БЕМ
ИС059	10.00 ± 0.51	19.68 ± 0.94	28.12 ± 1.04	2.13 ± 0.068	40.07 ± 2.29
РА089	12.20 ± 0.03	19.25 ± 1.74	26.25 ± 2.51	2.07 ± 0.174	40.23 ± 2.93
ТА097	13.09 ± 1.10	19.59 ± 1.18	25.33 ± 2.47	2.00 ± 0.027	39.99 ± 2.04
ТА098	11.96 ± 0.04	19.49 ± 0.93	25.90 ± 1.60	2.65 ± 0.245	40.00 ± 1.61
ТА104	11.03 ± 0.34	18.50 ± 0.22	28.13 ± 1.30	2.39 ± 0.016	39.95 ± 2.89
ЦС 068	11.85 ± 0.78	18.83 ± 0.11	25.01 ± 1.76	1.90 ± 0.040	42.41 ± 2.59
ЦС091	10.46 ± 0.67	19.01 ± 1.29	26.75 ± 0.09	1.80 ± 0.055	41.98 ± 3.47
ЦС092	10.52 ± 0.94	19.68 ± 0.78	26.54 ± 2.07	2.33 ± 0.213	40.93 ± 4.03
ЦС105	10.96 ± 0.31	20.83 ± 1.41	29.12 ± 0.30	2.68 ± 0.204	36.41 ± 1.11
ЦС146	10.65 ± 0.22	19.99 ± 1.83	29.95 ± 2.06	1.98 ± 0.098	37.43 ± 1.40
просек	11.27	19.49	27.11	2.19	39.94

Веома добар садржај масти може се наћи у популацијама ТА098 (2.65%) и ЦС105 (2.68%). Најнижи садржај у овом скупу популација присутан је у узорку из ЦС091 (1.80%).

Популација ИС059 садржи 10.00% пепела што је најнижа вредност добијена анализама, док популација ТА097 са 13.09% представља узорак са највишом количином овог параметра.

Подаци из табеле 86 су анализирани методом главних компоненти (РСА) а резултати ове методе су приказан на графикону 63.

Анализа главних компоненти је показала да прве две осе обухватају 80.4% варијабилности хемијских карактеристика, од тога прва оса учествује са 56% укупне варијабилности а друга са 24.4%.



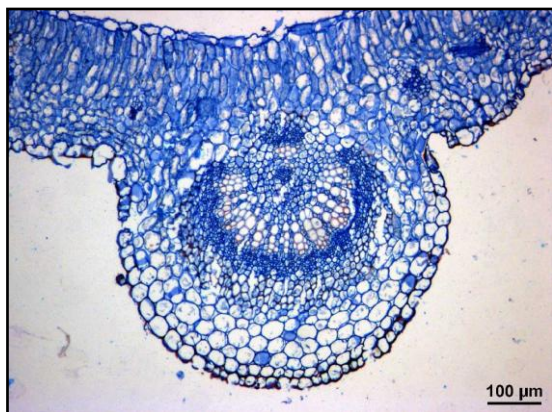
Графикон 63. Графички приказ анализе главних компоненти анализираних хемијских особина популација врсте *Trifolium montanum* у равни прве и друге осе.

Са леве стране графика се налази популација ЦС105 која се издваја високим садржајем протеина, масти и целулозе. На овој страни графика се такође налазе и популације ЦС146 и ИС059 за чији положај је садржај целулозе кључан. На десној страни графика се налазе популације ЦС068 и ЦС091 које се одликује високим садржајем безазотних материја.

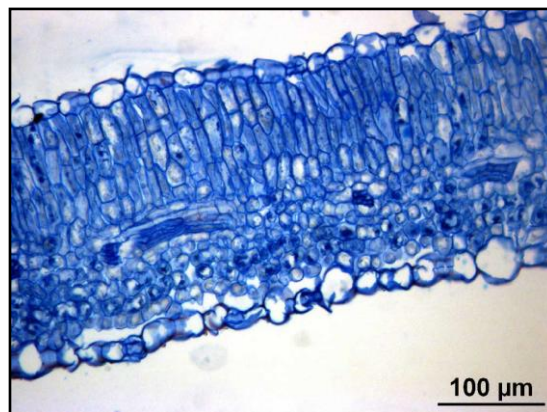
Положај популација у односу на вертикалну осу је пре свега одређен садржајем пепела тако да се у горњем делу графика налазе популације ТА097, ТА098 и РА089 које се одликују високим садржајем пепела док се у доњем делу графика налазе популације ИС059, ЦС146 и ЦС091 које имају најмањи удео пепела. Популације у централном делу графика ЦС092 и ТА104 се не издвајају ни по једној од посматраних особина.

4.5.3. Анатомија листа врсте *Trifolium montanum*

На приложеним сликама приказани су попречни пресеци средње лиске, тролиска врсте *Trifolium montanum*.



Слика 25. Попречни пресек листа врсте *Trifolium montanum* у нивоу централног нерва.



Слика 26. Попречни пресек у бочном делу листа врсте *Trifolium montanum*.

На сликама се уочавају једнослојни епидермис са лица и налицја листа. Ћелије епидермиса су крупне, округле до овалне. Палисадно ткиво је трослојно, ћелије су цилиндричног облика, густо збијене. Сунђерасто ткиво садржи велики број ситних, округлих ћелија са већим бројем видљивих интерцелулара.

У табели 87 су приказани резултати двофакторијалне анализе варијансе анатомских карактеристика листа, при чему је за сваку анатомску особину урађена засебна анализа.

Табела 87. Анализа варијансе анатомских карактеристика врсте *Trifolium montanum*.

	епидермис лица листа		палисадно ткиво		сунђерасто ткиво		епидермис налицја листа		дебљина листа		дебљина централног нерва	
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p
популација	2.25	0.021	3.38	0.000	3.34	0.000	1.01	0.434	3.94	0.000	2.02	0.06
пресек	0.05	0.986	0.17	0.913	2.51	0.061	0.47	0.705	1.20	0.310		
попул * пресек	0.39	0.996	0.23	0.999	0.62	0.930	0.61	0.933	0.15	0.999		

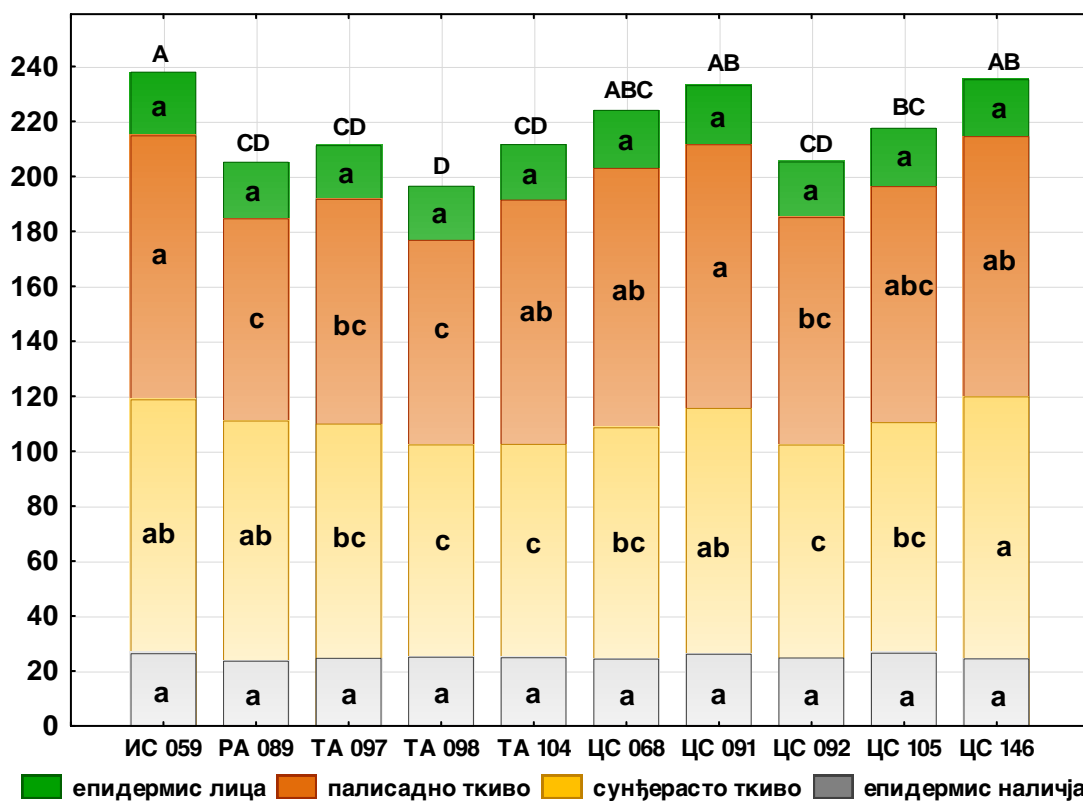
Из табеле се уочава да код палисадног и сунђерастог ткива постоји статистички значајна разлика између популација. Такође постоји и статистички значајна разлика у дебљини листова. Ни код једне особине нема статистички значајне разлике између положаја пресека листа а такође нема ни статистички значајних интеракција између популације и пресека. Резултати мерења анатомских карактеристика листа су дати у табели 88.

Табела 88. Средње вредности (μm) и стандардне девијације анатомских карактеристика листа врсте *Trifolium montanum*.

Популација	епидермис лица листа	палисадно ткиво	сунђерасто ткиво	епидермис наличја листа	дебљина листа	дебљина централног нерва
ИС059	23.17 ± 2.5	95.97 ± 17.6	92.3 ± 12.4	26.29 ± 3.88	237.8 ± 21.7	578.9 ± 38.2
РА089	20.62 ± 3.29	73.48 ± 17.2	87.4 ± 18.9	23.54 ± 3.39	205 ± 23.7	532.2 ± 49.9
ТА097	19.57 ± 2.53	81.68 ± 21.3	85.2 ± 17.3	24.6 ± 4.51	211.1 ± 34.8	551.4 ± 42.2
ТА098	19.65 ± 2.68	74.41 ± 19.7	77.2 ± 14.7	24.98 ± 3.95	196.3 ± 32.1	531.7 ± 77.7
ТА104	20.17 ± 3.34	88.86 ± 18.5	77.6 ± 12.8	24.78 ± 4.86	211.4 ± 30.8	549.0 ± 69.7
ЦС 068	21.06 ± 2.65	94.38 ± 22.2	84.1 ± 13.8	24.32 ± 3.01	223.9 ± 28.8	469.9 ± 67.2
ЦС091	21.49 ± 3.4	95.88 ± 21.5	89.4 ± 14.4	26.08 ± 4.81	232.9 ± 32.1	482.9 ± 61.8
ЦС092	20.27 ± 3.34	82.7 ± 23.1	77.4 ± 15.4	24.72 ± 4.59	205.1 ± 37.1	532.7 ± 98.3
ЦС105	21.24 ± 2.74	85.81 ± 11.6	83.9 ± 14.5	26.42 ± 3.08	217.4 ± 19.2	514.2 ± 33.6
ЦС146	20.65 ± 3.00	94.66 ± 20.7	95.3 ± 16.6	24.39 ± 4.27	235 ± 35.9	618.4 ± 97.2
просек	20.79	86.78	84.99	25.01	217.6	536.1

Вредности епидермиса лица листа крећу се од 19.57 μm (ТА097) до 23.17 μm (ИС059). Палисадно ткиво је најдебље код популације ИС059 (96.97 μm) а најтање код популације РА089 (73.48 μm). Унутар популације ЦС146 налазимо најдебље сунђерасто ткиво (95.3 μm). Сунђерасто ткиво најмање дебљине налази се у узорку ТА089 (77.2 μm). Висина епидермиса наличја креће се од 23.54 μm (РА089) до 26.42 μm (ЦС105). Највећу укупну дебљину листа има популација ИС059, док је највећа дебљина у нивоу централног нерва код популације ЦС146.

На графикону 64 је дат приказ резултата из табеле 88 као и резултати одговарајућих Фишерових LSD тестова који су урађени за особине код којих је анализом варијанси утврђено постојање статистички значајних разлика између популација на нивоу $p < 0.01$. Са графикона се уочава да статистички највећу дебљину листа има популација ИС059 док статистички најмању дебљину има популација ТА098, код ње су присутни и најтањи лисни слојеви. Статистички најдебљи слојеви се налазе код листова популација ИС059, ЦС091 и ЦС146.



Графикон 64. Приказ средњих вредности епидермиса лица, палисадног ткива, сунђерастог ткива и епидермиса наличја 10 популација врсте *Trifolium montanum*. Мала слова означавају статистички значајне разлике у оквиру одређеног лисног слоја ($p < 0.01$). Велика слова означавају статистички значајне разлике у дебљини листа.

4.5.4. Секундарни метаболити

Вредности добијене мерењем секундатних метаболита приказане су табеларно као средње вредности прерачунате на основу мерења три узорка.

Количина фенолних једињења 10 анализираних популација креће се у опсегу од 50.7 mg GA/g (ТА104) до 88.7 mg GA/g (ЦС091). Популације које су такође са релативно добрим вредностима су: РА089 и ЦС105.

Највиша концентрација флавоноида јавила се у популацији ЦС091 (141.6 mg Ru/g) а најнижа унутар популације ТА104 (67.5 mg Ru/g). Такође издвајају се популације РА089, ЦС092 и ЦС105 по садржају флавоноида.

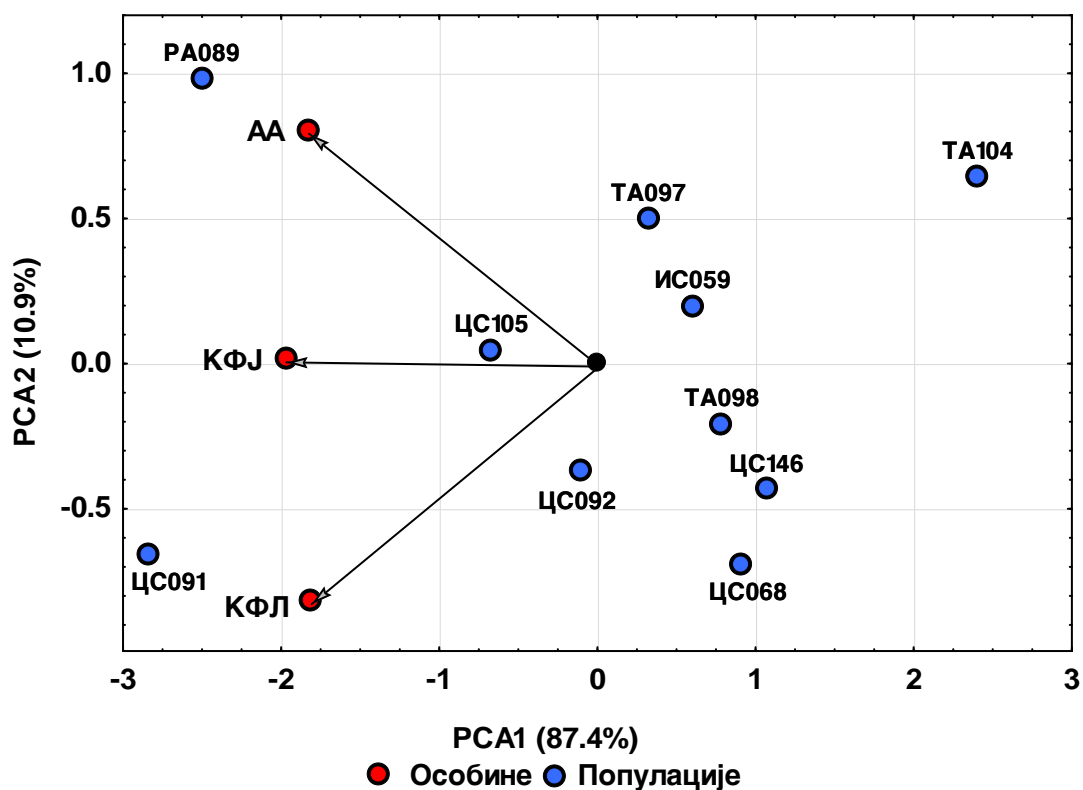
Најјача антиоксидативна активност јавила се у узорку из популације РА089 (179 $\mu\text{g/ml}$), док је унутар популације ЦС068 забележена најслабија активност (425 $\mu\text{g/ml}$).

Табела 89. Антиоксидативна активност (IC₅₀ вредности изражене у µg/ml), количина фенолних једињења (mg GA/g екстракта) и количина флаваноида (mg Ru/g екстракта) 10 популација врсте *Trifolium montanum*.

Популација	антиоксидативна активност (µg/ml) ^a	количина фенолних једињења (mg GA/g)	количина флаваноида (mg Ru/g)
ИС059	343	69.2	88.0
РА089	179	85.4	116.0
ТА097	291	68.6	89.2
ТА098	377	65.2	94.1
ТА104	401	50.7	67.5
ЦС 068	425	61.8	101.8
ЦС091	221	88.7	141.6
ЦС092	313	68.6	108.6
ЦС105	278	77.0	104.9
ЦС146	421	61.9	95.2
просек	325	69.7	100.7

^a антиоксидативна активност је утолико јача уколико је њена измерена вредност мања.

Подаци из табеле 89 анализирани су методом главних компоненти (РСА). Добијени резултати представљени су на графикону 65 уз помоћ прве две осе. Процент варијабилности података приказан на овај начин износи 98.8%, при чему на прву осу одлази 87.4% а на другу 10.9%. Популације на десној страни имају низак садржај фенола и флавоноида док се на левој страни издваја популација РА089 са јаком антиоксидативном активношћу као и ЦС091 са високим садржајем флавоноида. Популације ЦС105 и ЦС092 имају нешто виши садржај фенола и флавоноида у поређењу са популацијама на десној страни графикана. У целини, врста се не одликује значајном количином једињења фенолне групе (укупни феноли и флавоноиди), и са тим повезаном антиоксидативном активношћу, која није посебно изражена.



Графикон 65. PCA анализа секундарних метаболита 10 популација врсте *Trifolium montanum* (AA – антиоксидативна активност, КФЈ – концентрација фенолних једињења, КФЛ – концентрација флаваноида).

4.5.4.1. Изофлавонони (фитоестрогени)

У табели 90 приказане су вредности четири групе изофлавонона у цвасти, листу и стабљници различитих популација врсте *T. montanum*.

Даидзеин у цвасти је измерен у три од пет популација. Садржај генистеина је био испод лимита детекције у свим узорцима. Формонетин је само у једном узорку био испод лимита, док се у осталим вредност кретала од 0.0208 mg/g (ЦС146) до 0.07 mg/g (ЦС068). Биоханин А је измерен у свим узорцима и то је био изофлавонон са највећом концентрацијом у цветовима, која се кретала од 0.0349 mg/g (ЦС146) до 0.2515 mg/g (ЦС068). Највиши укупан садржај изофлавонона у цвасти имала је популација ЦС068.

Количина даидзеина и формонетина у листу је била испод лимита детекције у свим узорцима. Генистеин је измерен само у популацији ТА108, док је биоханин А у две популације био изнад лимита детекције. Са 0.4509 mg/g укупног садржаја изофлавонона издваја се популација ТА108.

У стаблу ни једна група изофлавона није измерена у популацијама ЦС068, ЦС091 и ЦС146. У популацији РА100 било је само биоханина А, док су код популације ТА108 даидзеин и генистеин констатовани у ниском садржају.

Табела 90. Садржај четири групе изофлавона у цветовима, листовима и стабљикама популација врсте *T. montanum*.

популација	део биљке	даидзеин	генистеин	формононе тин	биоханин А	укупно
	РА100	0	0	0.0407	0.0682	0.1088
	ТА 108	0.0450	0	0.0524	0.0742	0.1716
цваст	ЦС 068	0	0	0.0700	0.2515	0.3214
	ЦС091	0	0	0	0.1552	0.1552
	ЦС146	0.0692	0	0.0208	0.0349	0.1249

	РА100	0	0	0	0	0
	ТА 108	0	0.0238	0	0.2131	0.4509
лист	ЦС 068	0	0	0	0	0
	ЦС091	0	0	0	0.2097	0.2097
	ЦС146	0	0	0	0	0

	РА100	0	0	0	0.1740	0.1740
	ТА 108	0.0265	0.0115	0	0	0.1417
стабло	ЦС 068	0	0	0	0	0
	ЦС091	0	0	0	0	0
	ЦС146		0	0	0	0

Како је садржај изофлавона испод лимита детекције код већине популација није било сврхе радити РСА анализу.

5. Дискусија

Коришћењем морфолошких параметара, параметара хемијског састава суве материје, анатомских карактеристика листа, садржаја секундарних метаболита, као и степена антиоксидативне активности описано је 38 самониклих популација из пет врста рода *Trifolium*. Узимајући у обзир чињеницу да су врсте овог рода вековима у употреби као квалитетна крмна храна (Taylor, 1985) и извор лековитих материја (Sabudak и Guler, 2009) оправдано је и даље вршити анализу самониклих популација ових врста. Руководећи се захтевима оплемењивачких потреба, циљ је био да се издвоје најперспективније популације које би ушле у друге истраживачке програме.

5.1. Морфолошки параметри

Праћење морфолошких особина које се сврставају у основне агрономске особине, представља почетак проучавања сваког биљног материјала или како наводе Smith и Smith (1989) први корак у опису и класификацији генетичких ресурса. Упркос чињеници да се последњих деценија све интензивније користе и маркери друге природе (изоензими, генетски), морфолошке особине су готово неизоставне у већини истраживања (Kongkiatngam et al., 1995; Dias et al., 2008). Прва истраживања колекционисаног материјала су вршена у пољским условима и то су углавном биле локалне гајене популације које су се развијале на фармама, у изолованим срединама (Taylor, 1985). Како наводе Taylor и Quesenberry (1996) током 1928. године сакупљене су локалне гајене популације црвене детелине, тај материјал је затим испитиван готово без прекида 40 година и био је замајац активног процеса оплемењивања и добијања сорти у Сједињеним Државама. У другим деловима света, на жалост, начињен је мали број колекција локалних гајених популација црвене детелине (Bingefors и Akerberg, 1961). Почетком XX-ог века интензивно крећу оплемењивачки програми и на белој детелини широм света:

Нови Зеланд (Williams et al., 2007), Аустралија (Lane et al., 1997) Сједињене Државе (Taylor, 2008), Енглеска (Abberton и Marshall, 2010). Од краја осамдесетих сакупљање и испитивање различитог биљног материјала рода *Trifolium* из природе врши се и у Србији. Велики број истраживања у нас је до сада спроведен на црвеној (Lugić i sar., 2007; Vasiljević et al., 2011;) као и на белој детелини (Lugić et al., 1998). Активности овог типа настављене су до данас; њихов значај огледа се у конзервацији ресурса као и задовољавању потреба текућих али и будућих оплемењивачких програма. Акцент у овим истраживањима дат је самониклим популацијама, мада су у свету пронађени генотипови на пољопривредним газдинствима (*on farm* узгајање), код којих је одабиром током времена дошло до развоја појединих особина, што значајно скраћује процес селекције те карактеристике. Abberton и Warren (2006) описују један такав случај где су сакупљене популације беле детелине са газдинстава Пољске довела до развоја линија са повећаном количином фосфора.

У овом истраживању на самониклим популацијама вршило се праћење следећих морфолошких параметра: принос зелене масе и суве материје, висина биљака, број изданака, број интернодија, број бочних грана, дужина и ширина листа, број цвасти и пречник бокора. Показало се да унутар сваке врсте, међу испитиваним популацијама, као и што је очекивано, између различитих врста, постоје статистички значајне разлике за већину посматраних морфолошких особина.

Принос зелене и суве материје из првог откоса

Принос биомасе је један од најбитнијих показатеља агрономске вредности испитиваних популација. На основу двогодишњих резултата, уочене су значајне разлике, које представљају својство саме врсте. Краткотрајније врсте као што су црвена и шведска детелина (дужина живота и експлоатације 2-3 године) имале су најбољи принос у првој години искоришћавања (2010. година) што је у сагласности са резултатима испитивања самониклог материјала у истраживању Lugić et al. (2009). У 2011. години јавио се статистички значајан пад приноса код обе врсте, што је резултат саме биологије врсте. Изражено у процентима смањење приноса код црвене детелине износи 58.34%, док је код шведске детелине забележен пад од преко 50%.

Најнижи приноси биомасе су измерени код популација *T. montanum*. Просечна промена зелене масе свих популација у 2012. години износи 5.48%, и није статистички значајна. Животни век ове врсте је и преко пет година, тако да нема брзих промена у маси јединки.

Последње две проучаване врсте: *T. repens* и *T. rannonicum* одликују се повећањем зелене масе у праћеном периоду. Обе врсте су вишегодишње и свој максимални развој постижу у каснијим годинама искоришћавања. Код свих популација беле детелине дошло је до повећања приноса, (врста која је у пољским условима много дуговечнија од црвене или шведске детелине), при чему је код три од пет анализираних генотипова повећање статистички значајно - РА089, ТА089 и ФГ025.

Ипак, промена приноса је убедљиво најизраженија код *T. rannonicum*. Просечно повећање за две године износи 292% и код свих популација је статистички значајно. Дуготрајност, добар принос у првом откосу и подношење неповољних услова средине допринели су употреби ове врсте као извора сточног хранива у Анадолији вековима уназад (Oleszek и Stochmal, 2002).

Судећи по вредностима коефицијента варијације (КВ) једна од најваријабилнијих особина је принос биомасе. Код свих врста, распон вредности коефицијента варијације се шири из године у годину што значи да се јединке унутар популација међусобно више разликују него у претходној сезони (део јединки пропада док поједине јако повећавају масу). Код црвене детелине распон КВ у 2010. години се кретао од 23%–58%; а у 2011. од 52%–73% док је на пример код *T. rannonicum* забележена вредност КВ у првој години од 42%–55% и у другој години од 43%–75%. Овако велика варирања добио је и Aşci (2011) радећи на узорку од 47 популација црвене детелине. У раду Paplauskienė и Dabkevičiienė (2012) истичу да је принос зелене масе такође врло варијабилна особина, али како су у питању сорте шведске детелине а не самоникле популације, вредности КВ су нешто ниже од овде наведених. Коефицијент варијације је показатељ ширине генске основе, и високе вредности код самониклих популација су предуслов укључивања истих у неки селекциони програм.

Унутар сваке врсте могуће је издвојити појединачне популације које би могле бити укључене у програм оплемењивања. Популације црвене детелине са подручја западне Србије (РА100 и ТА097), иако ниског приноса, боље су поднеле неповољне услове средине које су у 2010. и 2011. владале у пољу (поплава током лета и ниске температуре праћене мразом током зиме), што позитивно утиче на њихову пољску перзистенцију. Код њих постоји могућност да се процесом рекурентне фенотипске селекције током већег броја циклуса повећа принос и на тај начин добије сорта прилагођена овдашњим агроколошким условима. Укупан принос током две године код популација западне Србије је нижи у поређењу са укупним приносом популација из источне Србије (ИС077, ИС042, ИС043) међу којима треба тражити јединке код којих би се процесом селекције усталио висок принос током 2-3 године искоришћавања и избегао драстичан пад приноса. Популације које имају најнижи принос у првој години жетве имају и највиши коефицијент варијације. Код популација из централне Србије углавном је утврђен нижи принос у поређењу са остатком анализираних популација, што би могло да се припише прилагођености на планински климат (одакле потичу).

Популације *T. hybridum* прикупљене у Источној Србији су оствариле најбоље резултате у обе године. Значајно приносније су биле популације ИС037 и ИС077, које су оствариле високе приносе у обе године испитивања. Забележена је и висока варијабилност појединачних биљака у популацијама, што се и очекивало, имајући у виду да се ради о природним популацијама, којима висока унутар популацијска варијабилност омогућује успешан опстанак на различитим стаништима

Интересантно је да и код црвене и код шведске детелине популације са најнижим просечним вредностима масе, најбоље подносе неповољне промене спољашњих фактора, што се испољава кроз статистички незначајну промену приноса (зелене масе) и смањење КВ. Ово је пример стабилизирајуће селекције која се одвија без утицаја човека. Популације које добро подносе ниске температуре у зимском периоду су показале и задовољавајућу отпорност на сушу (Guo, 2003). Како су отпорност на сушу и ниске температуре позитивно

корелисане особине (Blönder et al., 2005), селекција на једно својство истовремено би пратила и другу особину.

Црвена и бела детелина су економски најзначајнији представници рода, тако да се код њих поред компоненти приноса крме интензивно проучавају перзистентност и регенерациони механизми при чему се и саме врсте међусобно пореде (Brummer и Moore, 2000). Нагласак је стављен на перзистентност, као значајну особину у оплемењивању ових легуминоза (Abberton и Marshall, 2005; Taylor, 2008). У овом истраживању бела детелина је показала бољи степен преживљавања пољских услова од црвене детелине. У периоду након првог откоса 2010. године, огледна површина је била захваћена интензивним падавинама што је условило да се данима задржи вода у површинском слоју земљишта. Овакви услови су довели до пропадања црвене детелине у много већој мери од беле детелине, за коју је познато да много боље подноси плављење (Вучковић, 2004).

Испитиване популације беле детелине су оствариле знатно више приносе у другој години истраживања, а остварене разлике у приносу између популација су биле статистички значајне. Најбоље резултате у обе године истраживања је остварила популација ТА089 (616 g) и ФГ025 (568 g), док је једина популација из Централне Србије (ЦС122) остварила најлошије приносе у обе године. Имајући у виду да је принос једна од најважнијих агрономских особина, за даљи процес селекције су интересантне најприносније популације, али висока варијабилност унутар популација указује да и остале популације имају добар генетски потенцијал за даља проучавања.

Слично белој детелини, *T. rannonicum* је биљна врста која се одликује дуговечношћу и постепеним повећањем хабитуса, па свој максимум остварује у каснијим годинама живота. Сходно овој чињеници, све испитиване популације су оствариле знатно више приносе у другој години истраживања. Значајно више приносе су оствариле популације из Централне Србије, ЦС146 и ЦС119. Поред разлика између популација забележена су и висока интра-популацијска варирања (КВ 42-68%), што указује на широку генетску основу испитиваног материјала. Материјал који је уједначен, са вишим просечним вредностима и мањим КВ је погоднији за унутарпопулацијску селекцију и добијање сорти директним путем из таквих популација (Petrović et al., 2014; Babić, 2015).

Популације *T. montanum* су оствариле најниже приносе биомасе, што се могло и очекивати, јер је њихово природно станиште потпуно другачије од услова у којима су испитиване. Забележене разлике у приносу испитиваних популација су биле статистички значајне. Најбоље резултате су оствариле популације РА089 (85.8 g) и популација из источне Србије ИС059 (65.6 g), и оне могу бити интересантан почетни селекциони материјал оплемењиваље ове врсте за гајење у неким суровијим климатским условима (Dear, 1982), где ова врста има посебан значај. Нешто ниже, али уједначене приносе у обе године истраживања су оствариле популације из централне Србије. Варијабилност појединачних биљака у оквиру популација је била висока код свих популација.

Праћењем приноса пет врста и великог броја популација рода *Trifolium* закључује се да је испитивани материјал високо варијабилан и погодан за стварање сорти прилагођених овим агроколошким услова. Високу варијабилност су утврдили Annicchiarico и Pagnotta (2012) испитујући колекцију од 13 дивљих екотипова, 4 локалне гајене популације и две сорте црвене детелине праћењем приноса и морфофизиолошких особина. Закључено је да анализирани материјал може да послужи за добијање сорти прилагођених Медитеранским климатским условима.

Висина биљака

Зелена маса и висина су високо позитивно корелисане особине, што је приказано преко парцијалног коефицијента корелације код свих анализираних врста. Промена висине и усмерена селекција ове особине самим тим утицаће на промену приноса. Испитиване врсте су показале знатно мању варијабилност појединачних биљака унутар популација за ову особину.

У пракси један од најпознатијих и најуспешнијих примера повећања дужине стабљике је извршен током 80-их година код сорте црвене детелине Кенстар, код које је дужина стабљике повећана за чак 20 cm (Bowley et al., 1984), са 53 на 73 cm. Како наводе Taylor и Quesenberry (1996) дужина стабљике може у фази пуног развоја биљке да се креће и до 80 cm код црвене детелине. У двогодишњем периоду све популације црвене детелине су имале просечну висину од 54.83 cm што је нешто боља вредност од оне коју су добили Tusak et

al. (2009) – 53.98 cm, испитујући колекцију састављену од сорти и популација. Добијене вредности се крећу у опсегу које су добили и Popović i sar. (2007) изучавајући колекцију од 16 генотипова црвене детелине. Радећи на дивљем материјалу Greene et al. (2004) су забележили просечну висину 33 дивље популације од 26.5 cm што је нижа вредност од овде приказане. Нешто боље резултате су добили Lugić et al. (2010), као и Gatarić et al. (2002) што је и очекивано јер се у нашем истраживању ради о самониклом материјалу.

Код црвене детелине популације имају знатно нижи коефицијент варијације за висину, него када је у питању зелена маса биљке. Током прве године, КВ се кретао од 7% до 24%, док су у 2011. његове вредности порасле код свих популација изузев популације РА100. Популације црвене детелине са највиших надморских висина као што су РА100 (око 1000 m н. в.), РА123 (приближно 1230 m н. в.) и ЦС118 (1180 m н. в.) имале су најнижу просечну висину што је у складу са резултатима које су добиле Bekuzarova и Belyayeva, (2014). Поменути аутори наводе да се нижа висина детелина јавља услед прилагођености на штедљивије усвајање хранљивих материја и воде из земљишта. Такође оне припадају биоценозама које су у највећој мери прилагођене наглom паду температуре, специфичним условима влажности, дејству ултра-љубичастог зрачења и оштећења услед испаше.

Код шведске детелине просечне вредности висине (дужине изданака) су више него код црвене (како у првој, тако и у другој години). Просечно висина код шведске детелине за две године је мање опала него код црвене. Смањење код црвене износи 25 cm (35%), а код шведске 17 cm (23%). Популација шведске детелине које су оствариле високе приносе ИС037 и ИС077, су у исто време имале и највишље биљке. У првој години испитивања популација шведске детелине, КВ узима вредности од 15-24%, док се у другој години тај распон шири и износи од 11% до 32%.

За разлику од претходно поменутих врста, код *T. montanum* у другој години искоришћавања (2012) долази до пораста просечних вредности висине код свих популација. Популација која је имала највишље биљке (ИС059) је уједно и најприноснија популација, што потврђује високу повезаност ове две особине. Коефицијент варијације је имао сличне вредности као и код других врста. У првој години убирања КВ се креће од 12-18%, а у другој 8-26%.

Разлике у висини забележене између популација *T. rannonicum* су биле врло мале. Година испитивања није показала значајан утицај на ову особину, па су у обе године биљке постигле сличну висину.

Висина беле детелине није у тако јакој корелацији са приносом, као што је то случај са осталим испитиваним врстама рода *Trifolium*. У другој години живота бела детелина развија полуполегла стабла која се шире и заузимају све већи простор, па висина биљака не игра важну улогу у каснијим годинама искоришћавања. Сходно томе, разлике између популација су биле нешто веће у првој години, док су у другој години биле занемарљиве.

Краткоживеће врсте као што су црвена и шведска детелина имају пад вредности висине у двогодишњем периоду, док код *T. montanum* и *T. rannonicum* утицај године није изражен, па се висина биљака ових врста није значајно мењала.

У раду Ates (2011) једина врста која је имала већу висину од шведске детелине је *Trifolium medium*. Просечна висина популација шведске детелине, за две године износи 66.15 cm док се у раду Paplauskiene и Dabkevičienė (2012) вредности за сорте крећу од 56.2 до 66.2 m.

Висина румунских генотипова *T. rannonicum* (Szabo, 1987) кретала се у просеку 80.3 cm што је знатно више од приказаних вредности у нашем истраживању (46.3 cm), које су пак у сагласности са резултатима које су добили Lugić et al. (2005).

Број изданака

Ово је још једна особина, код које су вредности КВ високе. Поред зелене масе ово је најваријабилнија особина. Такође је статистички високо позитивно корелисана са масом, па се рад на повећању броја изданака директно одражава на принос.

Просечне приказане вредности броја изданака црвене детелине (Табела 11) су ниже од оних добијених у радовима Drobná (2009) и Aşci (2011) а крећу се у сличном опсегу који је добијен у раду Rosso и Pagano (2005). Током двогодишњег праћења популација, просечан број изданака износио је 28.86 док је у раду Gatarić et al. (2002) за све генотипове добијено више од 50 изданака. У

раду Tomić et al. (2014) праћена је промена броја изданака код сорти црвене детелине под утицајем фолијарних препарата који садрже метале у себи. Промена је уочена код сорте К-17, где је дошло до статистички значајног увећања броја изданака под утицајем кобалта.

Још давне 1968. Taylor је закључио да опадање броја изданака као и укупног приноса представља велики проблем код црвене детелине који води огромним трошковима. На жалост, ни данашње сорте често нису постојаније од 2-3 године. Изналажење одговарајућег генетског материјала којим би се побољшале ове особине представљао би прави успех. Две популације црвене детелине се издвајају по формирању великог броја изданака у другој години (РА100 и ТА097). Оне би могле бити погодне за формирање сорти као и убацивање у природне травне екосистеме, при чему би се пратила конкуренција са другим врстама (Bekuzarova, 2015). Ове популације (ТА097 и РА100) потичу са висина од око 1000 метара. Како истиче Bekuzarova (2015) детелине са високопланинских травњака су конкуритивно јаке у својој средини и доносе велики број изданака и листова.

За шведску детелину као и за црвену, карактеристичан је пад броја изданака у другој години. Популација ИС077 је у обе године имала највећи број изданака. КВ такође има широк распон што је наведено и код црвене детелине. Добијене вредности су у складу са резултатима приказаним у радовима Ates (2011) као и Raplauskiene и Dabkevičiene (2012).

T. montanum - број изданака опада код свих популација, а КВ расте у другој години искоришћавања код већег броја генотипова. Просечна вредност коју су Vilčinskas и Dabkevičiene (2010) добили за двогодишњи период износи 5.1 изданак по биљци док просек за 2011. и 2012., из табеле 81 износи 6.1.

T. rannonicum – код свих популација расте број изданака у другој години искоришћавања крме, при чему је тај пораст статистички значајан. Просечна промена код свих генотипова је 293%. Генотип који би могао да се издвоји јесте ЦС146, његове вредности су највише и у 2010. као и у 2011. години, док је вредност КВ најнижа. То је свакако најуспешнији популација (посматрајући овај параметар) свих анализираних врста. Добијене вредности су у складу са резултатима које су добили Lugić et al. (2005) као и Szabo (1987). За

разлику од просечне вредности која је наведена у раду Vilčinskas и Dabkevičiene (2010) од 16.4 изданка, просек за две године из (Табела 60) износи 28.55 изданака.

Број интернодија

Истраживањем је показано да је број интернодија, параметар који се током времена веома мало мења код свих посматраних врста.

Код црвене детелине у другој години искоришћавања број интернодија је опао код 4, а порастао код осталих 6 популација, при чему су промене статистички значајне код 4 популације. Само код популације ТА097 проценат се повећао за 26%, а то је једна од ретких популација црвене детелине код које је и принос зелене масе такође имао позитиван помак у двогодишњем периоду. Код шведске детелине, изузев код једне популације (најлошије у 2010.), опада број интернодија у 2011. години. Код врсте *T. montanum* нема статистички значајних промена у броју интернодија. Могу се истаћи само популације ИС059 са 15% и ЦС092 са 12% повећања.

T. rannonicum – код 4 популације постоји позитивна а код 2 негативна промена броја интернодија. Али само код једне је статистички значајна промена, присутан је пад од 17% (ЦС091).

Коефицијент варијације за ову особину има ниске вредности код свих врста, самим тим наследна основа за ову особину је узана, па се не могу у процесу селекције очекивати значајни помаци. Потврду ове констатације представља оплемењивање сорте Кенстар, чија висина је повећана за 20 cm, а број интернодија врло мало, са 8 на 8.5 (Bowley et al., 1984).

Праћење броја интернодија вршено је на узорцима црвене детелине у раду Primorac et al. (2007). У раду Muntean (2006) испитиване су тетраплоидне сорте црвене детелине, закључено је да касностаснији генотипови углавном имају већи број сегмената, а вредности се крећу од 2.57 до 6.50 што је у сагласности са добијеним резултатима (Табела 12).

Број бочних грана

Код црвене, шведске детелине и *T. rannonicum*-а долази до пада у броју бочних грана док се код *T. montanum*-а јавља благи пораст у другој години испитивања материјала. Вредности КВ углавном остају сличне током две године унутар врсте, изузев мањих померања граничних вредности. Највише вредности КВ присутне су код црвене детелине. Могу се истаћи две од 10 популација (ТА097 и ТА055) са позитивним трендом у гранању. Код шведске детелине најбоље вредности имала је ИС037. За *T. montanum* карактеристичне су две популације са статистички значајном позитивном променом - ИС059 и ЦС092. У радовима Snops et al. (2010), Van Minnebruggen et al. (2012), Van Minnebruggen et al. (2014) уочен је висок диверзитет гранања између узорака црвене детелине. Генотипови се међусобно разликују по броју бочних грана првог или другог реда. Издвојени су генотипови који се више гранају. Са овим потенцијалом производња би била свакако успешнија.

Дужина листа

Током две године праћења овог параметра код црвене и шведске детелине долази до пада у дужини листа док се код остале три врсте та вредност повећава. Код свих популација црвене детелине смањење дужине листа је статистички значајно, док је код шведске детелине то случај само са једном популацијом. Док су промене код *T. rannonicum* и *T. montanum* статистички значајне код беле детелине то је веома мала промена. Просечне вредности за белу детелину су у сагласности са резултатима које су добили Aasmo-Fine et al. (2000), док су вредности за шведску детелину нешто ниже од оних које су приказане у раду Ates (2011). У раду Collins et al. (1998) наведени су резултати добијени након двогодишњег периода селекције једне самоникле популације беле детелине. Остварена вредност износи 1.93 cm док је у овом истраживању просечно за две године (за све популације) добијено 2.02 cm. Рад Јаћуфер et al. (1997) представља веома обимно истраживање 439 узорака беле детелине, а једна од праћених особина је и дужина листа која је имала утицаја на раздвајање узорака. Дужина листа је током друге године (2011) имала утицај на раздвајање популација (Графикон 36).

У раду Oliveira et al. (2013) током двогодишњег периода праћено је 15 самониклих популација и две сорте беле детелине при чему је дужина листа ових узорака варирала од 0.7 cm до 3.6 cm. Највиша вредност припада сорти, тако да добијене вредности у овом раду јесу у сагласности са спроведеним истраживањем поменутих аутора. Ситнолиснији генотипови беле детелине како наводе Caradus et al. (1990) су отпорнији на неповољне услове средине.

Истраживање (Szabo, 1987) спроведено на самониклим популацијама *T. rannonicum* пореклом са територије Румуније, показало је да просечна дужина средње лиске тролиска износи 4.8 cm што је мало виша вредност од приказаног просека у нашем истраживању – 4.115 cm.

Коефицијент варијације се врло мало мења унутар популација са временом тако да се може рећи да ова особина не одступа пуно међу јединкама унутар популације.

Ширина листа

Ширина листа је параметар који се током времена врло мало мења и те промене углавном нису статистички значајне. Код црвене детелине се дешава благ пад просечне вредности за две године док код осталих врста или расте или је то једнака, непромењена вредност, као код *T. rannonicum*. КВ се такође незнатно мења и такође одступања међу јединкама су минимална. Фактори средине имају минималан утицај на ову особину.

У раду Collins (1998) као и Ates (2011) на белој детелини, добијене су нешто више вредности од овде приказане. У раду Oliveira et al. (2013) ширина листа се кретала од 0.6 до 2.9 cm, док је у истраживању Finne et al. (2000) тај опсег вредности износио: 0.7-5.18 cm што је у сагласности са добијеним резултатима.

Просечна вредности ширине листа самониклих популација *T. rannonicum* које су добијене у раду Szabo (1987) износи 1.24 cm што је нешто ниже од добијених (1.56 cm).

Пречник бокора (*Trifolium repens*)

Пречник бокора је особина праћена само код беле детелине због специфичног хабитуса врсте. Како корен опстаје две године, биљка преживљава

током времена и шири се у простору столонима. Брзина ширења бокора може се посматрати као својство одређеног генотипа. То се може искористити за припрему травно-легуминозних смеша, где ће бела детелина продужити век искоришћавања смеше и заменити краткотрајне легуминозе. Просечне вредности бокора беле детелине крећу се од 49.9 до 64.6 cm што је у сагласности са резултатима Vilčinskas и Dabkevičiene (2009) – 53.9 cm. Популација са најбољом вредношћу је ФГ025. Иста популација се карактерише и добрим вредностима зелене масе и ширине листа.

Корелације морфолошких особина

Корелације омогућавају елиминисање неупотребљивог биолошког материјала чак и на врло раним стадијумима, а са друге стране избор корисних генотипова је бржи и прецизнији (Muntean, 2002). Сврха корелација је наћи јачину везе између важних особина што представља помоћу у добијању високо продуктивних сорти (Muntean и Savatti, 2003).

Изучавање корелација између биолошких особина као и великог броја фактора који на њих утичу се у последње време је доста добило на значају, посебно на примеру црвене детелине (Muntean и Savatti, 2003). У раду Rosso и Pagano, (2005) највиши степен корелације добијен је између дужине и ширине листа, док је број изданака негативно корелисан са параметрима листа што је у сагласности са добијеним резултатима у овом раду.

У раду Aşci (2011) истраживања на црвеној детелини су показала високу позитивну статистички значајну корелацију висине и приноса као и броја изданака и приноса.

Поред тога, у раду Pelikán et al. (2005) праћене су особине црвене детелине, као што су ширина и дужина листа које су позитивно корелисане међусобно, а позитивно су корелисане и са масом биљке. Истоветни резултати су добијени и у овом истраживању.

Када је у питању шведска детелина постоји више статистички значајних корелација, при чему као и код црвене детелине најснажније позитивне корелације су између броја интернодија и броја бочних грана, масе и броја изданака, масе и висине као и дужине и ширине листа.

Занимљиво је да је број статистички значајних корелација између морфолошких особина *T. rannonicum* значајно нижи у поређењу са претходне две врсте. Оно што је једнако као код црвене и шведске детелине, јесте да су високо корелисане особине које се посматрају као компоненте приноса, зелена маса и број изданака. Занимљиво је да је нижи степен корелације између ширине и дужине листа него код црвене и шведске детелине јер се лист *T. rannonicum* издужује током времена док му се ширина готово не мења.

Код врсте *T. montanum* најјаче позитивне корелације су исте као код претходних врста.

Анализа морфолошких особине применом мултиваријационих анализа

Мултиваријациона анализа се користи када се у експерименту прати већи број параметара (особина) (Yoshida et al., 2001). Њеном применом дошло се до закључка да постоји разлика у утицају мерених особина на раздвајање популација, што показује параметар - Wilk's Λ . Код црвене детелине и *T. rannonicum* вредности Wilk's Λ у 2011. години су више него у 2010. док код шведске детелине и *T. montanum* случај је обрнатан, Wilk's Λ у 2011. је нижи него у 2010. години. Нижа вредност говори да већи број особина утиче на раздвајање популација.

Поред МАНОВА-е примењена је и дискриминантна анализа која објашњава које квантитативне варијабле најбоље врше раздвајање између две или више група (Cramer, 2003). Захваљујући њој утврђен је степен утицаја сваке особине на статистички значајно раздвајање популација у оквиру врсте. Применом F теста израчунат је параметар - Wilk's Λ , чија вредност најбоље описује битност наведених карактеристика. За разлику од већ поменутог тумачења овог параметра, овде је то обрнуто. Наиме виша вредност Wilk's Λ за појединачну особину говори да та особина снажније раздваја популације. У првој години прикупљања података, зелена маса и висина код свих врста имају најизраженији утицај на раздвајање. Током 2011. ширина и дужина листа су особине са највећом моћи дискриминације код свих врста. Значај ове две особине за раздвајање популација проистиче из њихове ниске корелисаности са осталим параметрима. Зелена маса, висина, број изданака, број интернодија и

број бочних грана су јако међусобно корелисане, те се варијабилност коју носи свака од ових особина у великој мери може објаснити варијабилношћу остале 4 особине, тако да и поред тога што постоје велике разлике између популација у овим особинама, свака од њих понаособ не доприноси раздвајању популација у очекиваној мери. Ово тумачење се поткрепљује и високом редувантношћу наведених особина.

Видови дискриминантне анализе примењени су у радовима Herrmann et al. (2006) на сортама и локалним гајеним популацијама црвене детелине, као и у раду Zielinska et al. (2012) на семену црвене детелине. Овај вид анализе није био често примењиван на легуминозама.

Анализа морфолошких особина применом методе главне компоненте

Метода главне компоненте као једна од мултиваријационих метода у широкој је употреби приликом обраде и тумачења морфолошких података (Başaran et al., 2011, Oliveira et al., 2013, Lacis et al., 2009, Rosso и Pagano, 2005).

Ова метода примењена на популацијама посматраних врста, при чему су на истом графикону приказане обе године истраживања, што је довело до груписања популација у складу са највишим вредностима посматраних особина. На овај начин се лако уочавају битне разлике између популација у свакој од посматраних година али се такође уочавају и промене које код сваке појединачне популације наступају у другој години.

Код црвене детелене је приметан пад свих морфолошких параметара у другој години. Црвена детелина је иначе позната и под именом – двогодка што је и животни век саме врсте - две до три године. Исти тип анализе примењен је и на румунским популацијама црвене детелине, што је допринело да се особине раздвоје по значајности, а сорте да се разврстају у већи број кластера (Drobná, 2009). Кратак животни век условљен је и брзим исцрпљивањем минералних резерви из подлоге (Frame et al., 1998). Слично црвеној и шведска детелина пропада у 2011., што је такође илустровано померањем већине популација са десне на леву страну графикана.

Насупрот црвеној и шведској детелини, код врста *T. repens*, *T. rannonicum* и *T. montanum* посматане особине не бележе исти тренд са протоком времена. У случају *T. repens* све особине, осим висине у другој години (2011), бележе раст. У случају *T. rannonicum* број бочних грана се смањује, број интернодија и ширина листа остају релативно исти, док се зелена маса, висина, број изданака и дужина листа значајно повећавају. Код врсте *T. montanum* значајан раст се уочава код дужине листа, ширине листа и висине док се број изданака у другој посматраној години смањује.

Захваљујући овој методи код сваке врсте могу се истаћи популације са задовољавајућим просечним морфометријским вредностима за улазак у оплемењивачке програме. Код црвене детелине: ТА097 и РА100 са позитивним трендом у порасту зелене масе и броја изданака. Код беле детелине: ФГ020, ФГ025 и ТА089, код којих је позитивну промену претрпела зелена маса, ширина и дужина листа. Популације које се издвајају код шведске детелине су ИС037 и ИС077. Код *T. rannonicum*-а истичу се популације ЦС146 и ЦС119. Код *T. montanum*-а по свом положају на графикону и позитивном тренду у промени зелене масе, дужини листа и бр. бочних грана истичу се РА089, ЦС092, ЦС091 и ИС059.

5.2. Параметри анатомских карактеристика листа

Један од циљева оплемењивачких програма је повећати лисну површину крмних врста (Taylor и Quesenberry, 1996) како би се повећао принос али и укупна сварљивост коришћене масе. Лист као биљни орган садржи најнижи проценат лигнификованих влакана, па се тако и његов квалитет спорије мења у поређењу са стаблом, док му је сварљивост висока током целог животног циклуса биљке (Guines et al., 2003).

Иако је са аспекта исхране лист веома значајан биљни орган, посвећена му је пажња готово искључиво у процесу анализе квалитета, који се описује уз помоћ примарних метаболита. Веома је мали број истраживања

којима се прати структура листа детелина: ткива, проводни елементи, жлездане структуре... који такође говоре о хранљивој вредности.

Као што наводи Zorić (2008) нема значајних разлика у општој грађи листа међу праћеним врстама. Дебљина појединих слојева (а превасходно палисадног ткива) мења се под утицајем фактора средине. Екстремнији услови попут интензивнијег зрачења или јачих ветрова доводе до развоја дебљег палисадног ткива, односно долази до задебљавања зидова ових ћелија. Таква правилност уочена је код црвене детелине, где популација са највише надморске висине PA123 има најдебљи палисадни слој (81.59 μm). При јако неповољним временским условима долази до промене односа палисадног и сунђерастог ткива, и што су биљке отпорније однос је виши (Fahn и Cutler, 1992).

У прилог тврдњи да се под утицајем фактора средине мења дебљина лисних слојева иде и истраживање Gostin, (2009) где је испитиван утицај загађивача из ваздуха на анатомију листа неколико *Fabaceae* врста (*Trifolium pratense*, *T. montanum*, *T. repens* и *Lotus corniculatus*). Под утицајем загађења дебљина зида епидермалних ћелија код беле детелине, жутог звездана и *T. montanum* приметно расте, док се величина истих ћелија смањује код црвене детелине.

Параметар који највише утиче на раздвајање популација унутар врста јесте висина епидермиса лица листа. Једино код *T. montanum* нема значајне разлике ни по једном параметру.

Највећа просечна дебљина листа, као и највећа дебљина појединачних слојева измерена је код *T. rannonicum*. Код свих врста најдебљи слој је сунђерасто ткиво, које се састоји од 3 – 7 слојева ћелија.

5.3. Хемијски параметри

Квалитет суве материје

Стандардним лабораторијским методама из суве материје добијене су вредности садржаја сирових протеина, сирове целулозе, пепела, масти и безазотних екстрактивних материја.

Један од најважнијих параметара квалитета сточне хране су сирови протеини од којих зависи биолошка вредност хране. Висок садржај сирових протеина код легуминоза у поређењу са травама чини их незамењивим животињским хранивом (Marković, 2015).

Највиши принос суве материје дала је врста *T. rannonicum* (27.15%), затим црвена детелина (24.9%), шведска детелина (24.17%) и на крају бела детелина (21.6%). Овакав редослед се уклапа са резултатима које су добили Vilčinskas i Dabkevičienė (2009). Како је *T. rannonicum* врста са најдебљом стабљиком, као и високим уделом стабљика у укупној маси (у поређењу са другим врстама), овако висок принос суве материје је потпуно очекиван.

Упоредном анализом свих мерених параметара, међу испитиваним врстама најбоље вредности су добијене код беле детелине. У просеку садржи 21.96% сирових протеина и ниске вредности сирове целулозе (21.67%). Високе вредности сирових протеина добијене су раду Marshall et al. (2004) – 23.65% као и Lin et al. (2001) – 20.1%, Ignjatović i sar. (2003) – више од 20% суве материје.

Наредна врста која са такође одликује веома добрим садржајем сирових протеина, нарочито ако се узме у обзир да се вредности односе на самоникле популације, јесте шведска детелина. Са просечно 19.55% сирових протеина у сувој материји и 22.81% сирове целулозе, може се рећи да су анализиране популације врло перспективне за даљи процес селекције. У раду Raplauskiene и Dabkevičienė (2012) вршена је анализа четири сорте при чему је количина протеина нижа а целулозе виша од горе наведених. Вредности протеина са крећу од 13.94% до 16.03%; док је количина целулозе од 28.05% до 30.68%.

T. montanum је широко распрострањена врста брдско-планинских предела Србије. Али, иако чест становник ливада, због свог ниског хабитуса и немогућности ширења готово да није истраживана са аспекта сточне хране. Висок садржај протеина који је овде добијен (19.48%) и не тако висок садржај целулозе 27.11% и суве материје, приказују је као пожељну врсту природних травних ценоза. Ови резултати су нешто бољи од резултата добијених у раду Vilčinskas и Dabkevičienė (2010) где се проценат протеина кретао од 13.6% до

16.7%, а проценат целулозе од 23.1% до 32%. Резултати наших истраживања су у сагласности са резултатима Ghanbari и Sahraei (2012), који су у зависности од фазе развића добили вредности за сирове протеине у распону од 16.52 - 20.03%.

Врста која је најлошијег квалитета (посматрајући однос протеина и целулозе), са просечним садржајем сирових протеина од 17.37% и целулозом – 32.36% јесте *T. rannonicum*. Vilčinskas и Dabkevičiene (2010) су добили за исту врсту вредности од 14.9% протеина и 27% целулозе. Иако је ова вредност сирових протеина нижа у поређењу са осталим врстама она је на пример боља од резултата које су Leto et al. (2004) добили поредећи сорте црвене детелине (15.7%).

Садржај протеина добијен у овом истраживању је у просеку био најнижи код црвене детелине - 16.63%, што је лошије у поређењу са просечним вредностима добијеним за *T. rannonicum* - 17.37%. Насупрот садржају протеина садржај целулозе је био знатно нижи - 23.04% код црвене детелине у поређењу са *T. rannonicum*. Знатно боље вредности сирових протеина у првом откосу добили су Drobná и Jančovič (2006) али проучавани материјал се састојао из већ селекционисаних популација код којих је и очекиван бољи квалитет суве материје. У раду Leto et al. (2004) садржај протеина је био нижи упркос чињеници да се ради о сортама црвене детелине. У фази почетка цветања Marković (2015) је добио садржај протеина на диплоидном материјалу црвене детелине (сорта K39) од 15.08% и садржај целулозе од 28%. У поређењу са селекционисаном сортом, самоникли материјал у нашем истраживању је био бољег квалитета.

Повишена количина сировог пепела код већине популација показује да су биљке кошене у раном периоду развоја. Садржај сирових масти је углавном код већине популација био нижи у поређењу са резултатима које је добијено испитивањем сорти црвене детелине у истраживању Marković (2015). Садржај масти се кретао у сличном распону као у истраживању Vasiljević et al. (2011). Значајан извор енергије у биљци су безазотне екстрактивне материје; њихов садржај у великој мери зависи од фазе развића биљке. У просеку највиши садржај је добијен код црвене детелине а најнижи код *T. rannonicum*.

Материјал беле детелине и *T. montanum* је био најједначенији, док су код осталих врста постојале веће разлике између популација по квалитету суве материје.

Популације са најбољим параметрима квалитета су биле у оквиру беле детелине (ТА089 и РА089), док су најлошијег квалитета популације *T. pannonicum* (ЦС105) (посматрано кроз однос протеина и целулозе).

Секундарни метаболити

Секундарни метаболити су производи ћелијског метаболизма који на свим нивоима организације испољавају ефекат. У биљкама је пронађен велики број ових једињења, која учествују у ензимским процесима, ћелијском транспорту, међућелијској комуникацији, омогућавају одвијање физиолошких процеса (затварање стома), алелопатске ефекте... Када се унесу у организам имају вишеструки значај у очувању здравља људи и животиња.

Код легуминоза је утврђено присуство великог броја ових једињења, као што су: флавоноли, сапонини, кловамиди, фенолне киселине (Kolodziejczyk-Czepas, 2012). Међу легуминозним врстама соја је најзначајнији извор биолошки активних материја у превенцији болести жена средњег доба. Поред соје, црвена детелина је веома заступљена врста у фитофармацији. За разлику од соје код које се јављају даидзеин, генистеин и глицитеин, у узорцима црвене детелине пронађено је још најмање 7 изофлавона (Wu et al., 2003). Поред флавоноида (Kicel и Wolbis, 2011), код црвене детелине у листовима и цветовима откривен је већи број фенолних киселина (Kicel и Wolbis, 2006). Њене биолошки активне супстанце користе се у терапији замене хормона (Booth et al., 2006). Поред црвене детелине, у народној медицини од давнина су у употреби бела детелина (Tangpu et al., 2004), *T. pannonicum* (Menković et al., 2011) и *T. alexandrinum* (Khaled et al., 2000).

Терапеутско коришћење врста рода *Trifolium* ограничено је недостатком клиничких доказа, па будућа истраживања треба да усмерити у том правцу (Kolodziejczyk-Czepas, 2012).

Међутим, мали је број истраживања где се паралелно прати већи број врста једног рода, састав метаболита и антиоксидативна активност. Једно

од таквих истраживање обављено је на роду *Teucrium* (Станковић, 2012). Истраживања су рађена и на врстама из фамилије *Rosaceae* (Guerrero et al., 2010), роду *Salix* (Poblocka-Olech et al., 2010), генотиповима јагоде (Tulipani et al., 2008) и др.

На свим испитиваним врстама детелине праћен је садржај укупних фенола, флавоноида и антиоксидативна активност. Изоловање ових једињења вршено је у метанолау који је један од најефикаснијих поларних растварача (Станковић, 2012).

Поред тога што је могуће установити разлике између врста, са фармаколошког аспекта значајне су разлике и између популација (Bergonzi et al., 2001). Проучавањем великог броја узорак исте врсте, са различитих станишта, вероватноћа проналажења најбољег извора биоактивних супстанци се значајно повећава.

Намеће се закључак да је неопходно у даљим истраживањима вршити детаљније анализе биљног материјала, што је предуслов ефикасне примене у клиничким истраживањима.

Поред очигледне разлике која постоји између врста рода *Trifolium* у количини укупних фенола уочавају се специфичности и на субспецијском нивоу. Највећа варијабилност између популација запажа се код *T. pratense* и *T. rannonicum*. Вредности укупних фенола код црвене детелине крећу се од 31.4 mg GA/g (ТА055) до 104.8 mg GA/g (РА100). Просечни садржај укупних фенола популација *T. rannonicum* узима вредности од 53.7 mg GA/g (ЦС119) до 120.1 mg GA/g (ЦС091). Код осталих врста садржај као и распон фенола између популација је знатно нижи. Тако да се вредности код *T. montanum* крећу од 50.7 mg GA/g (ТА104) до 88.7 (ЦС091), код шведске детелине од 46.8 mg GA/g (ИС077) до 69.9 mg GA/g (ИС086). Најнижим вредностима као и најслабијом варијабилношћу одликује се бела детелина, распон просечних вредности њених популација пружа се од 29 mg GA/g (ФГ025) до 43.8 mg GA/g (ЦС122).

У раду Станковић (2012) добијене вредности укупних фенола екстракта целе биљке у метанолском растварачу крећу се од 55.68 mg GA/g код врсте *Teucrium botrys* до 179.24 mg GA/g код врсте *Teucrium scordium* subsp. *scordium*. Врсте рода *Teucrium* јако дуго се користе у народној медицини и

поменута анализа је потврда њихових лековитих својстава. Вредности укупних фенола врста рода *Teucrium* крећу се у сличном опсегу као приказане вредности рода *Trifolium* чиме се отварају могућности даљих анализа и примене детелина у фитофармацији и клиничкој медицини.

Укупна количина фенола у узорку целе биљке не говори о дистрибуцији унутар појединих биљних делова. Рађена су бројна истраживања, код великог броја врста где је показано да је садржај виши у листовима у поређењу са цветовима или стабљиком (Hakkim et al., 2007) или пак у плодовима (Mamphiswana et al., 2010). Различит садржај фенола у биљним органима се јавља због заштите ових структура од негативних биотичких и абиотичких утицаја (Çirak et al., 2011).

Не само да се разликује садржај фенола у биљним деловима већ и врста једињења. Па је тако показано да цветни и лисни делови врсте *Hypericum perforatum* имају различите групе фенола (Radušienė et al., 2004; Kazlauskas и Bagdonaite, 2004).

Пуно пажње у истраживању крмних врста до сада је посвећено промени садржаја примарних метаболита током различитих фенолошких фаза, али одсуствују истраживања која прате промене секундарних метаболита током развоја јединке. Постојање разлике у биљном материјалу током вегетационе сезоне је установљено код лековитих врста *Hypericum triquetrifolium* (Toker, 2009) и *Hypericum montbretii* (Çirak et al., 2008) а како поједине легуминозе „претендују” у сличној намени потребно је и на њима спровести истраживања.

Дистрибуција флавоноида унутар испитиваних врста рода *Trifolium* је веома разнородна. Опсег варирања ове групе једињења је шири од распона у коме се крећу вредности укупних фенола. За *T. rannonicum* особена је највећа разлика у просечним вредностима флавоноида испитиваних популација: од 110.3 mg Ru/g (ИС059) до 351.7 mg Ru/g (ЦС091). Следи *T. montanum* са популацијом од 67.5 mg Ru/g (ТА104) па до 141.6 mg Ru/g што је просек за популацију ЦС091. Унутар материјала црвене детелине такође се налази потенцијално велика варијабилност за ова једињења судећи по распону од 50.3 mg Ru/g (РА100) до 112.4 mg Ru/g (ЦС108). Код остале две врсте варијабилност је

знатно нижа, једино се код беле детелине уочава једно искакање од 122.8 mg Ru/g (ТА089) што ову популацију чини вредном пажње.

Количина флавоноида у метанолским екстрактима врста рода *Teucrium* креће се од 61.54 mg Ru/g (*Teucrium chamaedrys*) до 151.56 mg Ru/g (*T. scordium subsp. scordium*) (Станковић, 2012). Поред присуства у лековитим врстама и различите врста поврха (Chu et al., 2000), воћа (Macheix et al., 1990) и житарица (Sartelet et al., 1996) садрже флавоноиде.

Добијене вредности укупне антиоксидативне активности испитиваних врста рода *Trifolium* упоређене су са вредностима за активност врста *Camellia sinensis* L. (Kuntze), *Theaceae*- (зелени чај) и *Ginkgo biloba* L., *Ginkgoaceae*, као стандарде високе антиоксидативне активности (Ivanova et al., 2005; Zahradníková et al., 2007; Akram et al., 2012).

Вредности антиоксидативне активности метанолског екстракта зеленог чаја износе 14.5 $\mu\text{g/mol}$ а стандардизованог екстракта гинка 33.91 $\mu\text{g/mol}$ (Станковић, 2012).

Антиоксидативна активност екстракта врсте *T. rannonicum* узима распон вредности од 44.8 $\mu\text{g/mol}$ до 82.0 $\mu\text{g/mol}$. Изузев ове врсте код свих осталих способност неутрализације DPPH^+ радикала је знатно слабија. Како јачина антиоксидативне активности не опада линеарно, висок степен варијабилности присутан је само у материјалу *T. rannonicum* док је код осталих врста варијабилност упркос високом распону бројевних вредности ниска.

У метанолским екстрактима популација врсте *T. rannonicum* измерене су најприближније вредности стандардима (зелени чај и гинко). Способност надземних делова ове врсте да врше неутрализацију слободних радикала потиче од присуства високе количине укупних фенола. Овај тип зависности је констатован у већем броју истраживања (Stanković et al., 2010; Qader et al., 2011). Многи биљни феноли су се показали као ефикасна средства против оксидације у прехранбеној индустрији (Pokorny, 2008) чак снажнија од синтетичких производа (Oktay et al., 2003).

Ово истраживање је укључило само надземне делове биљака а у појединим представницима рода управо у корену су пронађене биолошки активне материје. Код беле детелине из корена су изоловани флавоноиди

(Carlsen et al., 2007). Они се синтетишу приликом инфекције патогеним гљивама. Овај механизам би могао бити искоришћен у случају узгајања појединих врста за потребе изоловања и употребе биолошки активних једињења.

Изофлавоноиди црвене детелине се већ користе као замена 17β естрадиолу у превенцији обољења која се јављају код жена. Познато је да шведска детелина садржи сапонине (Pérez et al., 2013). Констатовано је присуство сапонина и других флавоноида у семенима врста рода *Trifolium* (Oleszek и Stochmal, 2002). Код врсте *T. pannonicum* вршено је изоловање флавоноид (гликозиди) из листова (Schultz и Böhner, 1971).

Не само да се биолошки активне материје користе у превенцији различитих обољења и као додаци исхрани, већ показују и таксономски значај. За разликовање нижих таксономских нивоа могу се користити производи секундарног метаболизма па тако укупни флавоноиди и флаван-3-ол су били коришћени за раздвајање генотипова еспарзете (Mueller-Harvey, 2013).

Поред тога што се активне материје изолују из узорка добијеног млевењем целе биљке, бројна су истраживања у којима се засебно анализирају биљни делови. Њихово присуство и повећана концентрација је везана за одређену функцију: заштиту фотосинтетског апарата, стимулација *nod* гена, регулацију одавања воде у листовима... . Чак се и коришћење других растварача у појединим случајевима показало као ефикаснији начин доказивања веће биолошке активности. Наредна истраживања на врстама рода *Trifolium* треба усмерити у правцу анализе појединих делова и састава хемијских једињења.

Изофлавоноиди (фитоестрогени)

Изофлавоноиди су секундарни метаболити мале молекулске тежине. Јављају се у виду великог броја молекула и обављају углавном заштитну улогу или су пак делови сигналних путева у биљци. Како је уочено њихово благотворно дејство на људско здравље, од друге половине двадесетог века интензивно се проучавају и примењују у терапеутске сврхе (Francis, 1967; Vetter, 1995). Једна од врста која је је поред соје и куцу основни извор ових једињења јесте и црвена детелина (Toebes et al., 2005; Kroyer, 2004). И у овом раду црвена

детелина се показала као изофлавонима најбогатији ресурс. Садржај биоханина А и формононетина код ове врсте је био виши од даидзеина и генистеина, док је биљни орган са највише изофлавона био лист. Ово је у сагласности са резултатима које су добили Sivesind и Seguin (2005), премда су њихове вредности више од овде изложених. Исти аутори приписују разлике у садржају изофлавона различитим факторима, егзогеним и ендогеним. Али сматрају да је кључан фактор генетика, односно сорта биљке. У истраживању Tsao et al. (2006) највише изофлавона измерено је у листовима, а закључују такође да су биоханин А и формононетин главни облик изофлавона у црвеној детелини чији садржај у листовима расте током сазревања биљке док у стабљници током истог процеса количина изофлавона опада. У раду Bursać, (2013) просечни садржај изофлавона у листовима црвене детелине износи 6.54 mg/g што је виша вредност од вредности приказане у табели 23, али истраживање је спроведено на сортама.

Садржај изофлавона у биљкама беле детелине је веома низак (Carlsen и Fomsgaard, 2008) што је у сагласности са добијеним вредностима. Јављају се разлике између сорти као и између биљних делова (Bennet et al., 1967; Carlsen et al., 2008). Примећено је такође да се садржај појединих изофлавона мења у зависности од здравственог статуса саме биљке. Тако у здравим биљкама количина формононетина је ниска (Francis et al., 1967; Saloniemi et al., 1993) док се у случају инфекције патогеном гљивом стање брзо мења, и на месту повреде концентрација формононетина расте, било да је у питању лист (Wong и Latch, 1971), стабљика (Cook et al., 1995) или други део биљке. У популацији ЦС122 у листу је измерен највиши садржај укупних изофлавона, док је код осталих популација стабљика са преовлађујућим садржајем ових једињења. Како је највећи део стабљике беле детелине положен по земљи, већа је могућност да биљка трпи услед изложености земљишним микроорганизмима, па у том случају појачана концентрација изофлавона има заштитну улогу.

У истраживању Siqueira et al. (1991) примећено је да биоханин А и формононетин у корену беле детелине стимулишу колонизацију арбускуларне гљиве *Glomus intraradices*, и раст саме детелине. Уколико се изазове синтетисање ове материје, то би потенцијално могло повољно да утиче на развој ризосфере и

боље напредовање самих биљака. Развој генотипова се вишим потенцијалом за синтезу и лучење активних материја могао би да буде потенцијално решење смањења густине корова и добијања веће биомасе.

Веома мали број истраживања је посвећен другим врстама детелина (са изузетком *T. subterraneum*). У раду Oleszak et al. (2007) рађено је истраживање на 57 врста при чему су биле обухваћене и шведска детелина, *T. rannonicum* и *T. montanum*. Примењена је UPLC анализа којом нису детектовани изофлавонови у поменутиим врстама.

У истраживању Wu et al. (2003) у белој и шведској детелини откривено је присуство даидзеина и генистеина док формонетина и биоханина А није било. Садржај присутних изофлавона је био нижи у ове две врсте у поређењу са црвеном детелином, код које су идентификована сва четири изофлавона.

У истраживању Renda et al. (2013) испитивано је 13 врста и подврста рода *Trifolium*. Код две подврсте шведске детелине измерене су вредности генистеина и формонетина, док су даидзеин и биоханин А били испод лимита детекције. Количина измерених изофлавона била је нижа у односу на популације обухваћене овим истраживањем. Вредности генистеина, формонетина и биоханина А код врсте *T. rannonicum* су такође биле ниже од резулта за популације ове врсте у нашем истраживању, приказаних у табелама 73, 74 и 75. Концентрација генистеина измерена код беле детелине имала је приближне вредности као у овом истраживању (табела 39) док је ниво формонетина приказан у раду Renda et al. (2013) за белу детелину нижи од вредности популација које смо ми анализирали (табела 39).

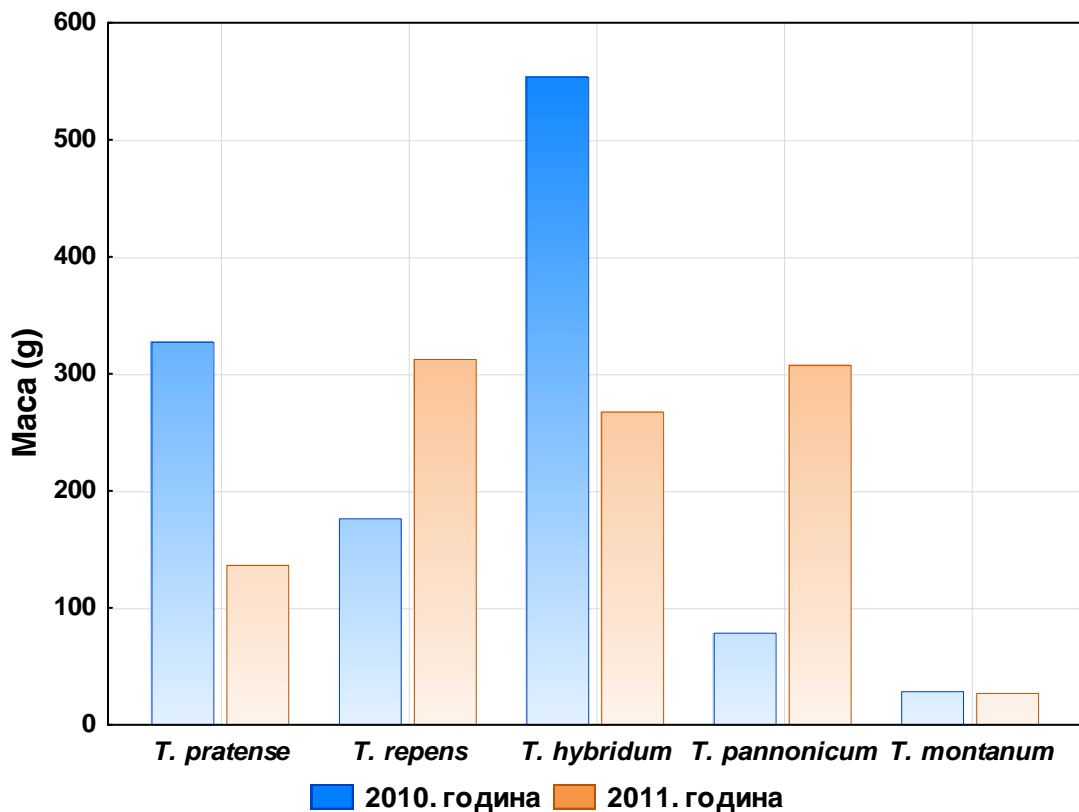
6. Упоредна анализа са дискусијом

У овом поглављу биће изложен упоредни преглед свих пет врста коришћењем вредности које су добијене праћењем морфолошких, анатомских и хемијских особина. Свака од анализираних врста јединствена је по свом хабитусу, ареалу распрострањења, висинском градијенту пружања, специфичним захтевима за хранљивим материјама, па и агрономској примени. Поређењем се могу добити информације о прилагођености врста агроколошким условима, њиховом генетичком потенцијалу, зависно од локалитета са кога потичу, чиме се олакшава њихов одабир за конкретну намену, као и селекционе програме.

6.1. Упоредна анализа морфолошких особина

На графикону 66 приказане су просечне вредности зелене масе, добијене мерењем појединачних биљака, врста *T. pratense*, *T. repens*, *T. hybridum*, *T. rannonicum* и *T. montanum*. Иако су код *T. montanum* резултати сакупљани током 2011. и 2012. године, за потребе упоредне анализе резултати су изложени као и код осталих врста (на исти начин су конципирани и остали графикони, од броја 66 до 72).

У првој години искоришћавања поредак врста у односу на просечне вредности зелене масе из првог откоса је следећи: *T. hybridum* > *T. pratense* > *T. repens* > *T. rannonicum* > *T. montanum*. У наредној години слика је нешто другачија: *T. repens* > *T. rannonicum* > *T. hybridum* > *T. pratense* > *T. montanum* (Графикон 66). Процентуално највећи пад забележен је код краткоживећих врста, црвене и шведске детелина (58% и 49%), док је највеће повећање масе присутно код *T. rannonicum* (292%) и беле детелине (44%). Промена код *T. montanum* је занемарљиво мала (-4%).



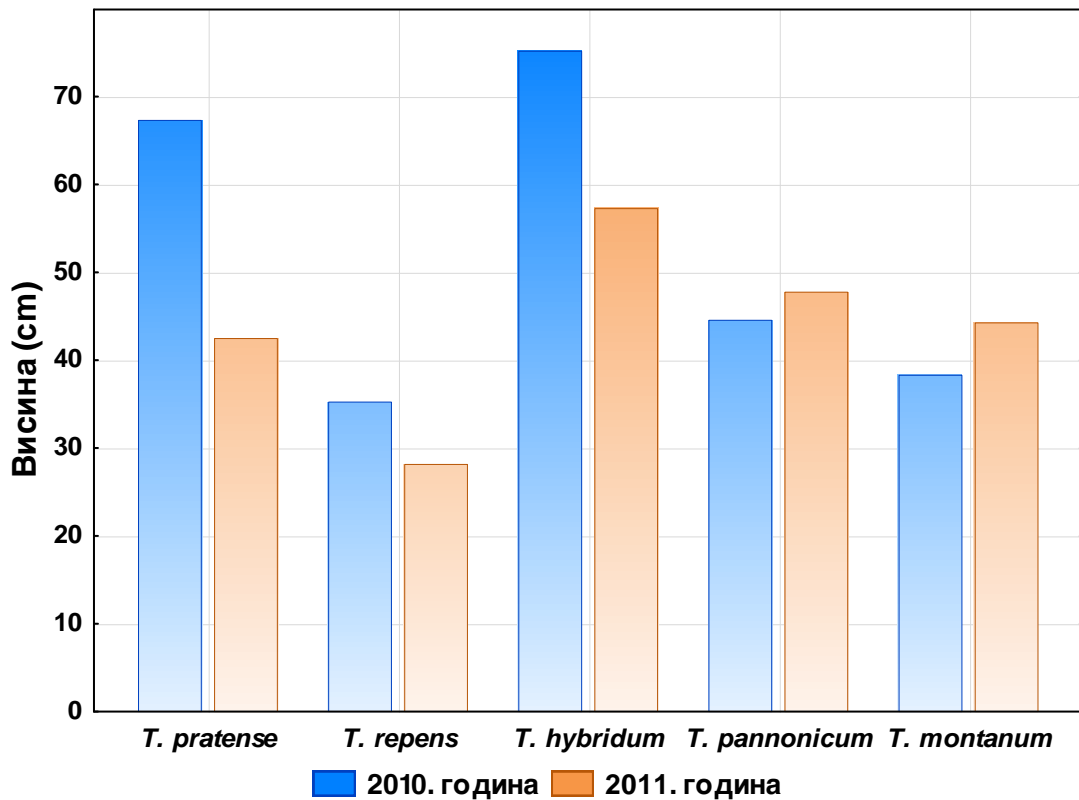
Графикон 66. Просечне вредности зелене масе пет врста рода *Trifolium*, приказане по годинама.

Укупно током обе године истраживања највише зелене масе донела је шведска детелина (820 g), следе бела са 488 g, црвена (462.8 g), *T. pannonicum* (385.18 g) и *T. montanum* (55.07 g).

На графикону 67 приказане су просечне вредности висине, добијене мерењем појединачних биљака, врста *T. pratense*, *T. repens*, *T. hybridum*, *T. pannonicum* и *T. montanum*.

У првој години убирања највећом висином су се одликовале јединке *T. hybridum* (75.1 cm). Редослед опадања висине код осталих врста је следећи: *T. pratense* (67.23 cm), *T. pannonicum* (44.5 cm), *T. montanum* (38.25 cm) и најнижу вредност је достигла *T. repens* – 35.2 cm. У наредној години висина код шведске детелине се смањила за 23%, и износи у просеку за све популације 57.2 cm. Али и даље је то највиша од приказаних врста. Наредна по висини у 2011. години је *T. pannonicum* (47.7 cm) код које се јавио благи пораст од 7%. Затим долази *T. montanum* са 44.2 cm и порастом висине од 16%. Обе врсте су престигле црвену детелину, код које висина опада за чак 35% у 2011. и износи – 42.3 cm. На

последњем месту је као и у претходној години бела детелина са 28.1 cm, и смањењем од 17%.



Графикон 67. Просечне вредности висине пет врста рода *Trifolium*, приказане по годинама.

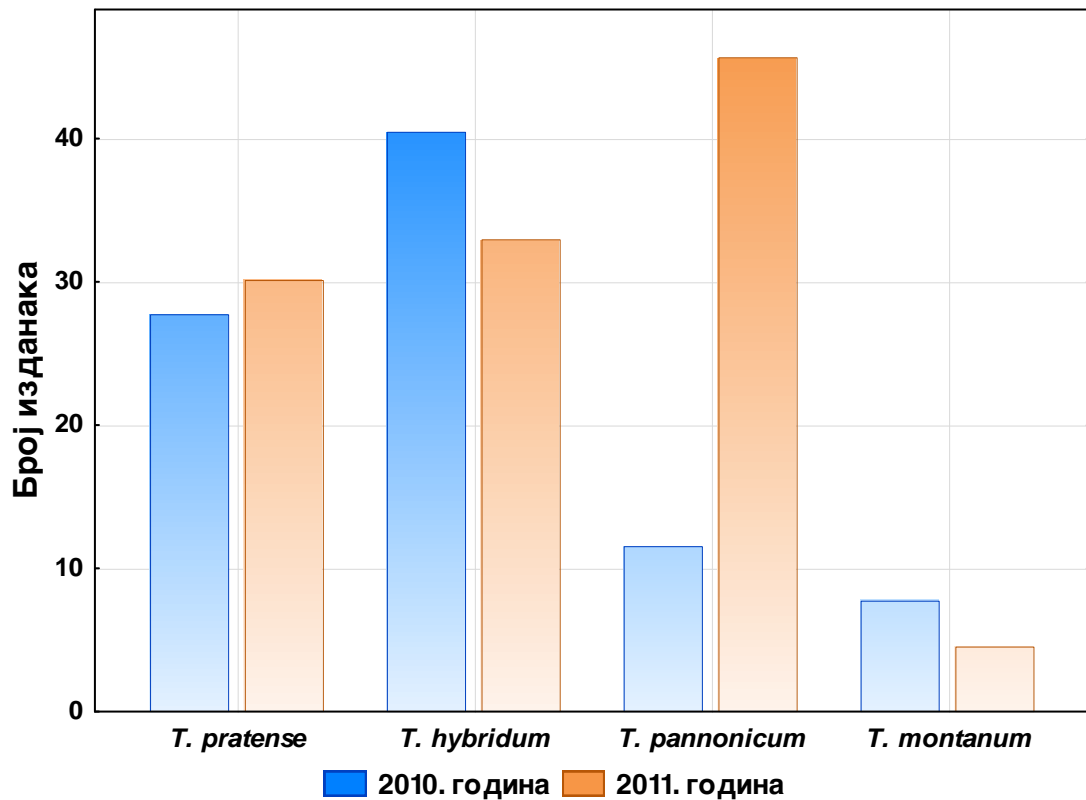
У раду Vilčinskas и Dabkevičiene (2009) изложени се подаци двогодишњег истраживања висине биљака, при чему је редослед врста следећи: *T. pannonicum* је остварио најбоље резултате, затим следи црвена, шведска, *T. montanum* и на крају као најнижа бела детелина. Поред њих висину врста рода *Trifolium* пратили су и Vitkus (1993) као и Gillett et al. (2001).

На графикону 68 приказане су просечне вредности броја изданака, добијене мерењем појединачних биљака, врста *T. pratense*, *T. hybridum*, *T. pannonicum* и *T. montanum*.

Највећи број изданака у 2010. имала је шведска детелина (40.4), затим црвена детелина (27.67), *T. pannonicum* (11.5) и *T. montanum* (7.70).

У 2011. години значајан пораст се јавља код популација *T. pannonicum*-а. Број изданака се повећао на 45.6. Код шведске детелине дошло је до смањења просечног броја на 32.9 и то је друга врста у опадајућем низу.

Црвена детелина има повећање на 30.06 изданака, а код *T. montanum*-а просечна вредност се смањила на 4.50.



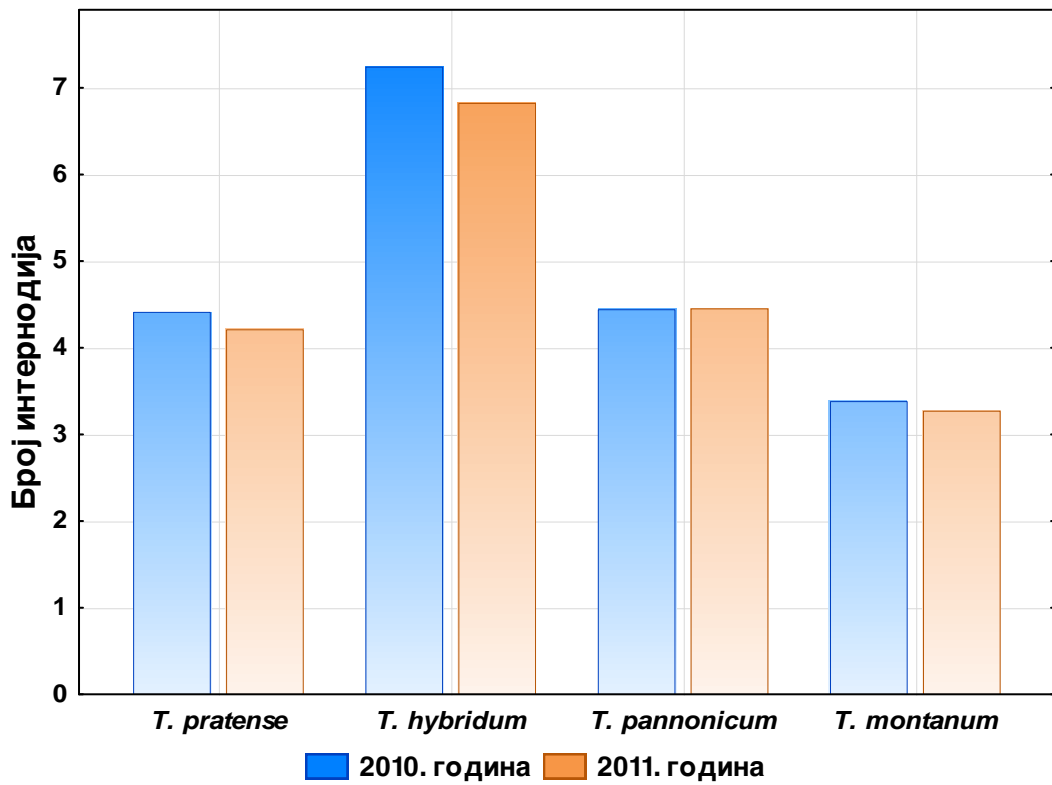
Графикон 68. Просечне вредности броја изданака четири врста рода *Trifolium*, приказане по годинама.

У суми највише изданака дала је за две сезоне шведска детелина—73.3.

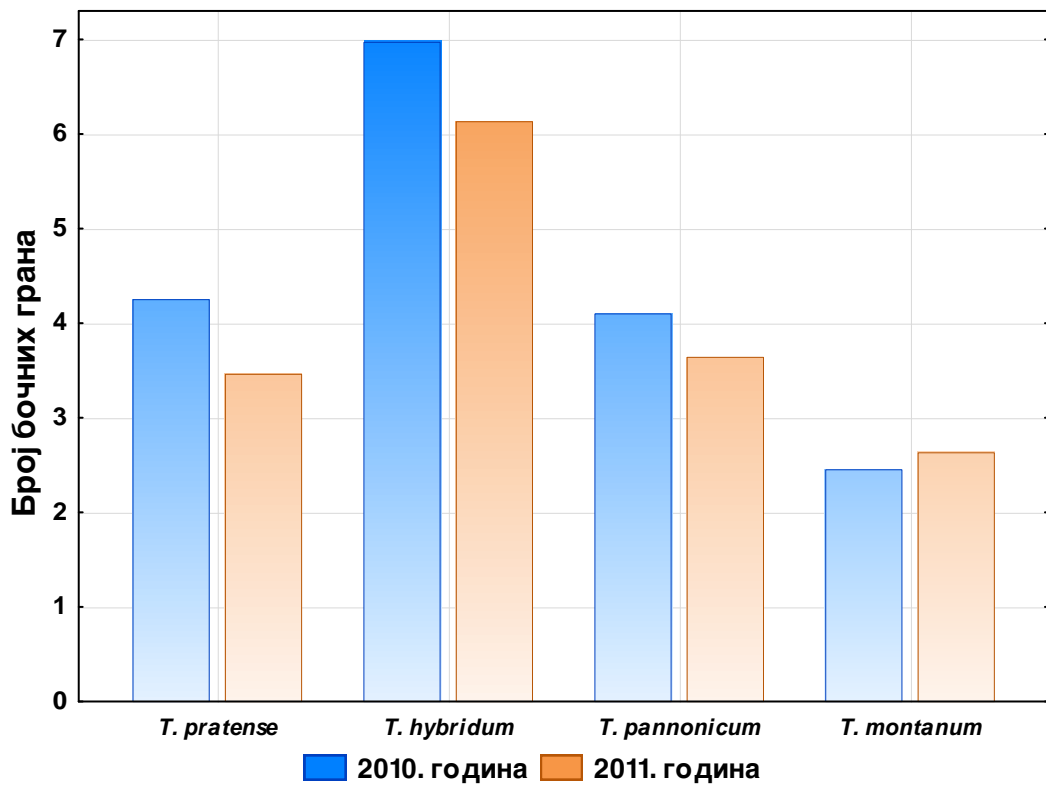
На графикону 69 приказане су просечне вредности броја интернодија, добијене мерењем појединачних биљака, врста *T. pratense*, *T. hybridum*, *T. pannonicum* и *T. montanum*.

У 2010. години редослед врста по опадајућем низу је следећи: шведска детелина (7.24) > *T. pannonicum* (4.44) > црвена детелина (4.41) > *T. montanum* (3.38).

У наредној години вредности се веома мало мењају. Поредак врста је истоветан као и у 2010. години.



Графикон 69. Просечне вредности броја интернодија четири врста рода *Trifolium*, приказане по годинама.



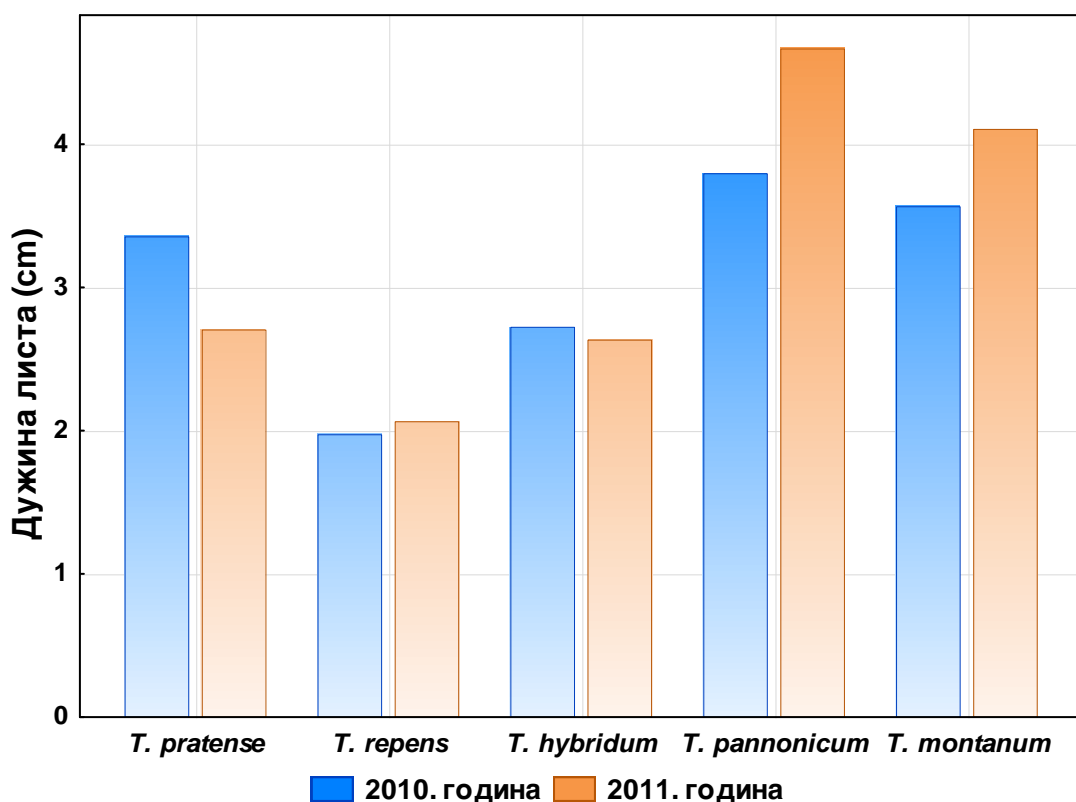
Графикон 70. Просечне вредности броја бочних грана четири врста рода *Trifolium*, приказане по годинама.

На Графикону 70 приказане су просечне вредности броја бочних грана, добијене мерењем појединачних биљака, врста *T. pratense*, *T. hybridum*, *T. pannonicum* и *T. montanum*.

У 2010. години највећи просечан број бочних грана забележен је код шведске детелине – 6.97. Доста нижа вредност овог параметра констатована је код црвене детелине (4.25) и *T. pannonicum*-а (4.10). Најмањи број бочних грана имале су јединке *T. montanum* (2.45).

Промене вредности у 2011. су присутне код свих врста, при чему само код *T. montanum* постоји мали пораст али то је у поређењу са осталим врстама и даље најнижа вредност (2.63). Нешто боља вредност је код црвене детелине (3.46) затим *T. pannonicum* (3.64) и највишом вредношћу броја бочних грана одликује се шведска детелина (6.13).

На Графикону 71 приказане су просечне вредности дужине листа, добијене мерењем појединачних биљака, врста *T. pratense*, *T. repens*, *T. hybridum*, *T. pannonicum* и *T. montanum*.

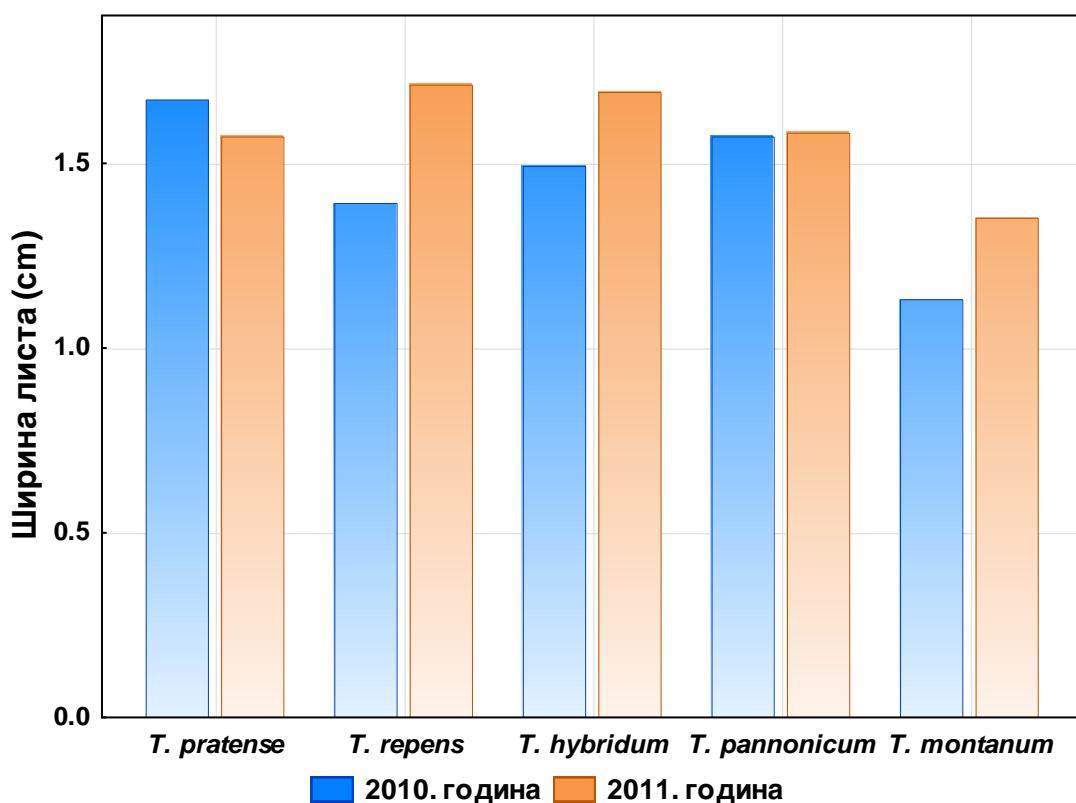


Графикон 71. Просечне вредности дужине листа пет врста рода *Trifolium*, приказане по годинама.

Просечно најдужи лист у 2010. јавља се код *T. pannonicum* (3.79 cm). Затим у опадајућем низу следе *T. montanum* (3.56 cm), црвена детелина (3.35 cm), шведска детелина (2.72 cm) и бела детелина са најкраћим листом – 1.97 cm.

У 2011. вредности дужине листа расту код следећих врста: *T. pannonicum*-а (4.66 cm), *T. montanum*-а (4.10 cm) и беле детелине (2.06 cm). Најзначајнији пад је присутан код црвене детелине (2.70 cm), док је смањење код шведске детелине готово занемарљиво (вредности у 2011. години 2.63 cm).

На Графикону 72 приказане су просечне вредности ширине листа, добијене мерењем појединачних биљака, врста *T. pratense*, *T. repens*, *T. hybridum*, *T. pannonicum* и *T. montanum*.



Графикон 72. Просечне вредности ширине листа пет врста рода *Trifolium*, приказане по годинама.

Најшири лист у 2010. има црвена детелина (1.67 cm), нешто ниже вредности *T. pannonicum* (1.57 cm), шведска детелина (1.49 cm), бела детелина (1.39 cm) и *T. montanum* (1.13 cm).

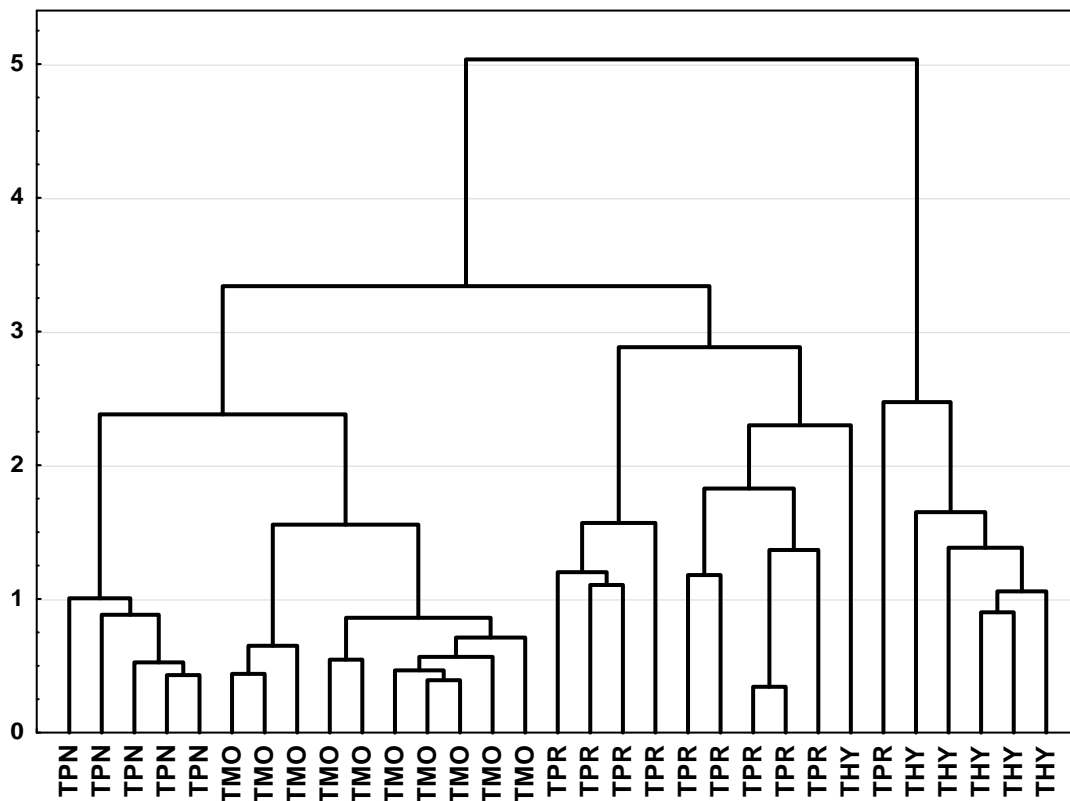
Промена вредности у 2011. је мала, само је код црвене детелине забележен пад вредности на 1.57 cm, док код свих осталих врста ширина расте.

Поредак врста у опадајућем низу је следећи: бела детелина (1.71 cm), шведска детелина (1.69 cm), *T. rannonicum* (1.58 cm) и *T. montanum* (1.35 cm).

Највише просечне вредности зелене масе, висине, броја изданака, броја интернодија и броја бочних грана забележене су код шведске детелине. Највећа дужина листа је код јединки *T. rannonicum*.

Кластер анализе морфолошких особина четири анализираних врсте рода *Trifolium* L.

Резултати класификације популација на основу морфолошких особина (праћених у 2010. години) представљени су помоћу дендрограма (Графикон 73).

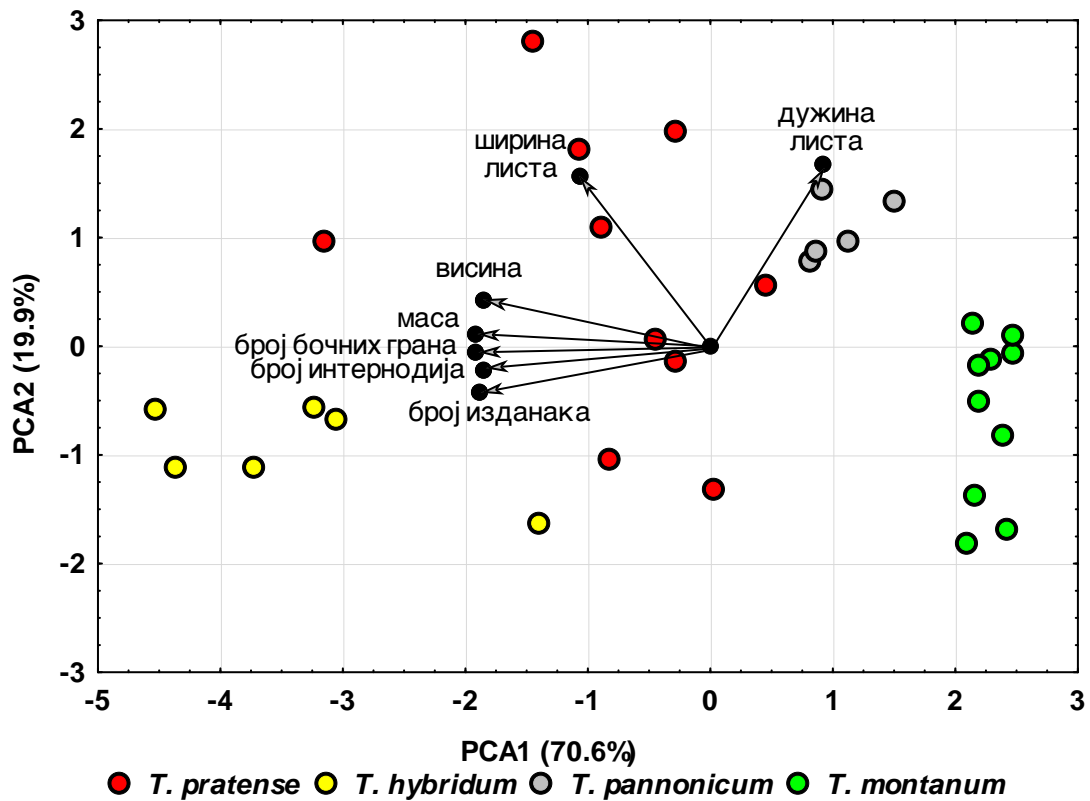


Графикон 73. Кластер анализа морфолошких особина популација врста *T. rannonicum* (TPN), *T. montanum* (TMO), *T. pratense* (TPR) и *T. hybridum* (THY).

С обзиром да на популацијама врсте *T. repens* нису мерени број бочних грана, број интернодија и број изданака, ова врста није укључена у класификацију. Са графикона се уочава да су све посматране врсте издвојене у засебне кластере што указује на њихову јасну морфолошку различитост. Изузетак се јавља код популације РА100 (*T. hybridum*) која је због релативно

лоших вредности морфолошких особина припала кластеру у коме се налазе популације врсте *T. pratense*. Такође, једна популације врсте *T. pratense* (ИС077), која бележи најбоље резултате унутар своје врсте, се налази у кластеру коме припадају популације врсте *T. hybridum*.

Како би се објаснили разлози овакве класификације и издвојиле карактеристичне особине сваке од посматраних врста примењена је метода главних компоненети (Графикон 74).



Графикон 74. Графички приказ резултата анализе главних компоненети морфолошких особина популација 4 врсте рода *Trifolium* у равни прве и друге осе.

Укупан проценат варијабилности приказан уз помоћ прве две осе је 90.5%, при чему прва оса носи 70.6% а друга 19.9%. Популације врсте *T. hybridum* и *T. pratense* се издвајају високим вредностима за број изданака, број интернодија, број бочних грана и принос зелене масе. Ипак, вредности ових особина су нешто веће код врсте *T. hybridum*, те она заузима простор на крајњем левом делу графикона. *T. pratense* се издваја високим вредностима ширине листа. Врста *T. pannonicum* се карактерише највишим вредностим за дужину листа. Врста *T. montanum* има најниже вредности код скоро свих

морфолошких особина на шта указује положај њених популација на крајњем десном делу графикана.

Применом кластер анализе и методе главних компоненти дошло је до једнаког груписања популација у одговарајуће кластере. Обе методе представљају потврду исправне анализе коришћених вредности. Одступања појединих популација од просечних вредности врсте испољило се у позицији популација ИС077 (црвена детелина) и РА100 (шведска детелина) на дендрограму и РСА графикону. Вредности популације ИС077 су значајно боље од осталих популација црвене детелине па је она груписана са популацијама шведске детелине које су одличних вредности. С друге стране популација РА100 има лошије вредности од осталих популација шведске детелине па је самим тим ближа кластеру са популацијама црвене детелине.

Имајући у виду да се шведска детелина издвојиле на кластеру услед бољих вредности висине, масе, броја изданака, броја бочних грана и броја интернодија може се закључити да је са агрономског аспекта ово врло пожељна врста за компоновање травно-легуминозних смеша. Крупне, лиснате, разгранате јединке шведске детелине, нежнијих стабљика у поређењу са црвеном детелином представљају одличну животињску храну. Како је истог времена експлоатације као и црвена, а боље подноси неповољне услове станишта представља готово идеално решење за затрављивање брско планинских глиновитих подлога.

Испитивани материјал врсте *T. rannonicum* показао је одличан потенцијал за принос и перзистенцију (преживљавање неповољних зимских и летњих услова). Процент преживелих јединки по популацији био је код већине 100%. У испитиваним годинама запажен је снажан и скоковит развој биљака које затим како се у литаратури наводи (Szabo, 1987) могу да опстану и по читаву деценију.

Едафско-климатски услови у којима је рађено истраживање нису истоветни природном станишту врсте *T. montanum*. Претпоставка је да јединке нису показале свој пун потенцијал развоја, тако да би било интересантно испитивати продуктивне особине ове врсте на вишим надморским висинама где би се њихов хабитус испољио у потпуности.

Врсте *T. montanum* и *T. pannonicum* су аутохтони флорни елементи брдско планинског подручја Балкана и Србије. Као легуминозе веома су пожељне у саставу травњака и потенцијалних вишекомпонентних травно-легуминозних смеша. Не само да доприносе густини, компактности травног покривача и количини биомасе већ и веома позитивно утичу на здравље биљоједа као и целог екосистема.

Упоредном анализом показало се да популације шведске детелине предњаче по вредностима морфолошких особина у односу на популације осталих врста. У просеку испитиване популације шведске детелине одликовале су се највишим приносом зелене масе, висином биљака, бројем изданака, бројем интернодија и бочних грана. Популације *T. pannonicum* имале су највећу дужину листа, као и највећу промену у зеленој маси и броју изданака током две године.

6.2. Упоредна анализа хемијских особина

У табели 91 приказане су просечне вредности параметара квалитета суве материје, врста *T. pratense*, *T. repens*, *T. hybridum*, *T. pannonicum* и *T. montanum*.

Табела 91. Просечне вредности хемијских параметара 5 врста рода *Trifolium* изложене у процентима.

врста	пепео	протеини	целулоза	масти	БЕМ
<i>T. pratense</i>	13.03	16.63	23.04	3.03	44.27
<i>T. repens</i>	13.75	21.96	21.67	2.33	40.29
<i>T. hybridum</i>	13.62	19.55	22.81	2.09	41.91
<i>T. pannonicum</i>	13.07	17.37	32.36	2.14	35.06
<i>T. montanum</i>	11.27	19.48	27.11	2.19	39.94
просек	12.95	20.00	25.40	2.36	40.25

Највиши садржај протеина и најмањи садржај целулозе измерен је код беле детелине. Овакви резултати су и очекивани јер се ове биљке мале висине одликују нежном, пузећом стабљиком која не одрвењава, развија велики број чворова са којих полазе бочне стабљике и пуно листова од којих преваходно зависи квалитет биљака. То је свакако једна од најквалитетнијих

кормних врста, са високим садржајем протеина и сварљивошћу суве материје (Beever, 1993). Висок квалитет суве материје ове врсте је много пута до сада експериментално потврђен. У раду Lin et al. (2001) вредност сирових протеина износи 20.1%; у раду Marshall et al. (2004) просечна вредност сирових протеина добијена пољским истраживањем неколико селекционисаних генотипова износи 23.65%. У силираној маси протеини беле детелине се након доспевања у животињски организам брже разграђују док се протеини црвене детелине спорије разграђују и могу да услове загађење азотом (Abberton и Thomas, 2011). У раду Lugić i sar. (2006) вршено је поређење вишегодишњих кормних легуминоза (луцерка, црвена, бела детелина и жути звездан), при чему је највиши садржај протеина измерен код беле детелине – 26.6%. У наведеним истраживањима коришћене су селекционисане сорте, чији садржај протеина је оплемењивањем повећан. Како је овде приказана просечна вредност самониклих популација, анализирани материјал се може сматрати врло перспективним за потребе формирања сорти висококвалитетне крме. Овој констатацији доприноси и чињеница да је у поређењу са осталим врстама наведеним у табели 91, однос протеина и целулозе најповољнији, а садржај масти од 2.33% сасвим задовољавајући.

Наредна врста са јако добрим садржајем протеина од 19.55%, и одличним односом протеина и целулозе јесте шведска детелина (*T. hybridum*). Садржај протеина је виши а проценат целулозе нешто нижи у поређењу са резултатима Ates (2011). У раду Paplauskiene и Dabkevičiene (2012) вршено је истраживање сорти, при чему су вредности протеина селекционисаних генотипова знатно ниже у поређењу са вредностима из табеле 91, док је проценат целулозе виши. Шведска детелина се од раније, чак и без обимнијих истраживања квалитета суве материје сматрала врстом која је сличне хранљиве вредности као и црвена детелина. Из основе се код ове врсте развија велики број изданака нежније грађе у поређењу са црвеном детелином, са више бочних грана и великом масом листова која у великој мери доприноси добром квалитету и сварљивости биомасе.

Црвена детелина је што се тиче агрономске вредности и простора на којима се узгаја, космополитска врста. Иако далеко заступљенија у производњи

од шведске детелине, у овом истраживању остварила је ниже вредности протина и за нијансу више вредности целулозе од *T. hybridum*-а. Просечан садржај протеина од 16.63% (табела 91) је добра вредност у поређењу са истраживањима Tavlas et al. (2009) где је просечна вредност за 25 сорти црвене детелине 13.24%. Нешто виши садржај протеина и сличан садржај целулозе добијен је у раду Svirskis и Juknevičius (2006), а истраживање је спроведено на диплоидним и тетраплоидним сортама. У раду Tomić et al. (2005) просечна вредност протеина тестираних сорти износи 19.15% што је бољи резултат од резултата наших истраживања (табела 91), док је проценат целулозе од 25.67% нешто нижи. Сва наведена истраживања односе се на селекционисане сорте, тако да у поређењу са тим вредностима се може сматрати да у испитиваном материјалу црвене детелине постоје перспективне популације за оплемењивање.

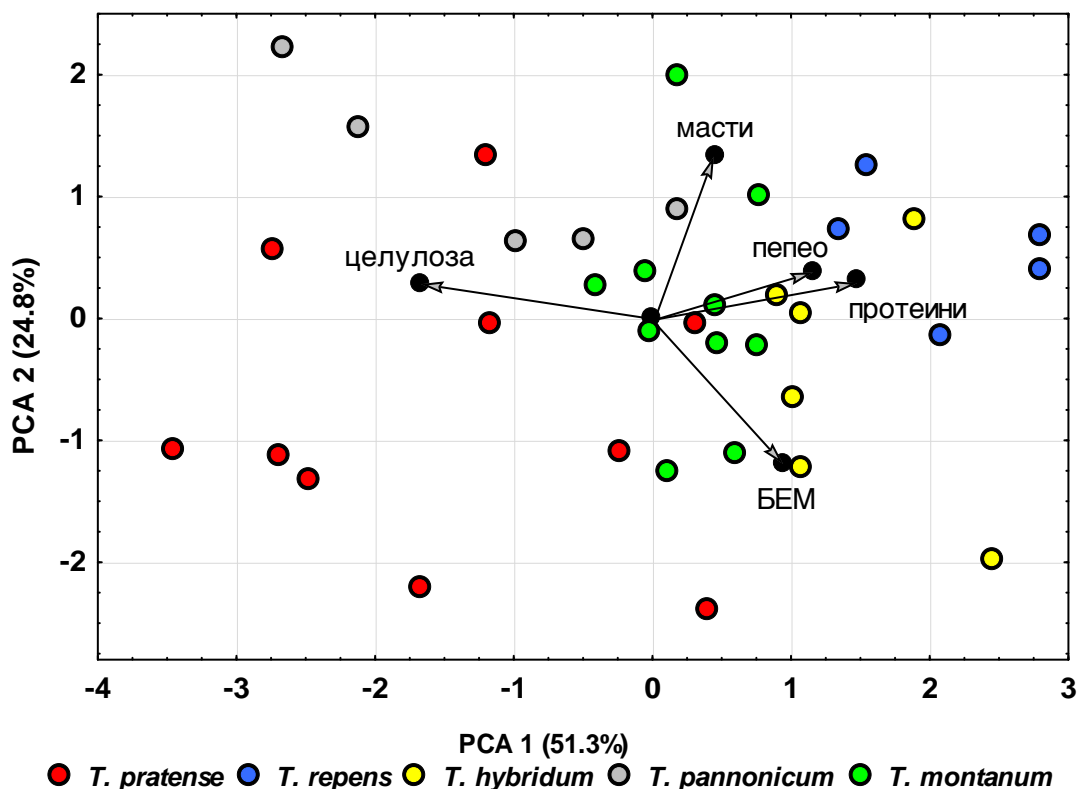
Претходне три врсте (бела, шведска и црвена детелина) су већ дуже време у употреби као сточна храна. Остале врсте су припадници дивље флоре чији квалитет суве материје углавном није праћен и слабо је литературно документован. Садржај протеина коју су Lugić et al. (2005) добили истражујући популације *T. rannonicum* креће се од 13.8 до 14.56%, а садржај целулозе 29.97% - 33.38%, док је у раду Szabo (1987) просечан садржај протеина био 17.86% а целулозе 25.02%. Код *T. rannonicum* се јавио нешто виши проценат целулозе у поређењу са осталим испитиваним врстама. Ово се може објаснити већим учешћем механичких ткива у свим биљним деловима, као и већим уделом стабла у односу на листове. Наиме склеренхим, који је за животиње несварљив, се према истраживању Zorić (2008) налази у већој мери код *T. rannonicum* него код остале четири врсте. Ксероморфнија грађа ове врсте, коју одликује присуство меристемоидних израштаја, боље развијен палисадни слој са дебљим ћелијама као и проводни судови са јачим механичким елементима утичу на повећање садржаја целулозе али и нижу сварљивост целокупне биљке.

Вредности добијене овим истраживањем за *T. rannonicum* крећу се у већ наведеним оквирима других радова. Постоји могућност за селекцију и узгајање са вишегодишњим травама на еродираним површинама, поред путева, у високопланинским подручјима, пошто се врста карактерише добрим

уделом протеина а количина целулозе би процесом селекције могла да се смањи.

Врста *T. montanum* имала је у просеку висок садржај протеина (19.48%), чак виши од црвене детелине, док јој је садржај целулозе од 27.11% лошији. Постоје покушаји узгајања ове врсте у високопланинском подручју Аустралије, где се показало да је преживела неповољне услове знатно боље од беле или црвене детелине које су се потпуно изгубиле у петогодишњем периоду. Проблем је што ова врста не може да формира затворен склоп, али може да се користи као део смеша у екстремнијим условима (Dear, 1982).

Добар квалитет суве материје ове врсте потиче из добро развијене лисне розете, стабљике нежније грађе као и мањег процента воштаних љуспица (потпуно несварљив део) на листовима у поређењу са другим врстама овога рода. Поред *T. montanum* и код беле детелине такође се на абаксијалном епидермису листа уочава присуство мање количине воска (Zorić, 2008).



Графикон 75. Графички приказ резултата анализе главних компоненти хемијских особина популација 5 врста рода *Trifolium* у равни прве и друге осе.

На графикону 75 приказани су резултати анализе особина квалитета суве материје 5 врста рода *Trifolium*. Укупан проценат варијабилности приказан уз помоћ прве две осе је 76.1%, при чему прва оса носи 51.3% а друга 24.8%. Особине које највише утичу на раздвајање по хоризонталној оси су протеини, пепео и целулоза. Тако да на десној страни са повишеним садржајем протеина и пепела су распоређене популације *T. repens* и *T. hybridum*. Један део популација црвене детелине са нешто вишим садржајем целулозе је на левој страни, као и популације *T. pannonicum*-а, на чије издвајање утичу целулоза и масти. Популације *T. montanum* су у средишњем делу што значи да ни једна особина није пресудна за њихово издвајање.

6.3. Упоредна анализа анатомских особина листа

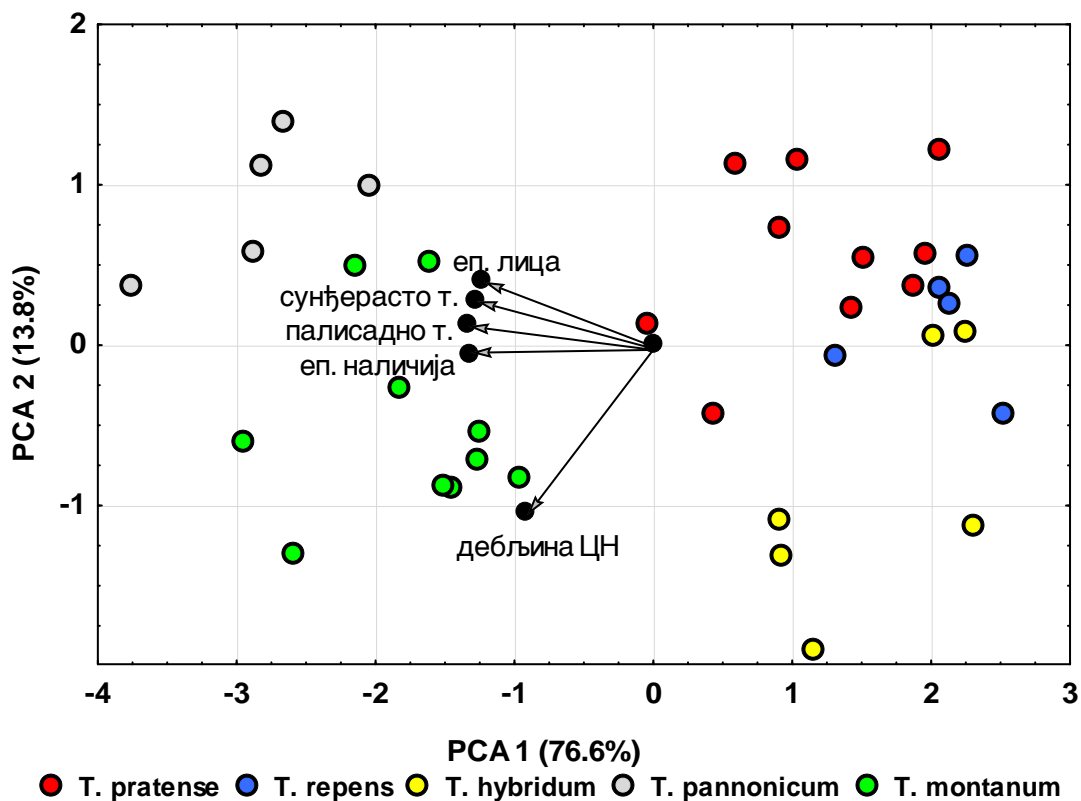
У табели 92 приказане су просечне вредности анатомских особина листа 5 врста рода *Trifolium* L.

Табела 92. Просечне вредности анатомских параметара по врсти.

Популација	епидермис лица листа	палисадно ткиво	сунђерасто ткиво	епидермис наличја листа	дебљина листа	дебљина централног нерва
<i>T. pratense</i>	17.60	63.74	75.36	17.40	174.1	392.4
<i>T. repens</i>	18.36	51.20	59.90	15.55	144.9	408.2
<i>T. pannonicum</i>	25.59	91.27	99.33	24.80	241.0	486.0
<i>T. hybridum</i>	17.05	53.49	63.94	16.58	151.1	487.2
<i>T. montanum</i>	20.79	86.78	84.99	25.01	217.6	536.1
просек	19.61	70.5	77.3	20.15	187.6	463.3

Највише вредности свих параметара забележене су код врста *T. pannonicum* и *T. montanum* што је у сагласности са резултатима које је добила Zorić (2008). Укупна дебљина листа је највећа код *T. pannonicum* као и висина епидермиса лица, дебљина палисадног и сунђерастог ткива. Код *T. montanum* највише вредности су добијене за висину епидермиса наличја и дебљину листа у нивоу централног нерва. Након ове две врсте редослед дебљине листа би био следећи: црвена детелина, шведска детелина и на крају бела са најнижом вредношћу од 144.9 µm. Овакав поредак врста се поклапа са истраживањем Zorić (2008).

Методом главне компоненте вредности из табеле 92, приказане су и графички (Графикон 76). Распоред популација је приказан уз помоћ прве две осе. Укупна варијабилност износи 90.5%, при чему је удео прве осе 76.8% док друга илуструје 13.7% варијабилности. Особине које имају највећу снагу раздвајања података, и распоред популација дуж x-осе, су висина епидермиса наличија и дебљина палисадног ткива. Тако да са леве стране графика имамо популације *T. pannonicum* и *T. montanum*, код којих су високе вредности већ поменутих особина али и дебљина сунђерастог ткива и епидермиса лица. На десној страни се налазе популације осталих трију врста, чије вредности дебљине ових ткива су знатно ниже. Дебљина листа у нивоу централног нерва има најјачи утицај на раздвајање по у-оси, иако то раздвајање због ниског процента варијабилности које носи ова оса, није превише значајно. Тако да у доњем делу графика се налазе популације *T. montanum* и *T. hybridum* са просечним вредностима од 536.1 μm и 487.2 μm .



Графикон 76. Графички приказ пројекције 5 врста, 36 популација и пет анатомских особина листа уз помоћ прве две коресподентне осе.

Поредећи квалитет суве материје и грађу листа (највећа дебљина) врсте *T. pannonicum* може се закључити да би ово потенцијално била добра

врста за селекцију крмног материјала што је потврђено у истраживању Krstić et al. (2008). Волуминозна сточна храна припремљена на травњацима у чији састав би улазио и *T. pannonicum* би се током неповољног периода године могла користити за исхрану крупне и ситне стоке.

6.4. Упоредна анализа секундарних метаболита

У табели 93 приказане су просечне вредности секундарних метаболита и њихова антиоксидативна активност код 5 врста рода *Trifolium*.

Табела 93. Просечне вредности укупних фенола, флавоноида и антиокс. актив. узорака 5 врста рода *Trifolium*.

врста	антиоксидативна активност ($\mu\text{g/mol}$) ^a	количина фенолних једињења (mg GA/g)	количина флаваноида (mg Ru/g)
<i>T. pratense</i>	235	74.5	75.6
<i>T. repens</i>	613	37.2	59.2
<i>T. hybridum</i>	399	56.2	64.9
<i>T. pannonicum</i>	62.8	78.5	179.8
<i>T. montanum</i>	325	69.7	100.7
просек	327	63.2	96.0

^a антиоксидативна активност је утолико јача уколико је њена измерена вредност мања.

Највиша просечна количина укупних фенола и флавоноида, као и најснажнија антиоксидативна активност добијена је из узорака врсте *T. pannonicum*. У раду Gođevac et al. (2008) количина укупних фенола код самониклог материјала врсте *T. pannonicum* износи 106.1 mg GA/g сувог узорка, што је нешто боља вредност од овде приказане. Овако висока количина фенола говори о потенцијалу коришћења саме врсте у фармацеутским истраживањима.

Количина фенолних једињења је такође висока код црвене детелине (74.5 mg GA/g) док је садржај флавоноида високе концентрације код *T. montanum* (100.7 mg Ru/g). Најслабије вредности свих праћених параметара измерене су код беле детелине.

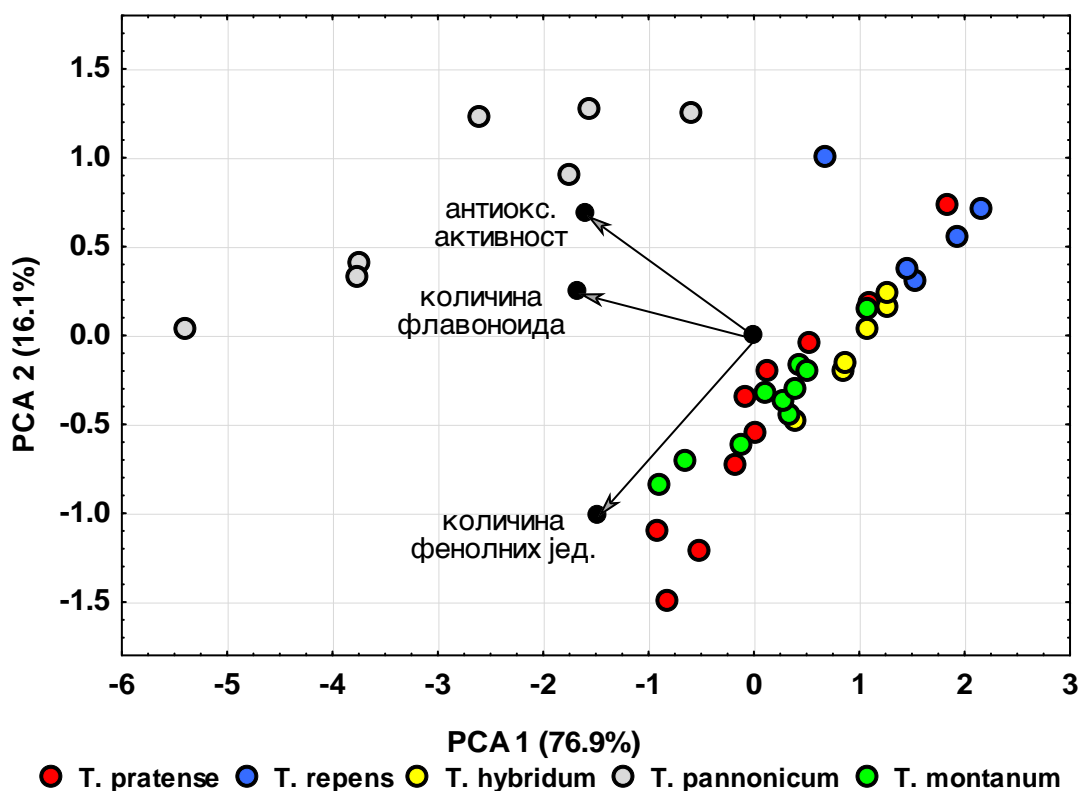
У раду Oleszek et al. (2007) коришћена је Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC) Analysis метода, којом је насупрот резултатима наших анализа (Табела 2) добијено да је садржај укупних фенола виши код црвене детелине у поређењу са *T. pannonicum*. Такође у истом истраживању показано је

да црвена детелина садржи већу количину фенола у поређењу са највећим бројем анализираних врста. У поменутом истраживању висок садржај фенола је измерен код врсте - *T. medium*, која је широко распрострањена у Србији и требало би јој посветити пажњу у будућности. У поменутом раду показано је да се бела детелина сврстава међу најлошије врсте, како по количини укупних фенола, тако и флавоноида, што је у потпуној сагласности са резултатима добијеним у овом раду. У случају неповољних услова животне средине и поремећаја хомеостазе долази до синтезе појединих и повећања концентрације других једињења. Тако се код беле детелине у корену нагомилавају гликозиди (Vickery et al., 1987) и флавоноли (Hofmann et al., 2003) услед недостатка воде. Инфекција гљивама проузрокује синтезу флавона (Wong и Latch, 1971), медикарпина (Cook et al., 1995) и куместана (Saloniemi et al., 1995). Већина синтетисаних једињења су фитоалексини, тако да се ово својство детелина може искористити у спречавању раста корова и развоју болести, како би се смањио унос пестицида и њихов негативан утицај на средину.

После *T. rannonicum*, најача антиоксидативна активност је измерена код црвене детелине. Праћен је цели узорак тако да није могуће рећи од које групе фенолних једињења потиче антиоксидативна активност. У раду Vlaisavljević et al. (2014) потврђено је постојање антиоксидативне активности узорка црвене детелине, при чему су добијене вредности блиске синтетичким антиоксидансима. Овакав резултат чини црвену детелину могућим извором антиоксиданаса прехранбене индустрије. Просечне вредности антиоксидативне активности надземног дела црвене детелине које је добила у раду Бурсаћ (2013) крећу се у распону од 0.1504 µg/ml до 0.2512 µg/ml, што је готово идентично резултатима приказаним у нашим истраживањима (Табела 21).

Антиоксидативна активност је појачана у стресним условима чији узрок може бити пореклом од абиотских фактора или пак утицаја других организама. Мали број истраживања ове врсте је до сада спроведен на члановима рода *Trifolium* (Bermejo et al., 2006; Lee et al., 2007; Wang и Chang 2008). У раду Vaseva et al. (2012) различите сорте црвене и беле детелине су изложене недостатку воде, показало се да бела детелина испољава јачу активност у корену и отпорнија је на оштећења настала сушом.

Вредности из табеле 93 анализирани су методом главне компоненте, коришћењем прве две осе, при чему је приказано 93% варијабилности посматраних особина. Прва оса приказује 76.9% а друга 16.1% укупне варијабилности. На горњем делу леве половине графика распоређене су популације *T. pannonicum*-а. На њихово издвајање у највећој мери утицала је количина флавоноида и висина антиоксидативне активност узорка. У доњем делу леве стране графика су популације црвене детелине и *T. montanum*-а, на њихову позицију утиче количина укупних фенолних једињења. На десној страни графика распоређене су популације са ниским вредностима праћених параметара.



Графикон 77. Графички приказ популација 5 врста рода *Trifolium*, секундарних метаболита и АА у равни прве и друге осе.

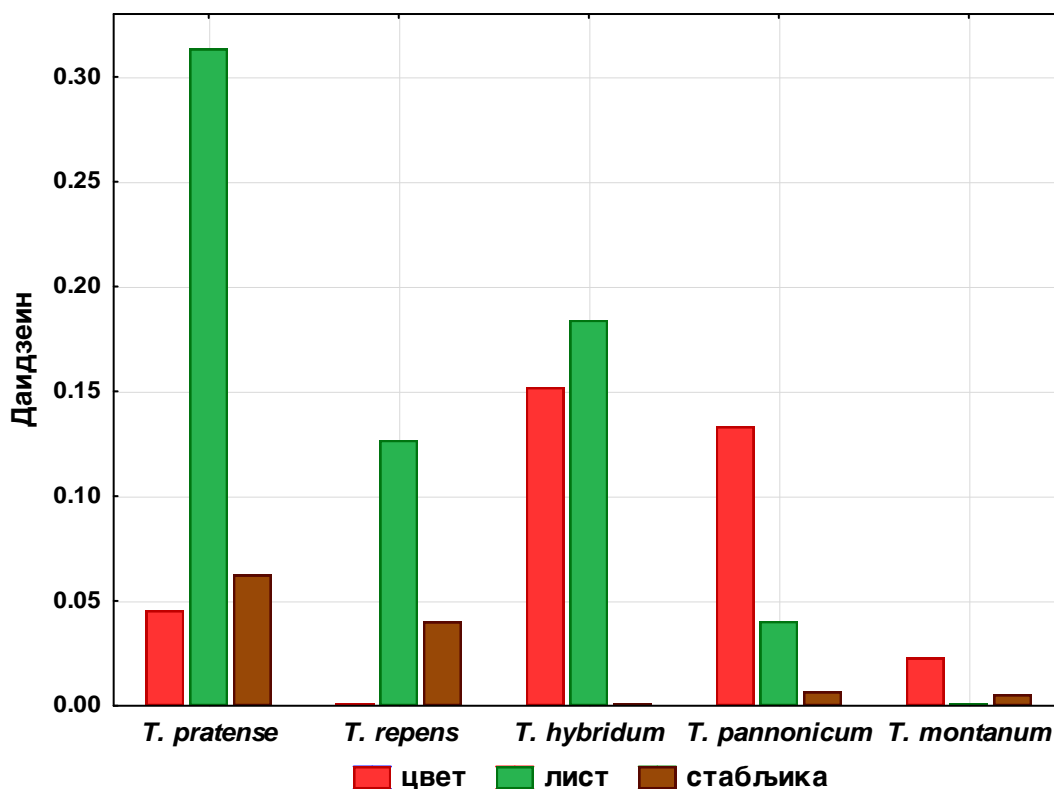
6.5. Упоредна анализа садржаја изофлавонона

Појединачни изофлавонони за комерцијалну примену се данас углавном изолују из црвене детелине и соје (Cremoux et al., 2010) тако да се отвара широки спектар могућности проналажења других врста које би биле

квалитетан и постојан извор снабдевања фармацеутске индустрије. Упоредним прегледом пет врста и четири групе изофлавона добијена је јасна слика о појединачним органима свих врста што је представљено у наредним целинама.

Даидзеин

На графикону 78 приказан је упоредни преглед просечних вредности даидзеина у органима пет врста рода *Trifolium* L.



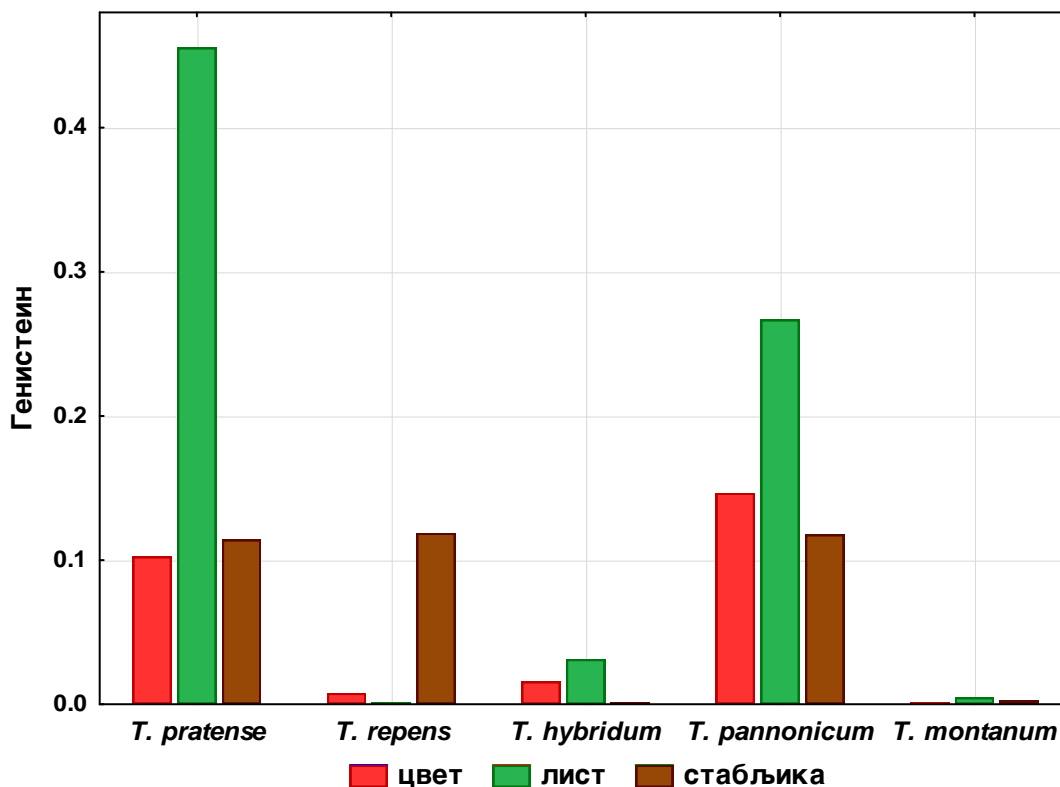
Графикон 78. Садржај даидзеина у биљним органима пет врста рода *Trifolium*.

Са приложеног графикана уочава се да је највиши садржај даидзеина измерен у црвеној детелини (*T. pratense*). Након тога знатно нижа количина је била присутна у шведској детелини (*T. hybridum*) са скоро потпуним одсуством у стабљници. Код *T. pannonicum* за разлику од других врста, највише даидзеина је садржано у цветовима. Најнижом укупном концентрацијом одликовале су се бела детелина (*T. repens*) и *T. montanum*.

Биљни орган који се истицао већим садржајем овог изофлавона је лист. У цветовима црвене, беле и шведске детелине садржај је био нижи него у листу, док су код *T. pannonicum*-а вредности у цветовима знатно више. Стабљика код свих врста је садржала најнижу концентрацију даидзеина.

Генистеин

На графикону 79 приказан је упоредни преглед просечних вредности генистеина у органима пет врста рода *Trifolium* L.



Графикон 79. Садржај генистеина у биљним органима пет врста рода *Trifolium*.

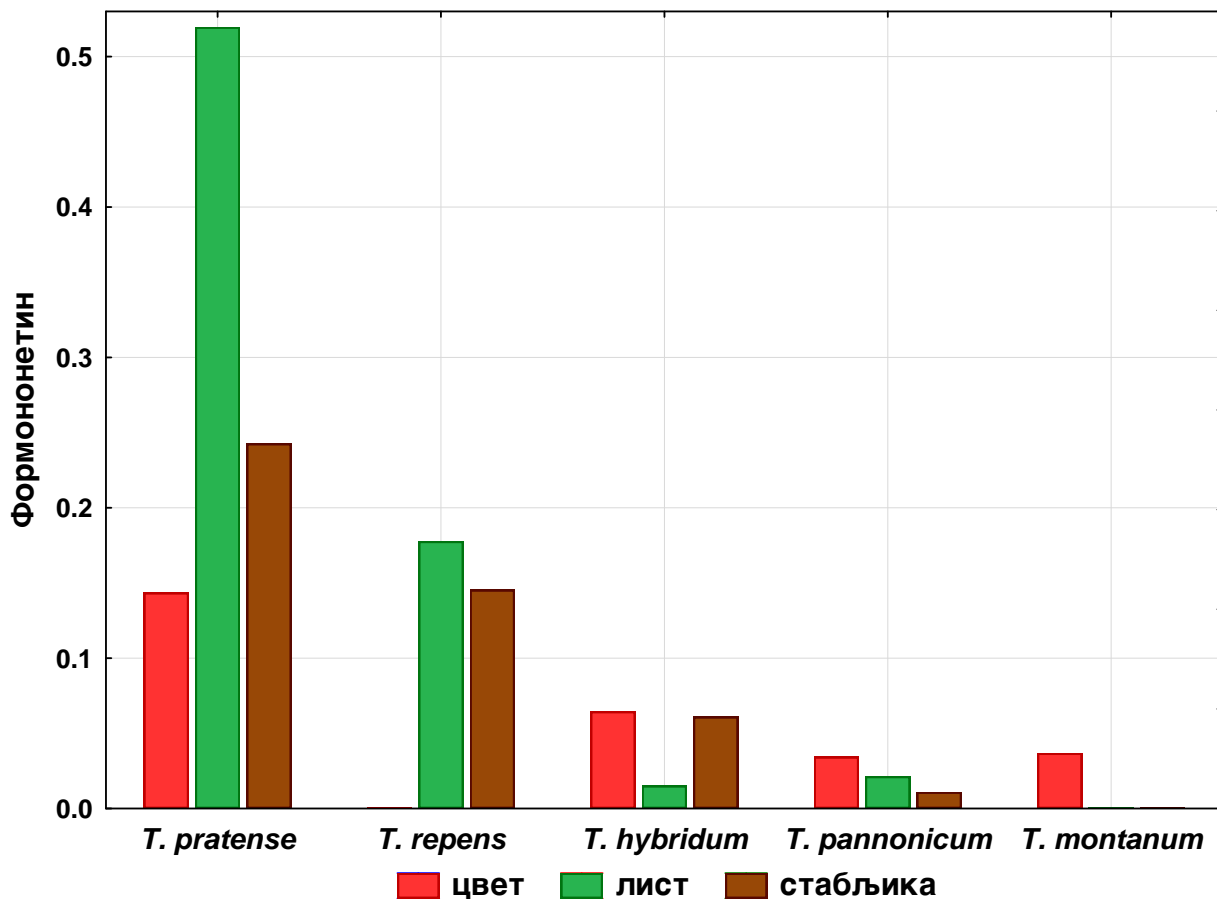
Највише генистеина је било присутано у материјалу црвене детелине, при чему количина у листу далеко премашује његов садржај у другим органима.

Поред црвене детелине нешто бољи садржај овог изофлавона уочава се код врсте *T. pannonicum* (Графикон 79). Као и код црвене детелине у листу је највиши садржај генистеина. Код беле детелине стабљика је једини део где се генистеин јавио у запаженијој количини, а код осталих врста ових хормона је веома мало.

По литературним наводима генистеин је најактивнији естрогенски изофлавон у људском организму који се изолује из црвене детелине, а након њега следе даидзеин и биоханин А (Liu et al., 2001; Burdette et al., 2002).

Формононетин

На графикону 80 приказан је упоредни преглед просечних вредности формононетина у органима пет врста рода *Trifolium* L.



Графикон 80. Садржај формононетина у биљним органима пет врста рода *Trifolium*.

Као и у случају претходних група изофлавона, формононетина највише има у црвеној детелини, и то у листу. У листовима и стабљници беле детелине такође је та количина нешто израженија, док је код осталих врста врло ниска.

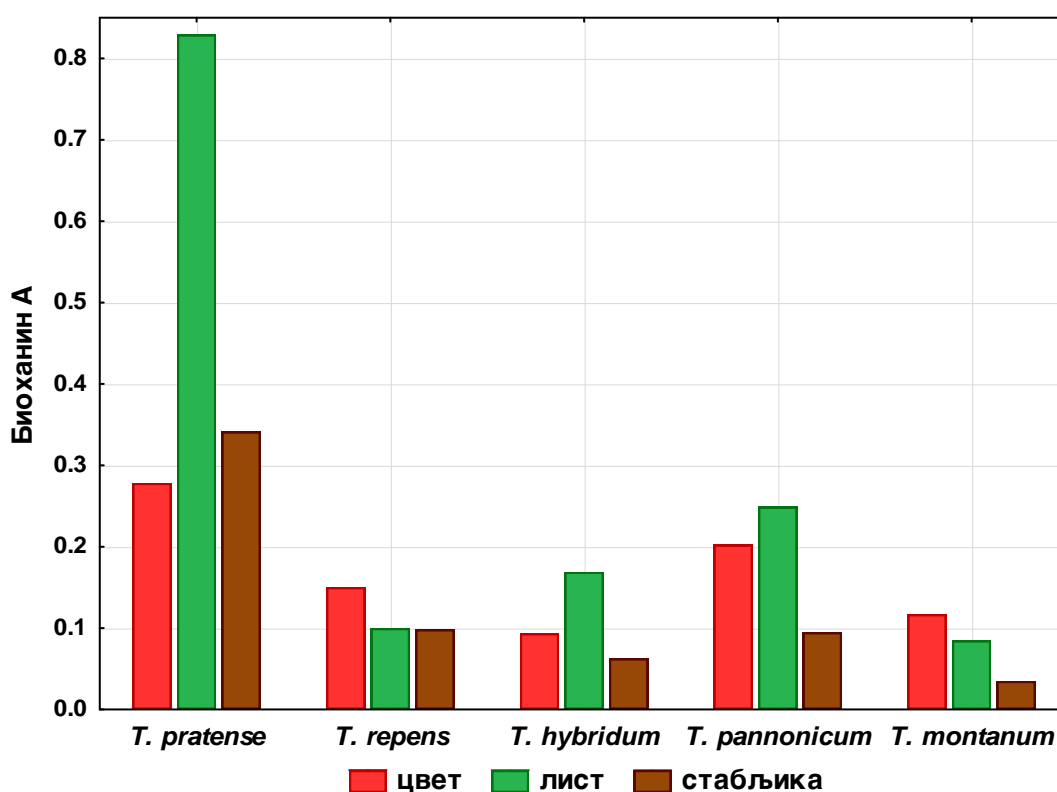
Биоханин А

На графикону 81 приказан је упоредни преглед просечних вредности биоханина А у органима пет врста рода *Trifolium* L.

Поредећи са осталим графиконима уочава се да је биоханин А најзаступљенији изофлавон у испитиваним врстама рода *Trifolium*. И овде

предњачи црвена детелина по укупном садржају, а лист је орган са далеко највише изолованих материја. На графикону се издваја и стабљика *T. pannonicum*. Што се тиче осталих врста бела детелина и *T. montanum* имају највише биоханина А у стабљици, а шведска детелина у листовима.

Количина изофлавона црвене детелине је највиша у листу што је у сагласности са резултатима које су добили Bursać (2013), као и Vasiljević et al. (2013). Биоханин А је најприсутнији изофлавон у листу што се такође поклапа са резултатима које је Bursać (2013) добила на диплоидним сортама црвене детелине.



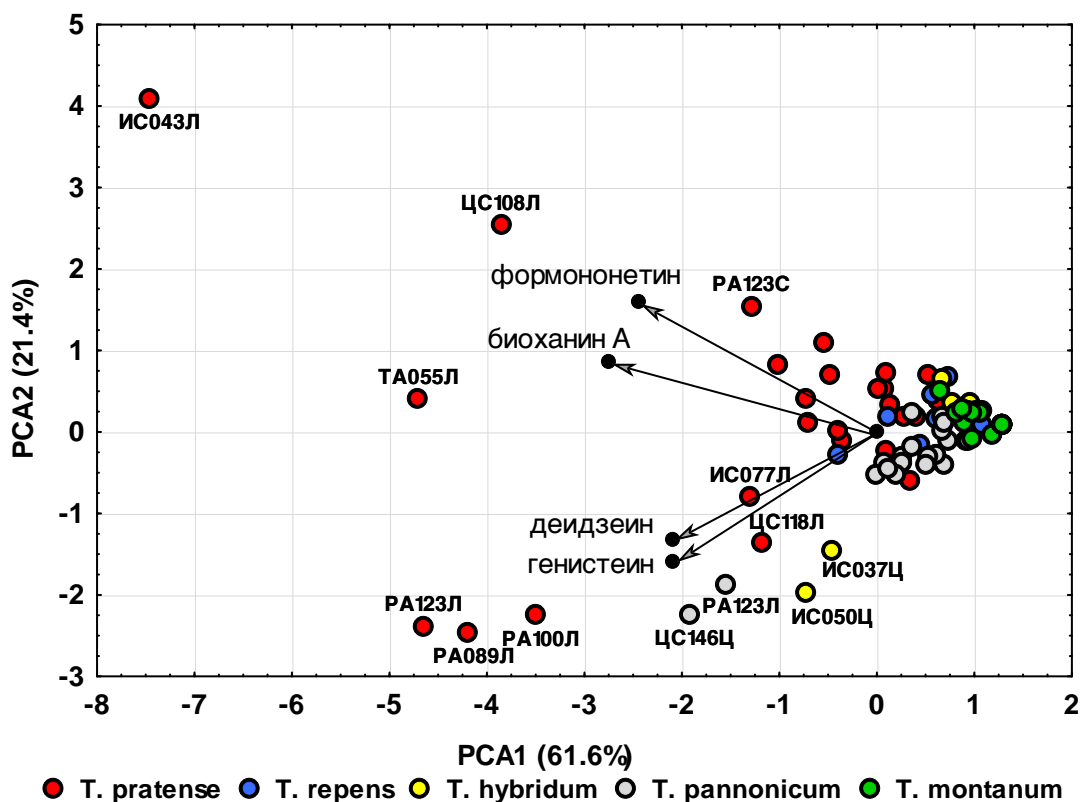
Графикон 81. Садржај биоханина А у биљним органима пет врста рода *Trifolium*.

На графикону 82 приказани су резултати упоредне анализе 5 врста роде *Trifolium* кроз садржај фитоестрогена у различитим биљним органима.

Анализа изофлавона методом главне компоненте

Анализом главне компоненте приказано је 82% варијабилности. Прва оса учествује са 60.7% а друга са 21.3% у варијабилности. Вектори свих фитоестрогена окренути су на леву страну графикана, ту је размештен мањи

број узорака али у којима је присутна виша концентрација изофлавона. Углавном ти узорци припадају органима црвене детелине, врсти која се иначе користи за изоловање фитоестрогена (Occhiuto et al., 2008). У горњем левом делу графикона смештена је популација ИС043 (црвена детелина), узорак из листа. Овом издвојеном положају доприноси висок садржај формононетина и биоханина А. Поред ње, популација ЦС108, такође узорак из листа има знатно виши садржај формононетина од осталих узорака док је у листовима популације ТА055 концентрација биоханина А значајна. Нешто нижи садржај ових изофлавона, али приметно виши у поређењу са остатком скупа пронађен је у стабљикама популације црвене детелине: РА123.



Графикон 82. Графички приказ пројекције четири изофлавона из различитих биљних делова 27 популација, 5 врста рода *Trifolium* уз помоћ прве две коресподентне осе.

У доњем левом делу издвојиле су се популације са већом количином даидзеина и генистеина које углавном припадају црвеној детелини. Највиши садржај ових изофлавона измерен је у листовима популација РА123, РА089 и РА100. Нешто нижи садржај јавио се у листовима популација ИС077 и ЦС118 црвене детелине, цветовима ЦС146 (*T. pannonicum*), ИС059 и ИС037 (*T. hybridum*) као и листу РА123 (*T. pannonicum*).

На супротној страни графикана највише се издвајају популације *T. montanum* (зелена боја), са веома ниским садржајем изофлавона. Остатак популација на десној страни заузима такав положај јер је такође садржај изофлавона врло низак или је пак испод лимита детекције.

Како је литературно поткрепљено, од до сада анализираних врста највиши садржај изофлавона присутан је у материјалу црвене детелине. Овим истраживањем то је потврђено. Најперспективнија популација за наредна истраживања је ИС043, док се лист показао као биљни орган са највишим садржајем изофлавона. По укупном садржају у надземном делу биљке, предњачи биоханин А у поређењу са осталим изофлавонима.

Поред црвене детелине, у материјалу шведске детелине и *T. rannonicum* - а измерене су запаженије количине изофлавона. Тако да уколико би се користио цео надземни део биљке или само лист, из шведске детелине би могао да се у медицинске сврхе издваја даидзеин а код *T. rannonicum* генистеин из листа. Ово је препоручљиво јер су то облици који се директно користе у људском организму везујући се за рецепторе уместо 17β естрадиола.

Паралелним праћењем морфолошких особина (зелена масе, висина биљака, број изданака) као и састава суве материје (садржаја сирових протеина, сирове целулозе, сирових масти, пепела и БЕМ-а) на првом месту су се издвојиле популације шведске детелине: ИС077, ИС037 и ИС086. Све популације беле детелине имају потенцијал да уђу у процес селекције; однос протеина и целулозе код ове врсте је убедљиво најповољнији, а долази и до повећања зелене масе током времена (изузев популације ЦС122). Код црвене детелине су се издвојиле популације које не само да имају добар принос и квалитет већ и потенцијално повољан утицај на здравље животиња кроз добру антиоксидативну активност (ИС077 и ИС042). Популације *T. rannonicum* одликовале су се високим потенцијалом приноса, али неповољнијим односом протина и целулозе у поређењу са осталим праћеним врстама. Ипак изузетно висока антиоксидативна активност код ове врсте препоручује је за употребу у производњи кабасте сточне хране. Код *T. montanum* је добијен изванредан квалитет биомасе, али и убедљиво најнижи принос. Како је ово врста која се дуги низ година одржава у природи, и врло је квалитетна, јако је пожељно њено присуства на травњацима.

7. Закључци

На основу резултата морфо-анатомских, хемијских анализа (као и статистичке обраде података), самониклих популација 5 врста рода *Trifolium* L., донети су следећи закључци:

Праћењем већег броја морфолошких, анатомских и хемијских параметара утврђено је постојање варијабилности како унутар врста тако и између врста.

Издвојене су популације које по једном или већем броју параметера могу да уђу у процес селекције.

Праћењем морфолошких особина издвајају се следеће популације: а) код црвене детелине – ИС077, РА100, ТА097; б) код беле детелине – ТА089 и ФГ025; ц) код шведске детелине – ИС077 и ИС037; д) код *T. rannonicum* – ЦС119 и ЦС146; е) код *T. montanum* – РА089, ЦС146 и ИС059. Ове популације су издвојене преваходно услед високих вредности најбитнијих агрономских особина – зелена маса и број изданака.

Морфолошке особине које су у високој позитивној корелацији су зелена маса са висином и бројем изданака, број интернодија и број бочних грана, дужина и ширина листа. Селекција било које од њих утицаће на позитивно корелисану особину.

Најбољи однос сирових протеина и сирове целулозе, као и највиши процентуални удео протеина (21.96%) а најнижи удео целулозе (21.67%) имала је у просеку бела детелина.

Код свих врста могу се издвојити популације са добрим односом протеина и целулозе (у праћеној фенолошкој фази) што их чини погодним за оплемењивање ради вишег квалитета суве материје: а) црвена детелина – ИС042 и ИС077; б) бела детелина – ТА089; ц) шведска детелина – ИС086; д) *T. rannonicum* – ЦС091; е) *T. montanum* – ТА097 и ТА098.

Веома добре просечне вредности протеина (17.37%) и целулозе (32.36%) су добијене код *T. rannonicum*-а. Како је то дугоживећа врста, са позитивним трендом у повећања масе и високом отпорношћу на неповољне услове средине будућа истраживања треба усмерити на праћење брзине промене квалитета са старењем биљке, као и сварљивошћу масе у *in vitro* условима. Иста врста би у смеши са травама била погодна за озелењавање ерозивних, нагнутих терена, сиромашних земљишта, као и високопланинских подручја у којима остале легуминозе слабије успевају.

Шведска детелина је остварила већи принос зелене масе по биљци у првом откосу као и бољи однос протеина и целулозе у поређењу са црвеном детелином која је најзаступљенији представник рода у привреди Србије.

Највише вредности дебљине листа добијене су код *T. rannonicum* (241.0 μm), док је највећа дебљина листа у нивоу централног нерва измерена код *T. montanum* (536.1 μm).

Упоредна анализа врста у односу на садржај секундарних метаболита и антиоксидативну активност показале је да највише укупних фенола (80.5 mg GA/g), флавоноида (165.5 mg Ru/g суве материје) и највишу AA (71 $\mu\text{g/mol}$) у просеку има *T. rannonicum*. Висок садржај укупних фенола измерен је и код црвене детелине (74.5 mg GA/g) као и код *T. montanum* (69.7 mg GA/g).

Анализе секундарних метаболита рађене су из узорка надземног дела биљке, наредна истраживања би требало усмерити у праћење садржаја биоактивних супстанци у појединим биљним деловима, превасходно код врсте *T. rannonicum*.

Највиши садржај изофлавона измерен је у листу црвене детелине (2.1178 mg/g - просек за све популације), при чему је доминантно једињење био биоханин А. Највиши садржај је измерен у популацији ИС043, у листу (2.0971 mg/g).

На основу морфолошких особина, посебно приноса као и квалитета крме издвојиле су се популације шведске детелине ИС077, ИС037 и ИС086. Узимајући у обзир и значај антиоксидативне активности за здравље и добробит

животиња, уз добре морфолошке карактеристике и неке особине квалитета за даља истраживања и укључивање у селекционе програме могу се препоручити популације *T. rannonicum* (ЦС146) и црвене детелине (ИС077).

За комерцијалну употребу и евентуално развијање фитопрепарата са високим садржајем фитоестрогена се могу препоручити популације црвене детелине (ИС043, РА123, РА089 и РА100), шведске (ИС059) али и *T. rannonicum* (РА123 и ЦС146).

8. Литература

- Abberton, M.T., Marshall, A.H. (2010): White clover. In: Boller, B., Posselt, U., Veronesi, F. (Eds.) Fodder Crops and Amenity Grasses. Handbook of Plant Breeding. New York: Springer, Vol. 5 pp. 457–476.
- Abberton, M.T., Marshall, A.H. (2005): Progress in breeding perennial clovers for temperate agriculture. *Journal of Agricultural Science* 143:117-135. doi:10.1017/S0021859605005101
- Abberton, M.T., Thomas, I. (2011): Genetic resources in *Trifolium* and their utilization in plant breeding. *Plant Genetic Resources* 9:38–44. doi: 10.1017/s1479262110000341
- Abberton, M.T., Warren, J.M. (2006): Genetic erosion and genetic ‘pollution’ in forage species and their wild relatives. In: Ford-Lloyd, B.V., Dias, S.R. and Bettencourt, E. (Eds.) Genetic Erosion and Pollution Assessment Methodologies. Proceedings of PGR Forum Workshop 5, Terceira Island, Autonomous Region of the Azores, Portugal, 8–11th September 2004. Published on behalf of the European Crop Wild Relative Diversity Assessment and Conservation Forum, by Bioversity International, Rome, Italy, p. 100.
- Aeschimann, D., Lauber, K., Michel, A. (2004): Flora alpina ein Atlas sämtlicher 4500 Gefässpflanzen der Alpen. Bern (Switzerland): Haupt.
- Akram, S., Amir, R.M., Nadeem, M., Sattar, M.U., Faiz, F. (2012): Antioxidant potential of black tea (*Camellia sinensis* L.) - A review. *Pakistan Society of Food Scientists and Technologists* 22(3): 128-132.
- Annicchiarico, P., Pagnotta, M.A. (2012): Agronomic value and adaptation across climatically contrasting environments of Italian red clover landraces and natural populations. *Grass and Forage Science* 67:597-605. doi: 10.1111/j.1365-2494.2012.00887.x

- Aşci, O.O. (2011): Biodiversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) collected from Turkey. I: Morpho-agronomic properties. African Journal of Biotechnology 10(64): 14073-14079.
- Ates, E. (2011): Some chemical and morphological properties of five clover species (*Trifolium* sp.) at different aspect of pasture in Belovets village (Razgrad), Bulgaria. International Journal of Plant Production 5(3): 255-262.
- Babić, S. (2015): Gentička varijabilnost agronomskih osobina selekcionisanih populacija livadskog vijuka (*Festuca pratensis* Huds.). Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet.
- Balcells, J., Aris, A., Serrano, A., Seradj, A.R., Crespo, J., Devant M. (2012): Effects of an extract of plant flavonoids (Bioflavex) on rumen fermentation and performance in heifers fed high-concentrate diets. Journal of animal science 90:4975-4984.doi: 10.2527/jas.2011-4955
- Barnes, S. (1997): The chemopreventive properties of soy isoflavonoids in animal models of breast cancer. Breast Cancer Research and Treatment 46:169-179.
- Başaran, U., Mut, H., Aşci, O.O., Acar, Z., Ayan, I. (2011): Variability in forage quality of Turkish grass pea (*Lathyrus sativus* L.) landraces. Turkish Journal of Field Crops 16(1):9-14.
- Beever, D.E. (1993): Ruminant animal production from forages: present position and future opportunities. In: Baker M.J. (Ed.) Grasslands for our World, SIR Publishing, Wellington, New Zealand, pp. 158–164.
- Bekuzarova, S. (2015): Native Species of Clover and Timothy-Grass in Mountain Phytocenosis: Application in Selection for the Creation of Economic Valuable Forms in ecological consequences of increasing crop productivity. In: Opalko, A., Weisfeld, L., Bekuzarova, S., Bome, N., Zaikov, G. (Eds.), Ecological consequences of increasing crop productivity, Plant Breeding and Biotic Diversity. Apple Academic Press, Inc. New Jersey, Toronto, pp. 3-11.

- Bekuzarova, S., Belyayeva, V. (2014): Introduced Forms of Red Clover (*Trifolium pratense* L.) of Hayfi eld-Pasture Direction of the Use on North Caucasus. In: Opalko, A., Weisfeld, L., Bekuzarova, S., Bome, N., Zaikov, G. (Eds.) Ecological consequences of increasing crop productivity, Plant Breeding and Biotic Diversity. Apple Academic Press, Inc. New Jersey, Toronto, pp. 11-22.
- Bennet, D., Morley, F.H.W., Axelsen, A. (1967): Bioassay responses of ewes to legume swards II. Uterine weight results from swards. Australian Journal of Agricultural Research 18:504.
- Bergonzi, M.C., Bilia, A.R., Gallori, S., Guerrini, D., Vincieri, F.F. (2001): Variability in the content of the constituents of *Hypericum perforatum* L. and some commercial extracts. Drug Development and Industrial Pharmacy 27: 491-497. doi: 10.1081/DDC-100105173
- Bermejo, R., Irigoyen, J.J., Santamaria, J.M. (2006): Short-term drought response of two white clover clones, sensitive and tolerant to O₃. Physiologia Plantarum 127:658–669. doi: 10.1111/j.1399-3054.2006.00695.x
- Biewer, S., Erasmi, S., Fricke, T., Wachendorf, M. (2009): Prediction of yield and the contribution of legumes in legume-grass mixtures using field spectrometry. Precision Agriculture 10: 128-144. doi: 10.1007/s11119-008-9078-9
- Bingefors, S., Akerberg, E. (1961): Swedish land-races of red clover. Euphytica 10:147-151.
- Black, A.D., Laidlaw, A.S., Moot, D.J., O’Kiely, P. (2009): Comparative growth and management of white and red clovers. Irish Journal of Agricultural and Food Research 48: 149–166.
- Blönder, C., Skropa, T., Johnsen, O., Polle, A. (2005): Freezing tolerance in two Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) progenies is physiologically correlated with drought tolerance. Journal of plant physiology 162(5):549-558.
- Bolhàr-Nordenkamp, H.R., Draxler, G. (1993): Functional leaf anatomy. In: Hall, D.O., Scurlock, J.M.O., Bolhàr-Nordenkamp, H.R., Leegood, R.C., Lang, S.P. (Eds.) Photosynthesis and production in a changing environment: A field and laboratory manual. Chapman and Hall, London, pp. 91-112.

- Boller, B., Vetelainen, M. (2009): A state of the art of germplasm collections for forage and turf species. XVIII Meeting of the Eucarpia Fodder Crops and Amenity Grasses Section, 10–14th May, La Rochelle - France.
- Boller, B., Green S.L. (2010): Genetic resources. In Boller, B., Posselt, U. K., Veronesi, F. (Eds.) Handbook of plant breeding „Fodder crops and amenity grasses”. Springer, pp. 13-39.
- Boller, B., Nösberger, J. (1987): Symbiotically fixed nitrogen from field-grown white and red-clover mixed with ryegrasses at low levels of N-15-fertilization. Plant and Soil 104:219-226
- Bonstedt, C. (1931): Pareya Blumengartnerei. P. Parey. Berlin.
- Booth, N.L., Overk, C.R., Yao, P., Burdette, J.E., Nikolic, D., Chen, S., Bolton, J.L., Breemen, R., Pauli, G.F., Farnsworth, N. (2006): The Chemical and Biological Profile of a Red Clover (*Trifolium pratense*) Phase II Clinical Extract. Journal of Alternative and Complementary Medicine 12(2):133–139. doi: 10.1089/acm.2006.12.133.
- Bowley, S.R., Taylor, N.L., Cornelius, P.L. (1984): Phenotypic Recurent Selection for stem lenght in „Kenstar” Red Clover. Crop Science 24(3):578-582.
- Brock, J.L., Albrecht, K.A., Tilbecht, J.C., Hay, M.J.M. (2000): Morphology of white clover during development from seed to clonal populations in grazed pastures. Journal of Agricultural Science 135:103-111.
- Broudiscou, L.P., Lassalas, B.(2000): Effects of *Lavandula officinalis* and *Equisetum arvense* dry extracts and isoquercitrin on the fermentation of diets varying in forage contents by rumen microorganisms in batch culture. Reproduction, Nutrition, Development 40:431–440.
- Brummer, E.C., Moore, K.J. (2000): Persistence of perennial cool-season grass and legume cultivars under continuous grazing by beef cattle. Agronomy Journal 92: 466–471.

- Burdette, J.E., Liu, J., Lantvit, D., Lim, E., Booth, N., Bhat, K.P., Hedayat, S., Van Breemen, R.B., Constantinou, A.I., Pezzuto, J.M., Farnsworth, N.R., Bolton, J.L. (2002): *Trifolium pratense* (Red clover) exhibits estrogenic effects in vivo in ovariectomized Sprague-Dawley rats. *J. Nutr.* 132:27–30.
- Bursać, M. (2013): Fitoestrogeni – analiza u prirodnim izvorima i dijetetskim suplementima. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet, Novi Sad.
- Buxton, D.R., Redfearn, D.D. (1996): Plant limitations to fiber digestion and utilization. 37th Annual Ruminant Nutrition Conference "New Developments in Forage Science Contributing to Enhanced Fiber Utilization by Ruminants", in *The Journal of Nutrition* 127(5):814-818.
- Caradus, J.R. (1990): The structure and function of white clover root systems. *Advances in Agronomy* 43:1-46
- Caradus, J.R. (1995): White clover. In: Smartt, J, Simmonds N.W. (eds). *Evaluation of Crop Plants*. Longmans Publishing, pp. 306–312.
- Caradus, J.R., Forde, M.B., Wewala, S., Mackay, A.C. (1990): Description and classification of a white clover (*Trifolium repens* L.) germplasm collection from southwest Europe. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 33: 367-375.
- Carlsen, S.C.K., Fomsgaard, I.S. (2008): Biologically active secondary metabolites in white clover (*Trifolium repens* L.) – a review focusing on contents in the plant, plant–pest interactions and transformation. *Chemoecology* 18:129 – 170. doi: 10.1007/s00049-008-0402-7
- Carlsen, S.C.K., Understrup, A., Fomsgaard, I.S., Mortensen, A. G., Ravnskov, S. (2007): Flavonoids in roots of white clover: interaction of arbuscular mycorrhizal fungi and a pathogenic fungus. *Plant and Soil* 302:33-43. doi: 10.1007/s11104-007-9452-9
- Carroll, K. K., Kurowska, E. M. (1995): Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. *Journal of Nutrition* 125(3):594-597.
- Chorlton, K.H., Thomas, I.D., Bowen, D.W., Carnide, V.P. (2000): A forage grass and legume plant collecting expedition in Portugal. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47: 157-162. doi: 10.1023/A:1008789925384

- Chu, Y.H., Chang, C.L., Hsu, H.F. (2000): Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 561-566.
- Çirak, C., Radušienė, J., Janulis, V., Ivanauskas, L., Çamaş, N., Ayan, K.A. (2011): Phenolic constituents of *Hypericum triquetrifolium* Turra (Guttiferae) growing in Turkey: variation among populations and plant parts. *Turkish Journal of Biology* 35:449-456. doi:10.3906/biy-1002-36
- Çirak, C., Radušienė, J., Sağlam, B. (2008): Variation of bioactive substances in *Hypericum montbretii* during plant growth. *Nat. Prod. Res.* 22: 246-252. doi:10.1080/14786410701642623
- Cnops, G., Antje, R., Saracutu, O., Malengier, M., Roldan-Ruiz, I. (2010): Morphological and Molecular Diversity of Branching in Red Clover (*Trifolium pratense*). In: Huyghe, C. (Ed.), *Proceedings of the Conference of the Eucarpia Fodder and Amenity Species Section: Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding*. Dordrecht, Heidelberg, London, New York, pp. 73-77.
- Collins, R.P., Abberton, M.T., Michaelson-Yeates, T.P.T., Marshall, A.H., Rhodes, I. (1998): Effects of divergent selection on correlations between morphological traits in whiteclover (*Trifolium repens* L.). *Euphytica* 101: 301–305.
- Conant, R., Paustian, K., Elliot, E. (2001): Grassland management and conversion into grassland: effects on soil carbon. *Ecological Applications* 11(2): 343-355. doi:10.3334/CDIAC/tcm.005
- Cook, R., Tiller, S.A., Mizen, K.A., Edwards, R. (1995): Isoflavonoid metabolism in resistant and susceptible cultivars of white clover infected with the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. *Journal of Plant Physiology* 146: 348–354.
- Cramer, D. (2003): *Advanced Quantitative Data Analysis*. Open University Press, Buckingham.
- Crampton, B. (1985): Native range clovers. In: Taylor, N.L. (Ed.), *Clover Science and Technology*. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 579–590.

- Cremoux, P., This, P., Leclercq, G., Jacqout, Y. (2010): Controversies concerning the use of phytoestrogens in menopause management: Bioavailability and metabolism. *Maturitas* 65:334-339.
- Dancer, W.S., Handley, J.F., Bradshaw, A.D. (1977): Nitrogen accumulation in kaolin mining wastes in Cornwall. *Plant and Soil* 48(2):303-314.
- Daugėlienė, N. (2000): Liming investigations in acid soils of pastures // *Žemdirbystė=Agriculture* 71: 73–87 (на литванском).
- Dear, B. S. (1982): The growth of *Trifolium montanum* in south-eastern Australia. Australian Agronomy Conference, 2nd AAC.
- Dewhurst, R.J., Fisher, W.J., Tweed, J. K.S., Wilkins, R.J. (2003): Comparison of grass and legume silages for milk production. Production responses with different levels of concentrate. *Journal of Dairy Science* 86(8): 2598-2611.
- Dias, P.M.B., Julier, B., Sampoux, J.P., Barre, P., Dall'Agnol, M. (2008): Genetic diversity in red clover (*Trifolium pratense* L.) revealed by morphological and microsatellite (SSR) markers. *Euphytica* 160:189–205. doi:10.1007/s10681-007-9534-z
- Dierbach J. H. (1839): Grundriss der allgemeinen ökonomisch-technischen Botanik, 2, Heilderberg (n.v.).
- Диклић, Н. (1972): *Trifolium* L. У.: Јосифовић, М. (Ед.), Флора Р. Србије ИВ, САНУ, Београд, стр. 424-471.
- Dinić, B., Lugić, Z., Stošić, M., Radović, J. (1994): Uticaj provenjavanja i nivoa kukuruzne prekrupе na kvalitet silaže crvene i bele deteline. *Biotehnologija u stočarstvu* 10(3-4):71-79.
- Drobná, J. (2009): Yield and forage quality of Romanian red clover (*Trifolium pratense* L.) varieties studied in Slovakia. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37(1): 204–208.
- Drobná, J., Jančovič, J. (2006): Estimation of red clover (*Trifolium pratense* L.) forage quality parameters depending on the variety, cut and growing year. *Plant Soil And Environment* 52(10): 468–475.

- Dorđević, N., Dinić, B. (2007): Hrana za životinje. Arandelovac, Srbija.
- Dorđević, N., Grubić, G., Jokić, Ž. (2003): Osnovi ishrane domaćih životinja - praktikum. Poljoprivredni fakultet, Beograd-Zemun.
- Ђорђевић, Н., Грубић, Г., Макевић, М., Јокић, Ж. (2009): Исхрана домаћих и гајених животиња. Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет.
- Ellison, N.W., Liston, A., Steiner, J.J., Williams, W.M., Taylor, N. (2006): Molecular phylogenetics of the clover genus (*Trifolium* – *Leguminosae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 688-705. doi:10.1016/j.ympev.2006.01.004
- Evans, G. (1957): The clover tradition in Wales. *J. Agric. Soc. Coll. Wales* 38:30-35.
- Fahn, A., Cutler, D.F. (1992): Xerophytes. *Encyclopedia of Plant Anatomy XIII* (3). Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart.
- Finne, M.A., Rognli, O.A., Schjelderup, I. (2000): Genetic variation in a Norwegian germplasm collection of white clover (*Trifolium repens* L.). I. Population differences in agronomic characters. *Euphytica* 112:33–44. doi: 10.1023/A:1003818727631
- Fotiadis, G., Vrahnakis, M.S., Merou, Th., Vidakis, K. (2010): Ecology, chorology and commonness of the *Trifolium* taxa in Greece. *Feddes Repertorium* 121(1-2): 66-80. doi:10.1002/fedr.200911129
- Fournier, P. (1961). *Les quatre flores de la France*. Editions Paul Leghevalier, Paris
- Frame, J., Charlton, J.F.L., Laidlaw, A.S. (1998): *Temperate forage legumes*. Cab International.
- Frame, J., Laidlaw, A.S. (1998): Managing white clover in mixed swards; principles and practice. *Pastos* 28:5–33.
- Francis, C.M., Millington, A.J., Bailey, E.T. (1967): The distribution of oestrogenic isoflavones in the genus *Trifolium*. *Australian Journal of Agricultural Research* 18:47–54.
- Fraser, J., McCartney, D., (2004): Fodder oats in North America: Chapter III. In: Suttie, J. M., Reynolds, S.G. *Fodder oats: a world overview*. FAO Plant production and protection Series N°33. FAO, Rome, Italy.

- Gatarić, D., Alibegović-Grbić, S., Lakić, Z., Svetko, V. (2002): Some characteristics of genotypes in red clover (*Trifolium pratense* L.) breeding. Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation, 27-30th May La Rochelle, France., 412-414.
- Gepts, P., Beavis, W.D., Brummer, E.C., Shoemaker, R.C., Stalker, H.T., Weeden, N.F., Young, N.D. (2005): Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed. Report of the Cross-legume Advances Through Genomics conference. Plant Physiology 137:1228-1235. doi: 10.1104/pp.105.060871
- Ghanbari, A., Sahraei, M. (2012). Determination of nutritional value in three forage species in three phonological stages in Sabalan rangelands, Ardabil, Iran. Journal of Rangeland Science 2:449–457.
- Gillett, J.M., Taylor, N.L. (2001): The World of Clovers. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Gođevac, D., Zdunić, G., Šavikin, K., Vajs, V., Menković, N. (2008): Antioxidant activity of nine *Fabaceae* species growing in Serbia and Montenegro. Fitoterapia 79:185–187. doi: 10.1016/j.fitote.2007.10.001
- Goldblatt, P., (1981): Cytology and phylogeny of *Leguminosae*. In: Polhill, R.M., Raven, P.H. (Eds.), Advances in Legume Systematics, Part 2. Royal Botanic Gardens, Kew, UK, pp. 427–463.
- Gostin, I.N. (2009): Air pollution effects on the leaf structure of some *Fabaceae* species. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 37(2): 57–63.
- Grady, D., Gebretsadik, T., Kerlikowske, K., Ernester, V., Petitti, D. (1995): Hormone replacement therapy and endometrial cancer risk: a meta-analysis. Obstetrics and gynecology 85: 304–313.
- Graham, H.P., Vance, C.P. (2003): Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. Plant Physiology 131: 872–877. doi: 10.1104/pp.017004
- Gravuer, K. (2004): Determinants of the introduction, naturalisation, and spread of *Trifolium* species in New Zealand. Msc thesis. Lincoln University.

- Greene, S.L., Gritsenko, M., Vandemark, G. (2004): Relating morphologic and RAPD marker variation to collection site environment in wild populations of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 51: 643–653. doi: 10.1023/B:GRES.0000024655.48989.ab
- Greuter, W. (1991): Botanical diversity, endemism, rarity, and extinction in the Mediterranean area: an analysis based on the published volumes of Med-Checklist. *Botanika Chronika* 10: 63-79.
- Guerrero C.J., Luigi Ciampi P.L., Castilla C.A., Medel S.F., Schalchli S.H., Hormazabal U.E., Bensch T.E., Alberdi L.M. (2010): Antioxidant capacity, antocyaninis, and total phenols of wild and cultivated berries in Chile. *Chilean journal of agricultural research* 70(4):537-544.
- Guines, F., Julier, B., Ecalle, C., Huyghe, C. (2003): Among and within-cultivar variability for histological traits of lucerne (*Medicago sativa* L.) stem. *Euphytica* 130:293–301. doi: 10.1023/A:1022885320517
- Guy, C.L. (2003): Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. *Canadian Journal of Botany* 81(12):1216–1223. doi: 10.1139/b03-130
- Hahn, T., Kettle, C., Ghazoul, J., Hennig, E., Pluess, A. (2013): Landscape composition has limited impact on local genetic structure in mountain clover, *Trifolium montanum* L. *Journal of Heredity* 104(6): 842-852. doi:10.1093/jhered/est058
- Hakim, L.F., Shankar, G.C., Girija, S. (2007): Chemical composition and antioxidant property of holy basil (*Ocimum sanctum* L.) leaves, stems, and inflorescence and their in vitro callus cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:9109-9117. doi:10.1021/jf071509h.
- Harborne, J.B., Williams, C.A. (2000): Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* 55:481-504.
- Harlan, J.R. (1970): Evolution of cultivated plants. In Frankel, O.H., Bennett, E. (Eds.) *Genetic resources in plants - their exploration and conservation*. Aldine, Chicago, USA. pp. 19-32.
- Harris, W., Rhodes, I., Mee, S.S. (1983): Observations on environmental and genotypic influences on the overwintering of white clover. *Journal of Applied Ecology* 20: 609-624.

- Hay, M.J.M. (1994): Autecology of white clover (*Trifolium repens* L.) with special reference to the effect of stolon burial on branch formation. PhD thesis, Massey University, New Zealand.
- Hay, M.J.M., Nes, P., Robertson, M.R. (1985): Effect of grazing management and season on nitrogen and phosphorus content of leaves and stolons of white clover in mixed swards. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 13:209-214.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R, Bobilya, D.J (2002): Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13: 572–584. doi:10.1016/S0955-2863(02)00208-5
- Herrick, J.W. (1997): Iroquois medical botany. PhD thesis. The State University of New York at Albany.
- Herrmann, D., Boller, B., Studer, B., Widmer, F., Kölliker, R. (2006). QTL analysis of seed yield components in red clover (*Trifolium pratense* L.). *Theoretical and Applied Genetic* 112: 536-545.
- Hertog, M.G., Feskens, E.J., Hollman, P.C., Katan, M.B., Kromhout, D. (1993): Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen elderly study. *Lancet* 342:1007-1011.
- Hofmann, R.W., Campbell, B.D., Bloor, S.J., Swinny, E.E., Markham, K.R., Ryan, K.G., Fountain, D.W. (2003): Responses to UV-B radiation in *Trifolium repens* L. - physiological links to plant productivity and water availability. *Plant Cell and Environment* 26: 603–612
- Hoglund, J.H., Crush, J.R., Brock, J.L., Ball, P.R., Carran, R.A. (1979): Nitrogen fixation in pasture XII. General discussion. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture* 7:45-51.
- Ignjatović, S., Dinić, B., Lugić, Z. (2003): Hranljiva vrednost crvene (*T. pratense* L.) i bele deteline (*T. repens* L.) u različitim fazama razvića u odnosu na potrebe preživara. *Savremena poljoprivreda* 52(3-4): 125-127.
- Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T., Yankova, T. (2005): Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96(1-2):145-150. doi:10.1016/j.jep.2004.08.033

- Jahufer, M.Z.Z., Cooper, M., Harch, B.D. (1997): Pattern analysis of the diversity of morphological plant attributes and herbage yield in a world collection of white clover (*Trifolium repens* L.) germplasm characterised in a summermoisture stress environment of Australia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 44: 289–300.
- Janchen, E. (1956-1960): *Catalogue florae Austriae*, Tom I, Heft. 2, Springer, Vien.
- Jensen, E., Peoples, M., Boddey, R., Gresshoff, P., Hauggaard-Nielsen, H., Alves, B., Morrison, M. (2012): *Agronomy for Sustainable Development* 32:329-364. doi: 10.1007/s13593-011-0056-7
- Kaufman, P.B., Duke, J.A., Briemann, H., Boik, J., Hoyt, J.E. (1997): A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *Journal of Alternative and Complementary Medicine* 3:7–12.
- Kazlauskas, S., Bagdonaite, E. (2004): Quantitative analysis of active substances in St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) by the high performance liquid chromatography method. *Medicina* 40:975-981.
- Khaled, M.M., Hashim A.H, Kazuhiro, O., Kasai, R., Yamasaki, K. (2000): Chalcanol glucosides from seeds of *Trifolium alexandrinum*. *Phytochemistry* 53: 401-404.
- Kicel, A., Wolbis, M. (2006): Phenolic acids in flowers and leaves of *Trifolium repens* L. and *Trifolium pratense* L. *Herba Polonica* 54:52–60.
- Kicel, A., Wolbis, M. (2011): Study on the phenolic constituents of the flowers and leaves of *Trifolium repens* L. *Natural Product Research* 26(21): 2050-2054. doi: 10.1080/14786419.2011.637217.
- Kjærsgaard, T. (2003): A plant that changed the world: the rise and fall of clover 1000-2000. *Landscape Research* 28(1):41-49. doi: 10.1080/01426390306531
- Klejduš, B., Vitamvasova, D., Kuban, V. (1999): Reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of isoflavones in plant materials after isolation by solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A* 839:261-263.

- Klejduš, B., Vitamvasova, D., Kuban, V. (2001): Identification of isoflavone conjugates in red clover (*Trifolium pratense*) by liquid chromatography-mass spectrometry after two-dimensional solid-phase extraction. *Analytica Chimica Acta* 450:81-97. doi:10.1016/S0003-2670(01)01370-8
- Knight, W.K., Watson V.H. (1977): Legume variety development and seed needs in the Southeastern United States. In: Loden H.D., Wilkenson, D. (Eds.). Proc. 23rd Farm Seed Conference, Kansas City, MO, American Seed Trade Association, Washington, DC, USA.
- Kojić, M., Mrfat-Vukelić, S., Dajić, Z., Đorđević-Milošević, S. (2004): Livade i pašnjaci Srbije. Institut za istraživanja u poljoprivredi Srbija.
- Kolodziejczyk-Czepas, J. (2012): *Trifolium* species-derived substances and extracts—Biological activity and prospects for medicinal applications. *Journal of Ethnopharmacology* 143:14-23. doi: 10.1016/j.jep.2012.06.048
- Kongkiatngam, P. (1991): Short-term biomass production of red clover (*Trifolium pratense* L.) and its inheritance. Msc thesis. Macdonald Campus of McGill University, Canada.
- Kongkiatngam, P., Waterway, M.J., Fortin M.F, Coulman, B.E.(1995): Genetic variation within and between two cultivars of red clover (*Trifolium pratense* L.): Comparisons of morphological, isozyme and RAPD markers. *Euphytica* 84: 237–246.
- Krenn, L., Unterrieder, I., Ruprechter, R. (2002): Quantification of isoflavones in red clover by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B* 777:123-128. doi: 10.1016/S1570-0232(02)00079-X
- Kroyer, G.Th. (2004): Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5:101–105. doi: doi:10.1016/S1466-8564(03)00040-7
- Krstić, L., Merkulov, Lj., Luković, J., Boza, P. (2008): Histological components of *Trifolium* L. species related to digestive quality of forage. *Euphytica*. 160:277-286.

- Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P.J., Jasapars, M., Nahar, L., Sarker, S.D. (2007): Screening seeds of some Scottish plants for free-radical scavenging activity. *Phytotherapy Research* 21:615-621.
- Lacis, G., Kaufmane, E., Trajkovski, V., Rashal, I. (2009): Morphological variability and genetic diversity within Latvian and Swedish sweet cherry collections. *Acta Universitatis Latviensis* 753:19–32.
- Lane, L.A., Ayres, J.F., Lovett, J.V. (1997): A review of the introduction and use of white clover (*Trifolium repens* L.) in Australia – significance for breeding objectives. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 37:831–839.
- LaRue, T.A., Patterson, T.G. (1981): How much nitrogen do legumes fix? *Advances in Agronomy* 34:15-38.
- Lazanyi, B. (1983): Heredity and evolution (na Mađarskom), Kriterion, Bukuresti.
- Lazarević, D., Dajić, Z., Vučković, S., Terzić, D. (2010): Production of livestock food on natural and sown grasslands. *Proceedings of XII International Symposium on Forage Crops of Republic of Serbia*, Kruševac 26-28. May. *Biotechnology in animal husbandry, spec. issue*, 26(1): 219-234.
- Ledgard, S.F., Brier, G.H., Upsdell, M.P. (1990): Effect of clover cultivar on production and nitrogen fixation in clover-ryegrass swards under dairy cow grazing. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 33:243-249.
- Lee, B.R., Kim, K.Y., Jung, W.J., Avice, J.C., Ourry, A., Kim, T.H. (2007): Peroxidases and lignification in relation to the intensity of waterdeficit stress in white clover (*Trifolium repens* L.). *Journal of Experimental Botany* 58:1271–1279. doi: 10.1093/jxb/erl280
- Leto, J., Knežević, M., Bošnjak, K., Maćešić, D., Štafa, Z., Kozumplik, V. (2004): Yield and forage quality of red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars in the lowland and the mountain regions. *Plant, Soil and Environment* 50(9):391-396.
- Lewis, G., Schrire, B., Mackinder, B., Lock, M. (2005): *Legumes of the world*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

- Lin, C.H., McGraw, R.L., George, M.F., Garrett, H.E. (2001): Nutritive quality and morphological development under partial shade of some forage species with agroforestry potential. *Agroforestry Systems* 53:269–281. doi: 10.1023/A:1013323409839
- Liu, J., Burdette, E., Xu, H., Gu, C., Van Breemen, R.B., Bhat, K.P., Booth, N., Constantinou, A.I., Pezzuto, J.M., Fong, H.H., Farnsworth, N.R., Bolton, J.L. (2001): Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. *J. Agric. Food Chem.* 49:2472–2479.
- Lugić, Z., Ignjatović, S., Lazarević, D., Radović, J. (1998): Investigation of agronomic important characteristic of cultivar and population of white clover (*T. repens* L.) in agroecological conditions of Serbia. Abstracts Lowland Grassland in Europe, Utilization and Development, La Coruna, Spain. p. 10
- Lugic, Z., Radovic, J., Dinic, B., Jevtic, G. (2005): An investigation of the basic morphological and agronomic traits of *Trifolium pannonicum* L. from the wild flora of Serbia. Proceedings of the 13th International Occasional Symposium of the European Grassland Federation Tartu, Estonia 29–31. August. Vol. 10, 368–372.
- Lugić, Z., Radović, J., Sokolović, D., Jevtić, G., Milenković, J. (2010): Variability and correlative relationships of important traits of red clover (*Trifolium pratense* L.) half-sib progenies. In Huyghe C. (Ed.). Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding. Dordrecht, Heidelberg, London, New York, 44:313–318.
- Lugić, Z., Radović, J., Sokolović, D., Jevtić, G., Vasić, T., Terzić, D. (2007): Genetička varijabilnost i heritabilnost najvažnijih svojstava crvene deteline (*Trifolium pratense* L.). XI simpozijum o krmnom bilju Republike Srbije sa međunarodnim učesćem „Održivi sistemi proizvodnje i iskorišćavanja krmnog bilja”, Novi Sad, 30. maj - 1. jun. Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, 44 (1): 39-45.
- Lugić, Z., Radović, J., Sokolović, D., Vasić, T. (2006): Rezultati i pravci oplemenjivanja višegodišnjih krmnih leguminoza i trava u Centru za krmno bilje. Zbornik abstrakata „Treći simpozijum selekcije za oplemenjivanje organizama društava genetičara Srbije i Četvrti naučnostručni simpozijum iz selekcije i semenarstva društva selekcionera i semenara Srbije” Zlatibor, 16-20. maj. Str. 12.

- Lugić, Z., Radović, J., Sokolović, D., Vasić, T., Jevtić G. (2009): Morphological traits and seed production potential of some wild *Trifolium* species in Serbia. *Alternative functions of grassland*. *Grassland Science in Europe* 14: 406-409.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A., Billot, J. (1990): *Fruit phenolics*. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Malaviya, D.R., Kumar, B., Roy, A.K., Kaushal, P., Tiwari, A. (2005): Estimation of variability of five enzyme systems among wild and cultivated species of *Trifolium*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52:967-976. doi: 10.1007/s10722-003-6127-0
- Mamphiswana, D.N., Mashela, W.P., Mdee, K.L. (2010): Distribution of total phenolic and antioxidant activity in fruit, leaf, stem and root of *Monsonia burkeana*. *African Journal of Agricultural Research* 5(18):2570-2575.
- Marković, J. (2015): Uticaj faze razvića na zastupljenost lignina i hranljivu vrednost lucerke i crvene deteline. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet - Univerzitet u Beogradu.
- Marshall, A.H., Williams, T.A., Abberton, M.T., Michaelson-Yeates, T.P.T., Olyott, P., Powell, H.G. (2004): Forage quality of white clover (*Trifolium repens* L.) × Caucasian clover (*T. ambiguum* M. Bieb.) hybrids and their grass companion when grown over three harvest years. *Grass and Forage Science* 59:91-99.
- McGregor, S.E. (1976): *Insect pollination of cultivated crop plants*. USDA Chapter 3: Clover and Some Relatives.
- McNeill, A.M., Wood, M. (1990): 15N estimates of nitrogen fixation by white clover (*Trifolium repens* L.) growing in a mixture with ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Plant and Soil* 128:265-273.
- Menković, N., Šavikin, K., Tasić, S., Zdunić, G., Stečević, D., Milosavljević, S., Vincek, D. (2011): Ethnobotanical study on traditional uses of wild medicinal plants in Prokletije mountains (Montenegro). *Journal of Ethnopharmacology* 133:97-107. doi: 10.1016/j.jep.2010.09.008
- Metcalfé, C.R., Chalk, L. (1957): *Anatomy of the dicotyledons*, Vol I. Clarendon press, Oxford, UK.
- Middleton, E., Kandawami, C., Theoharides, T.C. (2000): The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews* 52:673-751.

- Miladinović, M. (1972): Biološke osobine i privredna vrednost populacija crvene deteline (*Trifolium pratense*) u SR Srbiji. Arhiv za poljoprivredne nauke 91:36-73.
- Minnebruggen, A.V., Roldán-Ruiz, I., Van Dingenen, J., Van Bockstaele, E., Rohde, A., Cnops, G. (2012): Morphological and molecular characterization of branching in red clover (*Trifolium pratense*). In: Barth, S., Milbourne, D. (Eds) Breeding strategies for sustainable forage and turf grass improvement. Springer, Dordrecht, pp. 161-167.
- Minnebruggen, A.V., Roldán-Ruiz, I., Ruyter-Spira, C., Bouwmeester, H., Bockstaele, E., Cnops, G. (2014): Different aspects of shoot branching in red clover. In: Sokolović D., Huyghe C., Radović J. (eds.), Quantitative traits breeding for multifunctional grasslands and turf, Springer, pp. 279-283.
- Mittelholzer, A.S. (1956): An evaluation of certain agronomic characteristics of tetraploid dollard red clover. Msc thesis. McGill University, 1956.
- Molle, G., Decandia, M., Cabiddu, A., Landau, S.Y., Cannas, A. (2008): An update on the nutrition of dairy sheep grazing Mediterranean pastures. Small. Rumin. Res. 77: 93–112. doi: doi:10.1016/j.smallrumres.2008.03.003
- Mrfat-Vukelić, S., Lugić, Z., Sokolović, D., Radović, J., Pudlo, V. (2003): Species and infraspecies diversities from genus *Trifolium* in Serbian flora. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 39:224-226.
- Mueller-Harvey, I. (2013): Breeding for „Healthy Hay”: Can we optimise plant polyphenols in legumes for ruminant nutrition, animal health and environmental sustainability? In: Sokolović, D., Huyghe, C., Radović, J. (Eds.), Quantitative traits breeding for multifunctional grasslands and turf, Springer, pp. 299-313.
- Muntean, L. (2002): Studiul resurselor genetice de trifoi roșu (*Trifolium pratense* L.) în vederea ameliorării; Teză de doctorat, USAMV Cluj-Napoca.
- Muntean, L. (2006): The variability of the morphological traits of tetraploid red clover cultivars studied in Cluj-Napoca environmental conditions. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 34(1): 79-87.

- Muntean, L., Savatti, M. (2003): Phenotypic correlations between productivity elements of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Journal of Central European Agriculture* 4(2): 185–190.
- Murphy, P. (1982): Growth reserves in white clover. *An Foras Taluntais, Soils and Grassland Production Research Report*, 20.
- Naim, M., Gestetner, B., Bondi, A., Birk, Y. (1976): Antioxidative and activities of soybean isoflavones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 24:1174-1177.
- Newman, E. I., Miller, M.H. (1977): Allelopathy among some British grassland species. II. Influence of root exudates on phosphorus uptake. *Journal of Ecology* 65: 399–411.
- Nicholls, C., Altieri, M. (2013): Plant biodiversity enhances bees and other insect pollinators in agroecosystems. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 33:257-274. doi: 10.1007/s13593-012-0092-y
- Nyarady, A. (1959): *Trifolium* L. in Flora R. P. Romine. In: Savulescu, T. (Ed.). *Acad. Bucuresti*. V:212-316.
- Oberdorfer, E., Müller, T., Korneck, D. (1994): *Pflanzensoziologische Exkursionsflora. Uni-Taschenbücher*. Stuttgart (Germany): Ulmer.
- Occhiuto, F., Zangla, G., Samperi, S., Palumbo, D. R., Pino, A., De Pasquale, R., Circosta, C. (2008): The phytoestrogenic isoflavones from *Trifolium pratense* L. (Red clover) protects human cortical neurons from glutamate toxicity *Phytomedicine* 15:676–682. doi:10.1016/j.phymed.2008.04.007
- Oktay, M.I., Gülçinb, I., Küfrevioğlub, Ö.İ. (2003): Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologie* 36:263–271. doi:10.1016/S0023-6438(02)00226-8
- Oleszek, W., Stochmal, A. (2002): Triterpene saponins and flavonoids in the seeds of *Trifolium* species. *Phytochemistry* 61:165-170.
- Oleszek, W., Stochmal, A., Janda, B. (2007): Concentration of isoflavones and other phenolics in the aerial parts of *Trifolium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:8095–8100. doi: 10.1021/jf072024w

- Oliveira, J.A., López, J.E., Palencia, P. (2013): Agromorphological characterization, cyanogenesis and productivity of accessions of white clover (*Trifolium repens* L.) collected in Northern Spain. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 49(1):24–35.
- Paplauskiene, V., Dabkevičiene, G. (2012): A study of genetic diversity in *Trifolium hybridum* varieties using morphological characters and ISSR markers. *Žemdirbystė= Agriculture* 99(3):313–318.
- Pederson, G.A., Quesenberry, K.H., Smith, G.R., Guteva, Y.K. (1999): Collection of *Trifolium* sp. and other forage legumes in Bulgaria. *Genetic Resources and Crop Evolution* 46:325-330. doi: 10.1023/A:1008796325591
- Pelikán, J., Hybl, M. a kolektiv (2012): Rostliny čeledi Fabaceae LINDL. (bobovité) České republiky. *Zemědělský výzkum, spol. sr. o. Troubsko.* (на чешком)
- Pelikán, J., Vymyslický, T., Nedělník, J., Gottwaldová, P., Rotrekl, J. (2005): Increasing the diversity of forage crop communities. *Proceedings of the 13th International Occasional Symposium of the European Grassland Federation Tartu, Estonia* 29–31. August. 10:569-572.
- Pérez, A. J., Kowalczyk, M., Simonet, A.M., Macías, F.A., Oleszek, W., Stochmal, A. (2013): Isolation and structural determination of triterpenoid glycosides from the aerial parts of alsike clover (*Trifolium hybridum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry* 61:2631-2637. doi: 10.1021/jf305541e
- Petrović, M., Dajić-Stevanović, Z., Sokolović, D., Radović, J., Milenković, J., Marković, J. (2014): Study of red clover wild populations from the territory of Serbia for the purpose of pre-selection. *Genetika* 46(2):471-484. doi: 10.2298/gensr1402471p
- Pirhofer-Walzl, K., Rasmussen, J., Høgh-Jensen, H., Eriksen, J., Søgaard, K., Rasmussen, J. (2012): Nitrogen transfer from forage legumes to nine neighbouring plants in a multi-species grassland. *Plant and Soil* 350:71–84. doi: 10.1007/s11104-011-0882-z
- Pobłocka-Olech, L., Krauze-Baranowska, M., Głód, D., Kawiak, A., Łojkowska, E. (2010): Chromatographic analysis of simple phenols in some species from the genus *Salix*. *Phytochem Anal.* 21(5):463-469. doi: 10.1002/pca.1220.

- Pokorny, J. (2008): Application of phenolic antioxidants in food products. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. 7(8):3320–3324.
- Popović, C., Tucak, M., Čupić, T., Stjepanović, M. (2007): Variability of red clover populations evaluated by morpho-agronomic traits. *Agronomski glasnik* 6/2007.
- Primorac, J., Kozumplik, V., Barba, L., Knezović, Z., Bolarić, S. (2007): Morphological and agronomic characteristics of croatian red clover (*Trifolium pratense* L.) breeding populations tolerant to abiotic stress. VI. Alps-Adria Scientific Workshop Obervellach, Austria. 35(2):953-956. DOI: 10.1556/CRC.35.2007.2.197
- Qader, W.S., Abdulla, A.M., Chua, S.L., Najim, N., Zain, M.M., Hamdan, S. (2011): Antioxidant, total phenolic content and cytotoxicity evaluation of selected malaysian plants. *Molecules*. 16:3433-3443. doi:10.3390/molecules16043433.
- Quettier, D.C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M.C., Cayin, J.C., Bailleul, F., Trotin, F. (2000): Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology* 72:35-42. doi:10.1016/S0378-8741(00)00196-3
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouysegou, L. (2011): Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Natural Products* 50:586-621. doi:10.1002/anie.201000044
- Radušienė, J., Bagdonaite, E., Kazlauskas, S. (2004): Morphological and chemical evaluation on *Hypericum perforatum* and *H. maculatum* in Lithuania. *Acta Horticulturae (ISHS)* 629: 55-62.
- Rasmussen, J., Soegaard, K., Pirhofer-Walzl, K., Eriksen, J. (2012): N₂-fixation and residual N effect of four legume species and four companion grass species. *European journal of agronomy* (36): 66-74. doi:10.1016/j.eja.2011.09.003
- Renda, G., Yalçınb, F.N., Nemutlu, E., Akkol, E.K., Süntar, İ., Keleş, H., Ina, H., Çalış, İ., Ersöz, T. (2013): Comparative assessment of dermal wound healing potentials of various *Trifolium* L. extracts and determination of their isoflavone contents as potential active ingredients. *Journal of Ethnopharmacology* 148:423-432. doi: 10.1016/j.jep.2013.04.031

- Reynaud, J., Guilet, D., Terreux, R., Lussignol, M., Walchshofer, N. (2005): Isoflavonoids in non-leguminous families: an update. *Natural Product Reports* 22: 504–515.
- Ribas-Agustí, A., Gratacós-Cubarsí, M., Sárraga, C., García-Regueiro, J.A., Castellari, M. (2011): Analysis of eleven phenolic compounds including novel p-coumaroyl derivatives in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) by ultra-high-performance liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometry detection. *Phytochemical Analysis* 22(6):555-563. doi:10.1002/pca.1318
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., Paganga, G. (1997): Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends of Food Science* 2:152-159.
- Richards, R. (2011): A survey of the genetic diversity in populations of white clover, *Trifolium repens* with a focus on South-Western Europe. Msc thesis. Massey University, Palmerston North, New Zealand.
- Rosso, B.S., Pagano, E.M. (2005): Evaluation of introduced and naturalised populations of red clover (*Trifolium pratense* L.) at Pergamino EEA-INTA, Argentina. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52: 507–511. doi: 10.1007/s10722-005-0777-z
- Ruzin, S.E. (1999): Plant microtechnique and microscopy. 322 pp. Oxford, New York: Oxford University Press.
- Sabudak, T., Guler, N. (2009): *Trifolium* L. - a review on its phytochemical and pharmacological profile. *Phytotherapy research* 23:439-446. doi: 10.1002/ptr.2709.
- Sahin-Demirbag, N., Kendir, H., Khawar, K.M., Aasim M. (2008): In vitro regeneration of Turkish endemic *Trifolium pannonicum* Jacq. *subsp. elongatum* (Willd). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 22:921-924.
- Saloniemi, H., Kallela, K., Saastamoinen, I. (1993): Study of the phytoestrogen content of goat's rue (*Galega orientalis*), alfalfa (*Medicago sativa*) and white clover (*Trifolium repens*). *Agricultural Science in Finland* 2:517–524.

- Saloniemi, H., Wähälä, K., Nykänen-Kurki, P., Kallela, K., Saastamoinen, I. (1995): Phytoestrogen content and estrogenic effect of legume fodder. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine* 208: 13–17.
- Sartelet, H., Serghat, S., Lobstein, A. (1996): Flavonoids extracted from Fonio millet (*Digitaria exilis*) reveal potent antithyroid properties. *Nutrition* 12:100–106.
- Schleuning, M., Niggemann, M., Becker, U., Matthies, D. (2009): Negative effects of habitat degradation and fragmentation on the declining grassland plant *Trifolium montanum*. *Basic and Applied Ecology* 10:61–69. doi:10.1016/j.baae.2007.12.002
- Scholefield, D., Jewkes, E., Bol, R. (2007): Nutrient cycling budgets in managed pastures in nutrient cycling in terrestrial ecosystems. *Soil Biology* 10:215-255.
- Schultz, G., Böhrer, I. (1971): Flavones of *Trifolium pannonicum*. *Phytochemistry* 10:3315.
- Schultze-Motel, J. (1986): Ed. Mansfeld s Verzeichniss landwirtschaftlich odergartnerisch kultieverter Pflanzenarten. Akademie V., Berlin (n.v.)
- Sears, P.D., Goodall, V.C., Jackman, R.H., Robinson G.H. (1965): Pasture growth and soil fertility, VIII The influence of grasses, white clover, fertilisers, and the return of herbage clippings on pasture production of an impoverished soil. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 13:101-108.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (1999): Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152-178. doi: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1
- Siqueira, J.O., Nair, M.G., Hammerschmidt, R., Safir, G.R. (1991): Significance of phenolic compounds in plant-soil-microbial systems. *Critical Reviews in Plant Sciences Journal* 10:63–121.
- Sivesind, E., Seguin, P. (2005): Effects of the environment, cultivar, maturity, and preservation method on red clover isoflavone concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:6397-402.

- Skovmand, B., Reynolds, M.P., Delacy, I.H. (2001): Mining wheat germplasm collections for yield enhancing traits. *Euphytica* 119:25-32.
- Smith, J.S.C., Smith, O.S. (1989): The description and assessment of distances between inbred lines of maize: II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica* 34:151-161.
- Smith, R.R., Taylor, N.L., Bowley, S.R. (1985): Red clover. In: Taylor NL (Ed.) *Clover Science and Technology*. The American Society of Agronomy, Madison, pp. 457-470.
- Snowball, R., Mahdere, A., Tesfay, E., Aberra, M., Carr, R.M., Antuono, M. (2012): Exploring the wider potential of forage legumes collected from the highlands of Eritrea. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*: 1–12. doi: 10.1017/S1479262112000494
- Spencer, J. (2008): Flavonoids: modulators of brain function?. *British journal of nutrition* 99(1):60-77.
- Sprent, J.I. (2001): *Nodulation in Legumes*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Станковић, М. (2012): Биолошки ефекти секундарних метаболита врста рода *Teucrium* L. флоре Србије. Докторска дисертација. Универзитет у Крагујевцу, Природно - математички факултет.
- Stanković, S.M., Topuzović, M., Solujić, S., Mihailović, V. (2010): Antioxidant activity and concentration of phenols and flavonoids in the whole plant and plant parts of *Teucrium chamaedrys* L. var. *glanduliferum* Haussk. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(20):2092-2098.
- StatSoft, Inc. (2011). STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- Stebler, P.G. (1913): *Die besten Futterpflanzen*. 4 Aufl. (n.v.)
- Stevanović, M.B., Janković, M. (2001): *Ekologija biljaka sa osnovama fiziološke ekologije biljaka*. NNK Beograd.
- Stevanović, V., Tan, K., Petrova, A. (2007): Mapping the endemic flora of the Balkans – a progress report. *Bocconea* 21:131-137.

- Svirskis, A., Juknevičius, S. (2006): Breeding of red clover varieties for conventional and organic agriculture. *Žemdirbystė-Agriculture* 93:314-321.
- Szabo, T. (1987): Microevolution in *Trifolium* L. Sect. *Stenostoma* M. B. I. biometry of spontaneous and cultivated *Trifolium pannonicum* Jacq. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 17:47-75.
- Tanaka, Y., Sasaki, N., Ohmiya, A. (2008): Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal* 54:733-749. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x
- Tangpu, V., Temjenmongla, K., Yadav, A.K., (2004): Anticestodal activity of *Trifolium repens* extract. *Pharmaceutical Biology* 8:656–658. doi: 10.1080/13880200490902617
- Tatić, B., Petković, B. (1998): *Morfologija biljaka*. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva, Beograd.
- Tavlas, A., Halil Yolcu, H., Tan, M. (2009): Yields and qualities of some red clover (*Trifolium pratense* L.) genotypes in crop improvement systems as livestock feed. *African Journal of Agricultural Research* 4(7):633-641.
- Taylor, N. (1968): Polycrossprogeny tenting of clover (*Trifolium pratense* L.). *Crop. Sci.* 8(4):451–454.
- Taylor, N. (2008): A century of clover breeding developments in the United States. *Crop Science* 48:1-13. doi: 10.2135/cropsci2007.08.0446
- Taylor, N., Quesenberry, K. (1996): *Red clover science*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Taylor, N.L. (1985): *Clover science and technology*. Number 25 in the series *Agronomy*. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Tekao, T., Watanabe, N., Yagi, I., Sakata, K. (1994): A simple screening method for antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 58: 1780-1783.

- Toebes, A.H., De Boer, V., Verkleij, J.A., Lingeman, H., Ernst, W.H. (2005): Extraction of isoflavone malonylglucosides from *Trifolium pratense* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53:4660-4666.
- Toker, Z. (2009): Variation of total hypericin, phenolic and flavonoid compounds in *Hypericum triquetrifolium* during its phenological cycle. Pharmaceutical Biology 47:285-288.
- Tomić, D.D., Stevović, V., Đurović, D., Stanisavljević, S.R. (2014): Effect of cobalt application on seed production in red clover (*Trifolium pratense* L.). Journal of agricultural science and technology. 16(3):517-526.
- Tomić, Z., Đukić, D., Katić, S., Vasiljević, S., Mikić, A., Milić, D., Lugić, Z., Radović, J., Sokolović, D., Stanisavljević, R. (2005): Genetic resources and improvement of forage plants in Serbia and Montenegro. Acta Agriculturae Serbica 10(19): 3-16.
- Tosti, N., Negri, V. (2002): Efficiency of three PCR-based markers in assessing genetic variation among cowpea (*Vigna unguiculata subsp. unguiculata*) landraces. Genome 45:268-275.
- Tsao, R., Papadopoulos, Y., Yang, R., Young, J.C., Mcare, K. (2006): Isoflavone profiles of red clovers and their distribution in different parts harvested at different growing stages. Journal of Agricultural and Food Chemistr 54:5797–5805. doi: 10.1021/jf0614589.
- Tucak, M., Čupić, T., Popović, S., Stjepanović, M., Gantner, R., Meglič, V. (2009): Agronomic evaluation and utilization of red clover (*Trifolium pratense* L.) germplasm. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 37(2):206 - 210.
- Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., Ric de Vos, C. H., Capanoglu, E., Bovy, A., Battino, M. (2008): Antioxidants, phenolic compounds and nutritional quality of different strawberry genotypes. J. Agric. Food Chem. 56 (3): 696–704. doi: 10.1021/jf0719959
- Vaseva, I., Akiscan, Y., Simova-Stoilova, L., Kostadinova, A., Nenkova, R., Anders, I., Feller, U., Demirevska, D. (2012): Antioxidant response to drought in red and white clover. Acta Physiologiae Plantarum 34:1689–1699. doi: 10.1007/s11738-012-0964-4.

- Vasiljević, S., Ćupina, B., Krstić, Đ., Pataki, I., Katanski, S., Milošević, B. (2011): Seasonal changes of proteins, structural carbohydrates, fats and minerals in herbage dry matter of red clover (*Trifolium pratense* L.). *Biotechnology in animal husbandry* 27:1543 - 1550.
- Vasiljević, S., Bursać, M., Cvejić, J., Karagić, Đ., Milić, D., Katanski, S., Milošević, B. (2013): Phytoestrogen content of Serbian red clover cultivars. *Proceeding of the International Scientific Conference „Biologically active substances of plants - studying and application” dedicated to the 55th anniversary of the Department of Plant Biochemistry and Biotechnology of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus and to the 75th anniversary of academician of the NAS of Belarus V.N. Reshetnicov, Minsk, 29-31 may 2013.* pp: 318-319.
- Vetter, J. (1995): Isoflavones in different parts of common *Trifolium* species. *J. Agric. Food Chem.* 43:106-108.
- Vickery, P.J., Wheeler, J.L., Mulcahy, C. (1987): Factors affecting the hydrogen cyanide potential of white clover (*Trifolium repens* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* 38: 1053–1059.
- Vilčinskas, E. (2010): Assessment of clover species (*Trifolium* spp.) diversity in Lithuania: agrobiological and genetic aspects. PhD thesis, Lithuanian university of agriculture.
- Vilčinskas, E., Dabkevičienė, G. (2010): Dobilų (*Trifolium* spp.) rūšių derliaus struktūros ir sausųjų medžiagų kokybės tyrimai. *Žemės ūkio mokslai* 17(1–2): 18–24. (на литванском)
- Vilčinskas, E. Dabkevičienė, G. (2009): Pirmųjų auginimo metų dobilų (*Trifolium* spp.) rūšių kiekybiniai ir kokybiniai požymiai. *Žemdirbystė-Agriculture* 96(4): 170–180. (на литванском)
- Vitkus, A. (1993): Vertingos pašarui *Medicago* L., *Trifolium* L. ir *Anthyllis* L. genčių rūšys ir jų biologinės ypatybės. *Gamtos mokslų habilitacinis darbas.* Vilnius 427. (на литванском)
- Vlaisavljević, S., Kaurinović, B., Popović, M., Đurendić-Brenesel, M., Vasiljević, B., Cvetković, D., Vasiljević, S. (2014): *Trifolium pratense* L. as a potential natural antioxidant. *Molecules* 19:713-725. doi:10.3390/molecules19010713

- Vondráčková, M. (2008): Možnosti biologické rekultivace v lokalitě Okrouhlá Radouň. Diplomová práce (на чешком).
- Вучковић, С. (2004): Травњаџи. Универзитет у Београду–Пољоприврени факултет.
- Wachendorf, M., Büchter, M., Trott, H., Taube F. (2004): Performance and environmental effects of forage production on sandy soils. II. Impact of defoliation system and nitrogen input on nitrate-leaching losses. *Grass and Forage Science* 59(1): 56–68. doi: 10.1111/j.1365-2494.2004.00401.x
- Wang, C.Q., Chang, L.R. (2008): Enhancement of superoxide dismutase activity in the leaves of white clover (*Trifolium repens* L.) in response to polyethylene glycol-induced water stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 30:841–847. doi: 10.1007/s11738-008-0189-8.
- Watson, L. E., Sayed-Ahmed, H., Badr, A. (2000): Molecular phylogeny of old world *Trifolium* (*Fabaceae*), based on plastid and nuclear markers. *Plant Systematics and Evolution* 224:153-171.
- Whyte, R.O., Nelsson-Leisner, G., Trumble, H.C. (1953): Legumes in agriculture. Agric. Stud. 21. Fao, Rome.
- Widdup, K.H., Ryan, D.L. (1994): Development of G50 alsike clover for the South Island high country. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association* 56:107-111.
- Williams, W.M. (1987): Genetics and breeding. In: Baker M.J., Williams W.M. (Eds): *White Clover*. CAB International, Wallingford, pp. 343–419.
- Williams, W.M., Easton, H.S., Jones, C.S. (2007): Future options and targets for pasture plant breeding in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 50: 223–248. doi: 10.1080/00288230709510292.
- Wong, E., Latch, G.C.M. (1971): Effect of fungal diseases on phenolic contents of white clover. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 14:633–638.
- Wu, Q., Wang, M., Simon, J.E. (2003): Determination of isoflavones in red clover and related species by high-performance liquid chromatography combined with ultraviolet and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 1016(2):195–209.

- Yochum, L., Kushi, L.H., Meyer, K., Folsom, A.R. (1999): Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women. *American Journal of Epidemiology* 149:943–949.
- Yoshida, L.C., Gamon, A.J., Andersen, C.P. (2001): Differences in above - and below-ground responses to ozone between two populations of a perennial grass. *Plant and Soil* 233: 203–211. doi: 10.1023/A:1010321509628
- Zahradníková, L., Schmidt, Š., Stanislav, S., Lukáš, J. (2007): Determination of the antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaves extract. *Journal of Food and Nutrition Research* 46:15-19.
- Zielinska, M., Zapotoczny, P., Białobrzewski, I., Zuk-Golaszewska, K., Markowska, M. (2012): Engineering properties of red clover (*Trifolium pratense* L.) seeds. *Industrial Crops and Products* 37:69-75. doi: 10.1016/j.indcrop.2011.12.002
- Zohary, M., Heller, D. (1984): The genus *Trifolium*. Israel Academy of Science and Humanities. Jerusalem, Israel.
- Zorić, L. (2008): Komparativna morfo-anatomska analiza roda *Trifolium* L. 1737. (*Fabales, Fabaceae*). Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu – Prirodno-matematički fakultet.

9. Прилози

Прилог 1: Дескриптор врсте *Trifolium montanum* L. – Скуп особина

Ознака	Редни број	Особина	Скала	Вредности	Scale	Descriptor	Примедба	Note
1. Морфолошке особине /Morphological descriptor								
1.1 Биљка/ Plant								
1	1.1.1	Хабитус	1 полегли 2 усправни		1 prostrate 2 erect	Plant habit	Рана фаза цветања (40 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)
2	1.1.2	Зелена маса биљке	1 мала 2 средња 3 велика	<15g 15 – 30g >30g	1 small 2 intermediate 3 high	Green mass per plant	Рана фаза цветања (40 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)
1.2 Стабљика/ Stem								
3	1.2.1	Висина	1 ниска 2 средња 3 висока	<15cm 15-35cm >35cm	1 short 2 intermediate 3 long	Stem lenght	Рана фаза цветања (40 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)
4	1.2.2	Длаке на стабљници	1 присутне 2 одсутне		1 absent 2 present	Stem hairiness	Рана фаза цветања (40 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)
5	1.2.3	Боја стабљике	1 светло зелена 2 зелена 3 зелено жута 4 тамно зелена 5 зелено плава		1 light green 2 green 3 green yellow 4 dark green 5 with anthocyan	Stem colour	Рана фаза цветања (40 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)

6	1.2.4	Број интернодија по стабљници	1 низак 2 средњи 3 висок	<2 2-3 >3	1 short 2 intermediate 3 long	Internodes number per stem	Рана фаза цветања (20 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)
7	1.2.5	Број бочних грана	1 низак 2 средњи 3 висок	<2 2-3 >3	1 short 2 intermediate 3 long	Number of lateral branches	Рана фаза цветања (20 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)

1.3 Лист/Leaf

8	1.3.1	Дужина средње лиске у тролиску	1 мала 2 средња 3 велика	<2cm 2 – 4cm >4cm	1 small 2 intermediate 3 high	Length of middle lamina in leaflet	Рана фаза цветања (40 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)
9	1.3.2	Ширина средње лиске у тролиску	1 мала 2 средња 3 велика	<1cm 1 – 1.5cm >1.5cm	1 small 2 intermediate 3 high	Width of middle lamina in leaflet	Рана фаза цветања (40 биљака)	Early phase of flowering (40 plants)
10	1.3.3	Боја листа	1 зелена 2 тамно зелена		1 green 2 dark green	Leaf color	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants
11	1.3.4	Обод средње лиске у тролиску	1 цео 2 назубљен		1 entire 2 dentate	Margine of middle lamina in leaflet	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants
12	1.3.5	Врх средње лиске у тролиску	1 оштар 2 туп 3 заобљен		1 acuminate 2 obtuse 3 rounded	Apex of middle lamina in leaflet	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants

1.4 Залисци/Stipules

13	1.4.1	Присуство залистака	0 одсутни 1 присутни		0 absent 1 present	Stipules presence	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants
14	1.4.2	Облик залистака	1 троугласт са оштрим врхом 2 троугласт са тупим врхом		1 triangular with acuminate apex 2 triangular with obtuse apex	Stipules shape	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants
15	1.4.3	Боја залистака	1 провидно зелена 2 тамно зелена		1 transparent green 2 dark green	Stipules - colour	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants

1.5 Цвасти/Inflorescence

16	1.5.1	Дужина цвасти	1 кратка 2 средња 3 дуга	< 1.4cm 1.4 – 2cm >2cm	1 short 2 intermediate 3 long	Inflorescence length	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants
17	1.5.2	Ширина цвасти	1 кратка 2 средња 3 дуга	<1.2cm 1.2 – 1.4cm >1.4cm	1 short 2 intermediate 3 long	Inflorescence width	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants
18	1.5.3	Број цветића у цвасти	1 мали 2 средњи 3 велики	<150 150-200 >200	1 small 2 intermediate 3 high	Inflorescence – number of flowers	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants
19	1.5.4	Боја цвасти	1 бела 2 бела-светло роза		1 white 2 white – light pink	Inflorescence - colour	Рађено на 40 биљака	Worked on 40 plants

1.6 Семе/Seed

20	1.6.1	Дужина семена	1 мало 2 средње 3 велико	<1mm 1 – 2mm >2mm	1 small 2 intermediate 3 high	Seed length	Рађено на 50 семена	Worked on 50 seed
21	1.6.2	Ширина семена	1 мало 2 средње 3 велико	<0.5mm 0.5 – 0.7mm >0.7mm	1 small 2 intermediate 3 high	Seed width	Рађено на 50 семена	Worked on 50 seed
22	1.6.3	Боја семена	1 жута 2 тамно жута 3 светло црна 4 тамно црна		1 yellow 2 dark yellow 3 light black 4 dark black	Seed colour	Рађено на 50 семена	Worked on 50 seed
23	1.6.4	Облик семена	1 овалан са тупим врхом 2 овалан са зашиљеним врхом		1 oval with acuminate apex 2 oval with obtuse apex	Seed shape	Рађено на 50 семена	Worked on 50 seed

24	1.6.5	Тежина 1000 семена	1 мала 2 средња 3 велика	<0.6300 g 0.6300 g >0.6300 g	1 small 2 intermediate 3 high	1000 seed weight		
25	1.6.6	Површина семена	1 глатка 2 хрпава		1 glabrous 2 prickled	Seed surface	Рађено на 50 семена	Worked on 50 seed

2. Биолошке особине/ Biological characters

2.1 Болести и штеточине/ Pest and diseases

26	2.1.1	<i>Uromyces glycyrrhizae</i> spp.	0 нема или није нађена 1 врло мало 2 мало 3 средње 4 високо 5 јако високо	0% 1-20% 21-40% 41-60% 61-80% 81-100%	0 none or not found 1 very low 2 low 3 intermediate 4 high 5 very high	<i>Uromyces glycyrrhizae</i> spp.	Симптоми: мале тачке на листовима	Symptoms: little rusted spots on leaves
27	2.1.2	<i>Rhizoctonia violacea</i> spp.	0 нема или није нађена 1 врло мало 2 мало 3 средње 4 високо 5 јако високо	0% 1-20% 21-40% 41-60% 61-80% 81-100%	0 none or not found 1 very low 2 low 3 intermediate 4 high 5 very high	<i>Rhizoctonia violacea</i> spp.	Симптоми: црвене или љубичасте тачке на корену	Symptoms: red or violet spots on root surface
28	2.1.3	<i>Sitona lineatus</i> spp.	0 нема или није нађена 1 врло мало 2 мало 3 средње 4 високо 5 јако високо	0% 1-20% 21-40% 41-60% 61-80% 81-100%	0 none or not found 1 very low 2 low 3 intermediate 4 high 5 very high	<i>Sitona lineatus</i> spp.	Симптоми: изгрицкани листови	Symptoms: leaves browsing

3. Принос и квалитет крме/Herbage yield and quality

29	3.1	Просечан принос самониклих генотипова	1 врло мали 3 мали 5 средњи 7 висок 9 јако висок	≤210g 210,1-230g 230,1-250g 250,1-270g >270,1g	1 very low 3 low 5 intermediate 7 high 5 very high	Average values of wild genotypes	15 генотипова	15 genotypes
30	3.2	Просечан принос сирових протеина	1 врло мали 3 мали 5 средњи 7 висок 9 јако висок	≤ 14 g 14-16 g 16-18g 18-20 g >20 g	1 very low 3 low 5 intermediate 7 high 9 very high	Average values of crude proteins	На почетку цветања	In stage of begining of flowering
31	3.3	Просечни принос сирове целулозе	1 врло мали 3 мали 5 средњи 7 висок 9 јако висок	<21 g/kg 21-24 g/kg 24 -27 g/kg 27-30 g/kg >30 g/kg	1 very low 3 low 5 intermediate 7 high 5 very high	Average values of crude fiber	На почетку цветања	In stage of begining of flowering

4. Анатомија листа/Leaf anatomy

32	4.1	Просечна дебљина средње лиске	1 мала 2 средња 3 велика	>217 μm 217-219μm >219μm	1 small 2 intermediate 3 high	Average values of middle leaflet lamina	15 генотипова	15 genotypes
33	4.2	Број слојева палисадног ткива	1 мала 2 средња 3 велика	<3 3 >3	1 small 2 intermediate 3 high	Number of palisade mesophyll leyers	15 генотипова	15 genotypes

Дескриптор врсте *T. montanum* L. настао је као основа за израду документације, опис и процену узорака колекција ове врсте. Сам списак особина садржи 33 карактеристике.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписана: Петровић П. Мирјана

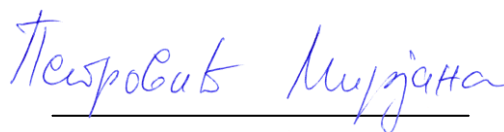
број индекса: 07/49

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом: Морфо-анатомска и хемијска својства природних популација врста рода *Trifolium* L.

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршила ауторска права и користила интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда



У Београду, 02. 12. 2015. године

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Петровић П. Мирјана

Број индекса: 07/49

Студијски програм: Ратарство и повртарство

Наслов рада: Морфо-анатомска и хемијска својства природних популација врста рода *Trifolium* L.

Ментор: Проф. др Зора Дајић-Стевановић

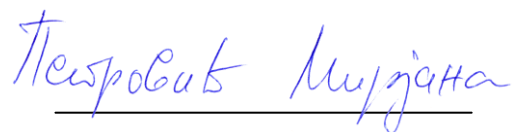
Потписана: Петровић П. Мирјана

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала за објављивање на порталу Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда



У Београду, 02. 12. 2015. године

Изјава о ауторству

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом „Морфоанатомска и хемијска студија природних популација врста рода *Trifolium* L.“ која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучила.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

Потпис докторанда

Петровић Миљана

У Београду, 02. 12. 2015. године

10. Биографија

Мирјана Петровић рођена је 11.10.1982. године у Брису. Основну и средњу школу завршила је у Брису. Дипломирала је 2007. године на Биолошком факултету у Београду, на смеру Екологија и заштита животне средине, са просечном оценом 8.83 и оценом 10 за одбрањени дипломски рад из области екологије биљака: „Инвазивна биљна врста *Reynoutria japonica* L. - стање, проблеми, перспективе”.

Као истраживач приправник се 2008. године запослила у Институту за крмно биље у Крушевцу; исте школске године уписала је докторске студије на Пољопривредном факултету у Земуну из области Пољопривредне ботанике, на смеру за Ратарство и повртарство, под вођством ментора проф. др Зоре Дајић Стевановић. У звање истраживач сарадник изабрана је 16. марта 2011. године. Предмет њеног истраживања су природне травњачке фитоценозе, њихов диверзитет, временска и просторна динамика, популациона екологија одабраних врста крмних биљака као и њихови генетички ресурси.

Учествовала је на пројекту из области технолошког развоја Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије број 20048 „Унапређење генетичког потенцијала крмних биљака и технологија производње и искоришћавања сточне хране у функцији развоја сточарства” од 2008. до 2011. године. Од 2011. учествује на пројекту из области технолошког развоја, Министарства просвете и науке Републике Србије-ТР 31057: „Побољшање генетичког потенцијала и технологија производње крмног биља у функцији одрживог развоја сточарства”.

Коаутор је више радова публикованих у међународним и домаћим часописима и излаганих на међународним и националним скуповима.

Удата, мајка двоје деце.