

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број захтева: 33/6-6.2.
Датум: 24.02.2016.

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. став. 5. тачка 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12 и 172/13), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

Кандидат **МИРЈАНА (Павле) ПЕТРОВИЋ**, студент докторских студија на студијском програму Пољопривредне науке, модул ратарство и повртарство, пријавила је докторску дисертацију под називом: „Морфоанатомска и хемијска студија природних популација одабраних врста рода *Trifolium* L.”,

из научне области Ратарство и повртарство.

Универзитет је дана 12.11.2013. године, својим актом број 61206-2256/4-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: „**Морфоанатомска и хемијска својства природних популација врста рода *Trifolium* L.**”.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 24.06.2015. године, одлуком Факултета број 290/9-6.6., у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област, установа у којој је запослен

1. др Зора Дајић Стевановић, редовни професор, Пољопривредна ботаника, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
2. др Саво Вучковић, редовни професор, Крмно биље и травњаци, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
3. др Јасмина Радовић, виши научни сарадник, Крмно биље, Институт за крмно биље у Крушевцу,
4. др Сања Васиљевић, виши научни сарадник, Генетика и оплемењивање биљака, Институт за ратарство и повртарство у Новом Саду,
5. др Зоран Лугић, научни саветник, Крмно биље, Институт за крмно биље у Крушевцу.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 24.02.2016. године.

В. Д. ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 33/6-6.2.
Датум: 24.02.2016. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 38. Правилника о правилима академских студија другог и трећег степена, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 24.02.2016. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднела **МИРЈАНА ПЕТРОВИЋ**, дипл. биолог и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«МОРФО-АНАТОМСКА И ХЕМИЈСКА СВОЈСТВА ПРИРОДНИХ ПОПУЛАЦИЈА ВРСТА РОДА *Trifolium* L.»**.

II Универзитет је дана 12.11.2013. године, својим актом број 61206-2256/4-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

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-Belgrade 46 (2): 471-484.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
В. Д. ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Зори Дајић Стевановић, редовном професору, Институту за ратарство и повртарство, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Датум: 11. 01. 2016.

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације Мирјане Петровић, дипломираног биолога

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду бр. 290/9-6.6. од 24. 06. 2015. године, именовани смо у Комисију за оцenu и одбрану урађене докторске дисертације кандидата Мирјане Петровић, дипломираног биолога, под насловом: „**Морфо-анатомска и хемијска својства природних популација врста рода *Trifolium* L.**“

Комисија у саставу: др Зора Дајић Стевановић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Саво Вучковић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Јасмина Радовић, виши научни сарадник Института за крмно биље у Крушевцу, др Сања Васиљевић, виши научни сарадник Института за ратарство и повртарство у Новом Саду и др Зоран Луѓић, научни саветник Института за крмно биље у Крушевцу, на основу прегледа и анализе докторске дисертације подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Мирјане Петровић написана је у складу са Упутством за обликовање штампане и електронске верзије докторске дисертације Универзитета у Београду, на 248 страница куцаног текста, са укупно 82 графикона и 93 табеле, као и три посебна прилога. Испред основног текста налази се резиме са кључним речима на српском и енглеском језику, као и садржај. У докторској дисертацији је цитирано и у литератури наведено 268 референци. У оквиру дисертације садржане су изјаве о ауторству, о истоветности штампане и електронске верзије и изјава о коришћењу, као и биографија кандидата.

Дисертација се састоји из следећих поглавља: 1. УВОД (Преглед литературе), са четири већа потпоглавља (стр. 1-28), 2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА (стр. 29), 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА (30-45), 4. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА (стр. 46-161), 5. ДИСКУСИЈА (стр. 162-187), 6. УПОРЕДНА АНАЛИЗА СА ДИСКУСИЈОМ (стр. 188-212), 7. ЗАКЉУЧЦИ (стр. 213-215), 8. ЛИТЕРАТУРА (стр. 216-243), 9. ПРИЛОЗИ (стр. 244-248).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Поглавље Увод (Преглед литературе) је кандидат представила кроз четири већа потпоглавља и то: *Генетички ресурси биљака, стање и перспективе; Опште карактеристике фамилије Fabaceae, Опште карактеристике рода Trifolium и Секундарни метаболити и биолошки активне материје код врста рода Trifolium.*

У првом потпоглављу истакнуто је да у генетичке ресурсе крмног биља спадају сорте, локалне гајене популације, екотипови и дивљи сродници. Кандидат је дала преглед стања генетичких ресурса крмног биља, као и правце у оплемењивању крмног биља у нашој земљи. У другом потпоглављу су наведене најважније опште ботаничке карактеристике, распрострањење, диверзитет и значај фамилије махунарки, док су у последњем потпоглављу описане морфолошке и анатомске особине рода *Trifolium*, географско порекло рода, типови станишта, значај врста рода *Trifolium* у пољопривреди, као и квалитет и примена ових врста као сточне хране.

Посебно су представљене ботаничке, фито-географске и еколошке особине, као и значај и историјат употребе врста рода *Trifolium* које су испитиване у оквиру докторске дисертације и то: *Trifolium pratense* L. (црвена детелина), *T. repens* L. (бела детелина), *T. hybridum* L.

(шведска детелина), *T. pannonicum* Jacq. (мађарска, панонска детелина) и *T. montanum* L. (планинска детелина).

У последњем потпоглављу кандидат је довела у везу акумулацију секундарних метаболита са њиховим адаптивним значајем за биљке и истакла улогу фенолних једињења и флавоноида, посебно изофлавонона као биолошки активних материја. Међу изофлавононима, који се сматрају тзв. „фитоестрогенима“ услед структурне сличности са људским хормоном 17 β -естрадиолом, код врста фамилије *Fabaceae* су најзаступљенији формонетин и биоханин А, док се у мањој количини јављају даидзеин и генистеин, који представљају деметиловане облике прва два изофлавонона, који уместо метил групе садрже хидроксилну групу и, тако имају изражену биолошку активност.

2.2. Циљеви истраживања у овој докторској дисертацији били су: а) испитивање варијабилности популација у оквиру пет одабраних врста рода *Trifolium*, као и између врста, поређењем морфолошких, анатомских и хемијских карактеристика, б) одабирање најперспективнијих популација за будуће селекционе програме, а у вези са испољавањем пожељних морфолошких особина, приноса и квалитета крме, као и садржаја активних материја – укупних фенола, флавоноида и посебно, изофлавона, в) издвајање популација и врста са најбољим антиоксидативним својствима, као и популација са највећом количином изофлавона у одређеним биљним деловима, за наредна проучавања и примену као фитофармацеутских сировина. *Кључне хипотезе* у дисертацији Мирјане Петровић биле су: а) да ће веома дивергентан материјал прикупљен са различитих типова станишта и надморских висина, испољити значајно различите морфо-анатомске особине, као и различите карактеристике приноса и квалитета крме, и б) да ће одређене популације показати антиоксидативне ефекте и одговарајући садржај секундарних метаболита, укључујући изофлаване и да ће, тиме, моћи да се издвоји материјал за будућа фитохемијска и фармаколошка испитивања.

2.3 Материјал и методе истраживања

Трогодишња истраживања су обухватила сакупљање и инвентаризацију самониклих популација, постављање пољског двогодишњег огледа и анализу свих праћених особина. Пољски оглед са аутохтоним популацијама рода *Trifolium* је постављен на имању Института за крмно биље у Глободеру (149 m.n.v.) код Крушевца. Свака популација је расађена у посебан ред, где су биљке биле сађене на размаку од 60 cm, са размаком између редова од 60 cm, изузев код беле детелине где су биљке сађене на растојању од 1m, са размаком између редова од 1 m. Број биљака у реду је био 38, а код беле детелине 20. За све анализе је узимано 15 биљака по популацији.

У оквиру дисертације, кандидат је испитивала морфолошке, анатомске и хемијске карактеристике биљака (хемијски параметри квалитета крме и фитохемијска испитивања фенолног комплекса, нарочито садржаја изофлавона) код укупно 38 популација од 5 врста рода *Trifolium*. *Морфолошки параметри* обухватили су особине као што су: висина појединачних биљака (cm), број изданака (изражен по биљци), дужина и ширина средње лиске у тролисту, број бочних грана по стабљиви, број интернодија по стабљиви и мерење суве и зелене масе по биљци (g). За испитивање *анатомских параметара* узорковани су листови у фази пуног цветања биљака, који су фиксирани у 50% етанолу. Микроскопски препарати за потребе светлосне микроскопије су припремљени парафинском методом (Ruzin, 1999). Парафински калупи су сечени на микротому LEICA SM 2000 R, а добијени пресеци дебљине 6-10µm обојени су сафранином и алцијан плавим. Микроскопски препарати су посматрани на светлосном микроскопу LEICA DMLS и фотографисани дигиталном камером LEICA DC 300, док су мерења анатомских пресека листова вршена уз помоћ софтверског пакета IM 1000. Анатомским параметрима је обухваћена: висина епидермиса лица и наличја листа, дебљина палисадног ткива, дебљина сунђерастог ткива,

дебљина целог листа, као и дебљина листа у нивоу главног нерва. Све вредности су изражаване у μm . Показатељи *квалитета суве масе* утврђени су применом Weende система анализе: садржај сировог пепела (одређен сувим спаљивањем на 550°C), садржај сирових протеина (одређен индиректно, преко количине укупног азота, модификацијом по Bremner-у), садржај сирове целулозе (одређен сукцесивном анализом узорка разблаженим раствором H_2SO_4 у NaOH), садржај сирових масти (одређен екстракцијом по Soxhlet-у) и безазотне екстрактивне супстанце (израчунаване одузимањем од 1000g суве супстанце збира сировог пепела, сирових масти, сирових протеина и сирове целулозе). *Фитохемијска испитивања* (квалитативна и квантитативна анализа секундарних метаболита) укључила су одређивање: укупног садржаја фенолних једињења (спектрофотометријском методом према Singleton et al., 1999), садржаја флавоноида (спектрофотометријском методом према Quettier et al., 2000), као и одређивање изофлавона екстракцијом на чврстој фази (SPE-Solid Phase Extraction) уз помоћ HPLC. *Антиоксидативна активност* биљних екстраката одређивана је као способност неутрализације 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH) радикала, применом спектрофотометријске методе према Tekao et al. (1994), са модификацијама према Kumarasamy et al. (2007).

Сви добијени подаци су обрађени уз помоћ дескриптивне статистике, анализе варијансе (АНОВА) и пратећих post hoc тестова, као и применом одговарајућих мултиваријационих статистичких метода – мултиваријациона анализа варијансе (MANOVA), метода главних компоненти (Principal Components Analysis - PCA) и Кластер анализа, а у зависности од карактера података који су добијени у експерименту.

2.4. Резултати

Резултати су написани концизно и јасно и документовани прегледним табелама, графиконима и сликама. Поглавље Резултати је подељено у пет потпоглавља, где се свако од њих односи на особине појединачних испитиваних врста рода *Trifolium*.

У првом потпоглављу разматране су особине 10 популација црвене детелине (*Trifolium pratense*). Једнофакторијалном анализом варијансе показано је да су се по свим морфолошким особинама популације статистички значајно разликовале, како у 2010., тако и у 2011. години. Анализом главних компоненти је показано да постоји генерално смањење вредности свих морфолошких особина и приноса код највећег броја популација у 2011. години. Анализом хемијског састава суве материје издвојене су популације богате протеинима и минералним материјама, које би могле ући у процес оплемењивања, као што су PA100, ЦС 118, ИС077, PA123 и ЦС108. На анатомском пресеку средње лиске тролиста уочило се постојање једнослојног епидермиса лица и наличја, двослојног палисадног ткива, као и сунђерастог ткива од седам слојева ћелија неправилног облика. Анализом секундарних метаболита показано је да се популације међусобно разликују по садржају укупних фенола и флавоноида, као и јачини антиоксидативне активности узорка, која се кретала од $152 \mu\text{g mol}^{-1}$ (популација PA100) до $656 \mu\text{g mol}^{-1}$ (TA055). Анализа

фитоестрогена показала је да су сва четири испитивана изофлавона идентификована код самониклих популација црвене детелине, као и да се њихов садржај разликовао у цвету, листу и стабљници. Лист се одликовао највишим садржајем изофлавона (од $0,13 \text{ mg g}^{-1}$ до чак $0,94 \text{ mg g}^{-1}$), а укупан највиши садржај изофлавона у целокупном надземном делу имала је популација РА089, а затим популација ИС043.

У другом потпоглављу, наведене су особине беле детелине (*Trifolium repens*). Због специфичности хабитуса ове врсте, у 2011. години праћени су и пречник бокора, као и број цвасти на јединкама свих популација. Једнофакторијалном анализом варијансе праћене су све особине у обе године истраживања код 5 популација, тако да је статистички значајна разлика у 2010. години између популација постојала у висини биљака, а у 2011. години статистички значајна разлика постојала је у зеленој маси, дужини листа, ширини листа и броју цвасти. Анализом хемијског састава суве материје све популације беле детелине су показале одличан квалитет, са просечно 21,96% сирових протеина и 21,67% сирове целулозе. Код свих популација је запажен висок садржај минералних материја и задовољавајући садржај сирових масти. На пресеку средње лиске тролиста уочени су једнослојни епидермис лица и наличја листа, двослојно палисадно ткиво као и вишеслојно сунђерасто ткиво. Нису запажене статистички значајне разлике у укупној дебљини листова, већ је разлика између популација констатована у висини епидермиса лица и наличја листа, као и у дебљини сунђерастог ткива. Показано је да су се популације разликовале у садржају секундарних метаболита, као и да су се одликовале веома ниском антиоксидативном активношћу (од $257 \mu\text{g mol}^{-1}$ до $919 \mu\text{g mol}^{-1}$). У свим биљним деловима констатовано је присуство појединих изофлавона, али у целини, њихов садржај је био низак. Садржај даидзеина у цвету, као и садржај генистеина у листу, био је испод лимита детекције.

У трећем потпоглављу, наведене су особине шведске детелине (*Trifolium hybridum*) код 6 испитиваних популација. Једнофакторијалном анализом варијансе показано је да су се популације статистички значајно разликовале у обе године истраживања по свим морфолошким особинама, изузев ширине листа. Као и код популација црвене детелине, уочен је тренд опадања вредности скоро свих особина у 2011. години, што је и очекивано, узимајући у обзир дужину живота саме врсте. Анализом хемијског састава суве материје уочене су солидне вредности сирових протеина (просечно 19,56%) и сирове целулозе (просечно 22,81%), као и висок садржај минералних материја. На анатомском пресеку средње лиске тролиста уочени су једнослојни епидермис лица и наличја листа, двослојно палисадно ткиво и сунђерасто ткиво, изграђено из већег броја слојева ћелија неправилног облика. Листови се нису статистички значајно разликовали по укупној дебљини ($219,4\text{--}260,6 \mu\text{m}$), али се јавила разлика у висини оба слоја епидермиса и дебљини сунђерастог ткива. Популације су се међусобно разликовале по садржају укупних фенола и флавоноида (у распону од $55,3\text{--}79,8 \text{ mg Ru/g}$), као и јачини антиоксидативног ефекта узорка. Код ове врсте констатовано је присуство све четири групе изофлавона. У листовима и стабљници садржај даидзеина и генистеина био је испод лимита детекције.

У четвртом потпоглављу наведене су особине панонске детелине (*Trifolium pannonicum*). Од почетних 10 популација, у анализу морфолошких особина, састава суве материје и анатомије листа укључено је 5 популација. Још две додатне популације су приложене у резултатима анализа садржаја секундарних метаболита и јачине антиоксидативне активности, јер су показале изванредно добре вредности, које се могу упоредити са лековитим врстама које се користе као лекови или додаци у исхрани. У резултатима је наведен и степен преживљавања популација у 2011. години. Једнофакторијалном анализом варијансе показано је да се популације међусобно статистички значајно разликују ($p < 0.01$) у 2010. години по зеленој маси, висини, броју бочних грана и броју интернодија. У 2011. години популације су се статистички значајно разликовале по зеленој маси, броју изданака, броју бочних грана и броју интернодија. Код свих популација се уочио тренд пораста вредности компоненти приноса (зелена маса, висина и број изданака). Анализом састава суве материје уочен је задовољавајући просечан садржај сирових протеина (просечно 17,37%) и нешто лошији садржај сирове целулозе (просечно 32,36%). На анатомском пресеку средње лиске тролиста уочене су веома крупне ћелије једнослојног палисадног ткива. Између популација је постојала статистички значајна разлика у укупној дебљини листа. Популације су се одликовале високим садржајем укупних фенола (53,7-120,1 mg GA/g) и флавоноида (110,3-351,7 mg Ru/g), као и снажном антиоксидативном активношћу. У листу, цвету и стабљници биле су присутне све четири врсте изофлавона, при чему је садржај у стабљници био најнижи, а највиши у листовима (просечан укупни садржај од $0,57 \text{ mg g}^{-1}$), са највећим вредностима код популације ЦС146.

У петом потпоглављу наведене су особине планинске детелине (*Trifolium montanum* L.). Напоменуто је да је од почетних 14 популација у анализе уведено њих 10. Како су појединачне биљке мировале у свом развоју током 2010. године, резултати су прикупљани током 2011. и 2012. године. Дат је и проценат преживелих јединки у 2012. години. Једнофакторијалном анализом варијансе утврђене су разлике између популација ($p < 0.01$). У 2011. години популације су се статистички значајно разликовале по зеленој маси, висини, броју изданака, дужини и ширини листа, док је у 2012. години значајна разлика постојала у зеленој маси, броју интернодија, броју бочних грана, дужини и ширини листа. Уочено је да промене код ове врсте нису тако велике као у случају црвене или шведске детелине. По саставу суве материје, ова врста се може сматрати доста квалитетном, а просечне вредности сирових протеина и сирове целулозе су биле 19,49%, односно 27,11%. Садржај минералних материја је био висок, док је садржај масти био просечан. На анатомском пресеку листа уочили су се једнослојан епидермис лица и наличја листа, трослојно палисадно и вишеслојно сунђерасто ткиво. Постојала је статистички значајна разлика у укупној дебљини листа између популација. Поједине популације ове врсте одликовале су се добрим садржајем флавоноида (нпр. ЦС091 са 141,6 mg Ru/g), али у целини, ова врста није испољила висок садржај секундарних метаболита, а с тим у вези, антиоксидативна

активност је била ниска. Иако су код ове врсте констатована сва четири изофлавона, садржај им је био низак, најчешће и испод лимита детекције.

2.5. Потпоглавље **Дискусија** је подељено у три јасно раздвојене целине и то: *Морфолошки параметри* (са посебним освртом на принос зелене и суве материје из првог откоса, висину биљака, број изданака, број интернодија, број бочних грана, дужину и ширину листа, пречник бокора код беле детелине, корелације морфолошких особина, анализу морфолошких особина применом мултиваријационих анализа, као и анализу морфолошких особина применом методе главних компоненти), *Параметри анатомских карактеристика листа*, и *Хемијски параметри* (са детаљним разматрањем квалитета суве материје, секундарних метаболита, посебно, изофлавона). Добијени резултати су дискутовани са резултатима сличних истраживања у нас и у свету.

Кандидат је истакла да су црвена и бела детелина 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 i Moore, 2000). Нагласак је стављен на перзистентност, као значајну особину у oplemeњивању ових легуминоза (Abberton i Marshall, 2005; Taylor, 2008). У

истраживањима кандидата Мирјане Петровић, бела детелина је показала бољи степен преживљавања пољских услова од црвене детелине. Праћењем приноса великог броја популација код пет врста рода *Trifolium*, кандидат је навела да је испитивани материјал варијабилан и погодан за стварање сорти прилагођених датим агроколошким условима, слично резултатима Annicchiarico i Pagnotta (2012). Кандидат истиче, на пример, да просечна висина популација шведске детелине, за две године износи 66,15 cm, док се у раду Raplauskiene i Dabkevičienė (2012) вредности за сорте крећу од 56,2 cm до 66,2 cm.

Истакнуто је да се изучавање корелација између биолошких особина, као и великог броја фактора који на њих утичу, највише односи на популације и сорте црвене детелине

(Muntean i Savatti, 2003). У раду Rosso i Pagano (2005), највиши степен корелације добијен је између дужине и ширине листа, док је број изданака био негативно корелисан са параметрима листа, што је у сагласности са добијеним резултатима кандидата. Највиши принос суве материје у овом истраживању дала је врста *T. pannonicum* (просечно $271,5 \text{ g kg}^{-1}$), затим црвена детелина (249 g kg^{-1}), шведска детелина ($241,7 \text{ g kg}^{-1}$) и на крају бела детелина (216 g kg^{-1}). Овакав редослед се уклапа са резултатима које су добили Vilčinskas i Dabkevičienė (2009).

У дискусији фитохемијских резултата истакнуто је да су поред црвене детелине, у народној медицини од давнина у употреби још и бела детелина (Tangpu et al., 2004), *T. pannonicum* (Menković et al., 2011) и *T. alexandrinum* (Khaled et al., 2000). 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 стандарда високе антиоксидативне активности, и у процесу корелације са

испитиваним биљним врстама (Ivanova et al., 2005; Zahradníková et al., 2007; Akram et al., 2012). Кандидат је навела да је садржај биоханина А и формононетина код популација црвене детелине био виши од даидзеина и генистеина, док је биљни орган са највише изофлавона био лист, што је у сагласности са резултатима које су добили Sivesind i Seguin (2005).

2.6. Упоредна анализа са дискусијом је посебно поглавље у коме је Мирјана Петровић сагледала резултате на нивоу поређења између врста. Истакнуто је да је у првој години жетве поредак врста био следећи у односу на принос зелене масе: *T. hybridum* > *T. pratense* > *T. repens* > *T. pannonicum* > *T. montanum*, док је у наредној години ситуација била нешто другачија: *T. repens* > *T. pannonicum* > *T. hybridum* > *T. pratense* > *T. montanum*.

Показано је да се популације врста *T. hybridum* и *T. pratense* издвајају високим вредностима за број изданака, број интернодија, број бочних грана и вредност зелене масе. Црвена детелина се издваја високим вредностима ширине листа. Врста *T. pannonicum* се карактерише највишим вредностима за дужину листа. Врста *T. montanum* има најниже вредности за скоро све испитиване морфолошке особине. Својства која су највише утицала на раздвајање врста су протеини, пепео и целулоза. Поредећи квалитет суве материје и грађу листа (највећа дебљина) код популација *T. pannonicum*, кандидат је истакла да би ово била потенцијално добра врста за селекцију крмног материјала, што је потврђено и у истраживању Krstić et al. (2008).

У односу на садржај секундарних метаболита, показано је да је највиша просечна количина укупних фенола и флавоноида, као и најснажнија антиоксидативна активност, добијена из узорака врсте *T. pannonicum*, што је у складу са резултатима Gođevac et al. (2008). Како је и познато у литератури, највећи садржај изофлавона био је присутан у материјалу црвене детелине.

2.7. У Закључцима кандидат је сумирала добијене резултате и навела да се по питању кључних морфолошких параметара, као што су зелена маса и број изданака, могу издвојити следеће популације: ИС077, ТА100, ТА097 код црвене детелине, затим РА089 и ФГ025 код беле детелине, популација ИС077 шведске детелине, популације ЦС119 и ЦС091 код панонске детелине и, најзад, популације РА089 и ЦС146 код планинске детелине.

Морфолошке особине које су у високој корелацији су маса са висином и бројем изданака, број интернодија и број бочних грана, дужина и ширина листа. Селекција било које од њих утицаће на позитивно корелисане особине. 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. Највеће вредности дебљине листа добијене су код *T. pannonicum* (просечно 241,0 µm), док је највећа дебљина листа у нивоу централног нерва измерена код *T. montanum* (просечно 536,1 µm).

Упоредна анализа врста у односу на садржај секундарних метаболита и антиоксидативну активност, показала је да највише укупних фенола (80,5 mg GA/g), флавоноида (165,5 mg Ru/g суве материје) и највишу антиоксидативну активност (71 $\mu\text{g/mol}$) у просеку има *T. rannonicum*. Висок садржај укупних фенола измерен је и код неких популација *T. pratense* (74,5 mg GA/g), као и код *T. montanum* (69,7 mg GA/g). Највиши садржај изофлавона измерен је у листу црвене детелине (просечно 2,12 mg g⁻¹ за све популације), при чему је доминантно једињење био биоханин А. Највиши садржај је измерен у популацији ИС043, и то у листу (2,09 mg g⁻¹).

2.8. У поглављу **Литература**, кандидат је навела укупно 268 литературних јединица, које представљају селекцију најважнијих референци из области крмног биља и популационе биологије врста рода *Trifolium*. Већина цитираних референци су радови објављени у међународним научним часописима.

3. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Кандидат Мирјана Петровић је по мишљењу чланова Комисије остварила све циљеве докторске дисертације у складу са одобреном пријавом. Њена дисертација под насловом: „**Морфо-анатомска и хемијска својства природних популација врста рода *Trifolium* L.**“ представља значајан допринос разумевању ботаничких карактеристика, приноса и квалитета, као и секундарних метаболита и антиоксидативне активности код великог броја самониклих популација у оквиру пет испитиваних врста рода *Trifolium*. Тема и садржај ове дисертације су актуелни и значајни, како са научног, тако и са практичног становишта, имајући у виду значај детелина као крмних биљака. Кандидат је обрадила изузетно велики материјал са више различитих аспеката (морфологија, анатомија, квалитет и фитохемија), при чему су коришћене најсавременије научне и аналитичке методе, а дисертација има јасан мултидисциплинарни карактер. Посебна вредност ове докторске дисертације је повезивање ботаничких особина са параметрима квалитета и количине и активности секундарних метаболита, што може дати нове правце у селекционим програмима за ове врсте. Уз то, правилно су примењене математичко-статистичке методе у обради веома великог и разнородног сета података. Кандидат је сагледала перспективне популације, како у вези са приносом и квалитетом (нпр. ИС077, ТА100 и ТА097 код црвене детелине, као и РА089 и ФГ025 код беле детелине), тако и у вези са укупним фенолима, флавоноидима и антиоксидативним ефектима, где су издвојене популације панонске детелине (*T. rannonicum*). У погледу садржаја изофлавона, високе количине су нађене у листовима појединих популација црвене детелине, што може бити правац у будућим фитохемијским и фармаколошким проучавањима. Кандидат Мирјана Петровић је систематски проучила веома обимну литературу и правилно је упоређивала резултате својих истраживања са истраживањима других аутора. Закључци су правилно изведени и у потпуности произилазе из добијених резултата.

Имајући у виду реализацију програма дисертације, извршену анализу резултата и изведене закључке, као и значај ових истраживања за науку и пољопривредну праксу, Комисија позитивно оцењује докторску дисертацију под насловом „**Морфо-анатомска и хемијска својства природних популација врста рода *Trifolium* L**“ кандидата Мирјане Петровић и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати ову позитивну оцену и омогући кандидату да јавно брани докторску дисертацију.

Београд, 11. 01. 2016.

Чланови Комисије:

Др Зора Дајић Стевановић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
(Ужа научна област: Пољопривредна ботаника)

Др Саво Вучковић, редовни професор Универзитет у
Београду, Пољопривредни факултет (Ужа научна
област: Крмно биље и травњаци)

Др Јасмина Радовић, виши научни сарадник
Институт за крмно биље, Крушевац (Ужа
научна област: Крмно биље)

Др Сања Васиљевић, виши научни сарадник
Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад
(Ужа научна област: Генетика и оплемењивање биљака)

Др Зоран Лугић, научни саветник
Институт за крмно биље, Крушевац
(Ужа научна област: Крмно биље)

Прилог:

Радови кандидата Мирјане Петровић, дипломираног биолога, објављени у часописима са SCI листе:

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-Belgrade 46 (2): 471-484.