

UNIVERZITET U BEOGRADU
BIOLOŠKI FAKULTET

Jasna Bajić-Ljubičić

**Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih
jedinjenja u ekstraktima plodova pet šumskih
drvenastih vrsta sa različitih staništa u Srbiji**

doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF BIOLOGY

Jasna Bajić-Ljubičić

**The variability of selected phenolics contents in
fruit extracts of five woody forest species from
different habitats in Serbia**

Doctoral Disertation

Belgrade, 2018

Mentori:

dr Zorica Popović, viši naučni saradnik
Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"
Univerzitet u Beogradu

dr Rada Matić, viši naučni saradnik
Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"
Univerzitet u Beogradu

Članovi komisije:

dr Jasmina Šinžar-Sekulić, vanredni profesor
Biološki fakultet
Univerzitet u Beogradu

dr Vele Tešević, vanredni profesor
Hemijski fakultet
Univerzitet u Beogradu

dr Ana Džamić, vanredni profesor
Biološki fakultet
Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane:

Zahvalnica

Na prvom mestu, zahvaljujem se mentoru višem naučnom saradniku dr Zorici Popović koja mi je ukazala neizmerno poverenje, sa pažnjom i stpljenjem me je stručno vodila kroz istraživanja i izradu doktorske disertacije. Podjednaku zahvalnost dugujem mentoru višem naučnom saradniku dr Radi Matić, koja mi je dala vetar u leđa kada mi to bilo najpotrebnije, a čije znanje i iskustvo mi je pomoglo da razumem i objektivno sagledam naučno-istraživački rad. Njihovo znanje, pozitivna energija, i vera da će ova disertacija ugledati svetlost dana su me vodile na ovom napornom, ali truda vrednom, putu.

Zahvaljujem se vanrednom profesoru dr Jasmini Šinžar Sekulić, sa kojom sam ostvarila divnu saradnju tokom doktorskih studija, a čije praktične savete sam usvojila u toku izrade doktorske disertacije.

Zahvaljujem se vanrednom profesoru dr Veletu Teševiću koji je uticao da se rezultati istraživanja prikažu na pravilan način, ko je svojim sugestijama vezanim za metodiku rada doprineo da doktorska disertacija bude veoma dobro usklađena.

Zahvaljujem se vanrednom profesoru dr Ani Džamić, koja je svojim sugestijama uticala na moju objektivnost prilikom izrade disertacije, a čije reči su mi dale elan da napredujem prema svom cilju.

Posebnu zahvalnost dugujem rukovodiocu projekta osnovnih istraživanja Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije br. 173011, višem naučnom saradniku dr Srđanu Bojoviću, koji je omogućio da se sve naše ideje sprovedu u delo i da na kraju postanu deo ove disertacije.

Svi pomenuti su svojim zalaganjem, trudom, znanjem i profesionalnim veštinama doprineli da disertacija predstavlja reprezentativan izvor podataka za dalja naučna istraživanja u oblasti Ekologije biljaka i šire.

Doktorska disertacija urađena je u okviru projekta osnovnih istraživanja Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije br. 173011.

Zahvaljujući stipendiji koju mi je omogućilo Ministarstvo prosvete, nauke i sporta, uspela sam da istrajem u svojoj želji da realizujem započeto i izradim doktorsku disertaciju.

Laboratorijska istraživanja u okviru doktorske disertacije su realizovana u okviru Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, i u Institutu za biološka istraživanja "Siniša Stanković" Univerziteta u Beogradu, te se ovom prilikom zahvaljujem svim zaposlenima na predusjetljivosti i kolegijalnoj pomoći tokom rada na dobijanju i obradi rezultata.

Velika ljubav, vera i podrška od strane mojih roditelja, Mirjane Bajić i Ilije Bajića, je učinila da se na ovom putu ne predam, ostanem svoja i dostojna njihovog poverenja i neizmerne ljubavi.

Posebnu zahvalnost dugujem mojoj maloj porodici, sinu Mihajlu i suprugu Vladimiru, koji su izvor moje pokretačke snage, ljubavi prema prirodi i životu i podsetnik da svet pripada hrabrima.

Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova pet šumskih drvenastih vrsta sa različitih staništa u Srbiji

Rezime

Šumske drvenaste vrste (potencijalno) jestivih i/ili korisnih plodova, označene kao samoniklo voće, predstavljaju važan deo specijskog diverziteta u šumskim ekosistemima Srbije. Vrste *Rosa canina* L. (Rosaceae), *Crataegus monogyna* Jacq. (Rosaceae), *Prunus spinosa* L. (Rosaceae), *Cornus mas* L. (Cornaceae) i *Cornus sanguinea* L. (Cornaceae), iako relativno česte u flori Srbije, još uvek nisu dovoljno proučene sa fitohemijskog, kao ni sa ekološko-hemijskog aspekta. Kvalitativna i kvantitativna LC/MS-MS analiza sadržaja određenih hemijskih jedinjenja u populacijama sa međusobno udaljenih staništa, kao i u pojedinačnim jedinkama na mikrostaništu, kao osnovni cilj ovog rada, pružila je informacije o sintezi specifičnih sekundarnih metabolita kao odgovoru na kompleks ekoloških faktora na staništu. Hemijska karakterizacija odabranih vrsta urađena je identifikacijom i kvatifikacijom fenolne kiseline (neohlorogena kiselina [5-*O*-kafeoilhinska kiselina]) i pet flavonoida (kvercituron [kvercetin-3-*O*-glukuronid], hiperozid [kvercetin-3-*O*-galaktozid], rutin [kvercetin-3-*O*-rutinozid], izokvercetin [kvercetin-3-*O*-glukozid] i kvercitrin [kvercetin-3-*O*-ramnozid]) u metanolnim ekstraktima svežih plodova uzorkovanih iz tri prirodne populacije svake vrste. Geografska udaljenost istraživanih populacija (Avala, Zlatarsko jezero i Ozren) omogućila je analizu povezanosti sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja sa različitim sredinskim uslovima.

U metanolnim ekstraktima svežih plodova vrsta *R. canina*, *C. mas* i *C. sanguinea* detektovano je prisustvo svih šest analiziranih fenolnih jedinjenja: neohlorogene kiseline, kvercetin-glukuronida, -galaktozida, -rutinozida, -glukozida i -ramnozida, dok kod vrsta *C. monogyna* i *P. spinosa* prisustvo kvercetin-glukuronida nije utvrđeno. U poređenju sa literaturnim podacima ispitivanja plodova kultivisanih i divljih vrsta koje se smatraju bogatim izvorima analiziranih fenolnih jedinjenja (prirodnih antioksidanata), predstavljeni rezultati pokazuju da se prirodne populacije pet šumskih vrsta sa teritorije Srbije odlikuju veoma visokim sadržajem ovih jedinjenja. Ispitivane vrste se značajno razlikuju kako po sadržaju analiziranih fenolnih jedinjenja u ukupnom uzorku, tako i po njihovom procentualnom učešću i varijabilnosti sadržaja. Kod svih ispitivanih vrsta je

utvrđen manji ili veći stepen interpopulacione varijabilnosti, a hemometrijskom analizom je utvrđeno koja od ispitivanih jedinjenja najviše doprinose razlikama između populacija. Pokazano je da su sva ispitivana fenolna jedinjenja dobri hemijski markeri za utvrđivanje razlika između vrsta, između populacija i jedinki. Ipak, prema njihovom visokom doprinosu varijabilnosti unutar ukupnog uzorka kod svake od ispitivanih vrsta, izdvajaju se jedinjenja kvercetin-glukozid, -galaktozid i -glukuronid. Analiza korelisanosti sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja sa sredinskim faktorima pokazala je velike razlike između vrsta, jedinjenja i uticaja pojedinih faktora okruženja, ukazujući na specifičnosti svake vrste u pogledu adaptiranosti na uslove staništa. Na osnovu analize stepena linearne zavisnosti između sadržaja ispitivanih hemijskih parametara i najvažnijih faktora sredine u staništima, pokazano je da najveći uticaj ima prosečna insolacija tokom vegetacijske sezone, zatim nadmorska visina, prosečna temperatura u sezoni rasta i pokrovnost vegetacije, dok prosečna količina padavina u sezoni rasta pokazuje najmanji stepen korelisanosti sa sadržajem ispitivanih jedinjenja. Hemijska karakterizacija i kvantifikacija pojedinih biološki aktivnih jedinjenja i povezanost njihovog sadržaja sa pojedinim staništima prirodnih populacija predstavlja značajan pomak u dosadašnjim fitohemijskim istraživanjima, i opravdava potrebu da se prirodne populacije smatraju značajnim genetičkim i hemijskim resursom u sklopu očuvanja biodiverziteta šumskih ekosistema.

Ključne reči: fenolna jedinjenja, ekstrakti plodova, *Rosa canina* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Cornus sanguinea* L., LC/MS-MS analiza, specijska varijabilnost, unutar- i međupopulaciona varijabilnost

Naučna oblast: Biologija

Uža naučna oblast: Ekologija

UDK broj: 581.522.5:547.56(043.3)

The variability of the content of selected phenolics in fruit extracts of five woody forest species from different habitats in Serbia

Summary

Forest woody species with edible and/or useful fruits, known as wild fruit species, are important part of the species diversity in Serbian forest ecosystems. Species *Rosa canina* L. (Rosaceae), *Crataegus monogyna* Jacq. (Rosaceae), *Prunus spinosa* L. (Rosaceae), *Cornus mas* L. (Cornaceae) i *Cornus sanguinea* L. (Cornaceae), although relatively frequent in Serbian flora, are still not sufficiently investigated from the phytochemical and chemoecological aspect. Qualitative and quantitative LC/MS-MS analysis of the content of certain phenolic compounds in populations from distant habitats as well as in the individual plants on each habitat, being the objective of this study, provided information of the synthesis of specific secondary metabolites in response to the complex of environmental factors. Chemical characterization of selected plant species was performed through identification and quantification of phenolic acid (neochlorogenic acid [5-*O*-cafeoilquinic acid]) and five flavonoids (quercituron [quercetin-3-*O*-glucuronide], hyperoside [quercetin-3-*O*-galactoside], rutin [quercetin-3-*O*-rutinoside], isoquercetin [quercetin-3-*O*-glucoside] and quercitrin [quercetin-3-*O*-ramnoside]) in methanol extracts of fresh fruits sampled form three natural populations of each species. The geographical distance of the investigated populations (Mt. Avala, Lake Zlatar, Mt. Ozren) enabled analysis of the relationship between the content of selected phenolic compounds and different environmental factors.

The presence of all six analyzed phenolic compounds: neochlorogenic acid, quercetin-glucuronide, -galactoside, -rutinozide, -glucoside and -ramnozide were detected in methanol extracts of the fresh fruits of the species *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, while in species *C. mas* and *C. sanguinea* quercetin-glucuronide was not detected. The results presented in this study showed that populations of wild fruit species from the territory of Serbia are characterized by very high content of analyzed phenolic compounds, in comparison to the literature data regarding wild or cultivated species considered to be a rich sources of the same compounds – validated as powerful natural antioxidants. Studied species significantly differed by the content and showed a great variability

of the analyzed phenolic compounds in the total sample, as well as by the share of each compound in total amount of analyzed compounds. All species had lower or higher degree of interpopulation variability, and hemometric analyses revealed which of the studied compounds contributed to the differences between populations. It has been shown that all selected phenolic compounds are good chemical makers for evaluation of intra- and inter-species differentiation. However, the highest contribution to the variability within the total sample in each species is attributed to quercetin-glucoside, -galactoside and -glucuronide. Analysis of the correlations between the content of the phenolic compounds and the environmental conditions showed great differences between the species, the compounds and the influence of certain environmental factors, pointing to the species-specific adaptations to the habitat-specific conditions. Based on the analysis of the degree of linear dependence between the content of the studied chemical parameters and the most important ecological conditions/factors, it has been shown that the greatest impact on the compound's content has average insolation during the vegetation season, then altitude, average temperature during the vegetation season and vegetation land coverage, while the correlation with the average precipitation during the vegetation season is very low. The chemical characterization and quantification of certain biologically active compounds in natural populations and the connections of their content with specific habitats represents a significant shift in the current phytochemical research, and justifies the need for natural populations to be considered as significant genetic and chemical resources in the biodiversity conservation of forest ecosystem.

Key words: phenolics, fruit extracts, *Rosa canina* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Cornus sanguinea* L., LC/MS-MS analysis, variability among species, inter- and intrapopulation variability

Scientific field: Biology

Specific scientific field: Ecology

UDC number:581.522.5:547.56(043.3)

Skraćenice korišćene u tekstu:

| | |
|-------------------------|---|
| 5-O-CQ | 5-O-kafeoilhinska kiselina |
| ABTS | 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) |
| ANOVA | Jednosmerna analiza varijanse |
| CA | Kanonska analiza |
| CID | Disocijacija izazvana sudarima |
| DA | Diskriminantna analiza |
| DMSO | Dimetilsulfoksid |
| DNK/ cpDNK | Dezoksiribonukleinska kiselina/hloroplastna dezoksiribonukleinska kiselina |
| DPPH | 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal |
| ESI | Elektrosprej izvor jonizacije |
| GAE | Ekvivalent galne kiseline |
| HPLC | Tečna hromatografija sa visokim performansama |
| HPLC-DAD/-ESI-MS | Tečna hromatografija sa visokim performansama uparena sa diodnim detektorom (HPLC-DAD) / - sa elektrosprej jonizacijom i masenom spektrometrijom (HPLC-ESI-MS). |
| IR | Infracrveno |
| LAFIB | Laboratorija za ispitivanje prirodnih resursa farmakološki i biološki aktivnih jedinjenja |
| LC/MS-MS | Tečna hromatografija/Masena spektrometrija-Masena spektrometrija |
| LDL | Lipoprotein niske molekularne težine |
| LOD | Limit detekcije |
| LOQ | Limit kvantifikacije |
| MRM | Mod za praćenje višestruke fragmentacije |
| m/z | Odnos mase i naelektrisanja |
| NAPRALERT® | Baza podataka prirodnih proizvoda |
| nd | Nije nađeno |
| NMR | Nuklearna magnetna rezonanca |
| ORAC | Kapacitet apsorbanace kiseoničnih radikala |
| PCA | Analiza glavne komponente |

| | |
|-------------------|--|
| PCR-RFLP | Reakcija lančanog umnožavanja-polimorfizam dužine restrikcijskog fragmenta |
| Q-3-O-Gal | kvercetin-3-O-galaktozid |
| Q-3-O-Glc | kvercetin-3-O-glukozid |
| Q-3-O-GlcA | kvercetin-3-O-glukuronid |
| Q-3-O-Rha | kvercetin-3-O-ramnozid |
| Q-3-O-Rut | kvercetin-3-O-rutinozid |
| RAPD | Proizvoljno amplificirana polimorfna dezoksiribonukleinska kiselina |
| RHMZS | Republički hidrometeorološki zavod Srbije |
| SD | Standardna devijacija |
| SG | Standardna greška |
| SRM | Mod za praćenje izabranog fragmenta |
| SV | Srednja vrednost |
| TEAC | Trolox ekvivalentan oksidacioni kapacitet |
| tR | Retenciono vreme |
| UV | Ultraljubičasto |
| Vc | Napon kolizione ćelije |
| Vf | Napon fragmentora |

Sadržaj:

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. Opšti pregled istraživanja sekundarnih metabolita..... | 1 |
| 1.2. Hemijsko-ekološka i fitohemijska istraživanja šumske flore u Srbiji | 8 |
| 1.3. Šumske drvenaste vrste, divlji srodnici voćnih vrsta | 9 |
| 1.4. Biološki aktivna jedinjenja..... | 11 |
| 1.4.1. Hemijska jedinjenja biološkog porekla | 11 |
| 1.4.2. Sekundarni metaboliti biljaka..... | 12 |
| 1.4.3. Biološki aktivna jedinjenja sa potencijalnim pozitivnim zdravstvenim efektom – fitohemikalije | 16 |
| 1.4.4. Fenolna jedinjenja | 18 |
| 1.4.4.1. Fenolne kiseline..... | 22 |
| 1.4.4.2. Flavonoidi | 24 |
| 1.5. Opšte karakteristike ispitivanih vrsta | 29 |
| 1.5.1. <i>Rosa canina</i> L. (familija: Rosaceae) | 29 |
| 1.5.2. <i>Crataegus monogyna</i> Jacq. (familija: Rosaceae) | 31 |
| 1.5.3. <i>Prunus spinosa</i> L. (familija: Rosaceae) | 34 |
| 1.5.4. <i>Cornus mas</i> L. (familija Cornaceae) | 36 |
| 1.5.5. <i>Cornus sanguinea</i> L. (familija Cornaceae) | 40 |
| 1.6. Opšte karakteristike ispitivanih lokaliteta | 45 |
| 1.6.1. Avala – opis istraživanog područja | 45 |
| 1.6.2. Zlatarsko jezero – opis istraživanog područja..... | 46 |
| 1.6.3. Ozren – opis istraživanog područja..... | 48 |
| 2. POLAZNE HIPOTEZE – CILJEVI RADA..... | 50 |
| 3. MATERIJAL I METODE RADA | 51 |
| 3.1. Izbor vrsta i lokaliteta..... | 51 |
| 3.1.1. Uzorkovanje biljnog materijala | 52 |
| 3.1.2. Obrada biljnog materijala..... | 54 |

| | |
|--|----|
| 3.1.3. Priprema ekstrakata | 54 |
| 3.2. Određivanje ukupnih fenola u ekstraktima plodova..... | 55 |
| 3.3. Identifikacija i kvantifikacija odabranih fenolnih jedinjenja..... | 55 |
| 3.3.1. Izbor analitičke metode | 55 |
| 3.3.2. Izbor fenolnih jedinjenja za ciljanu analizu | 56 |
| 3.3.3. Hemijski reagensi | 57 |
| 3.3.4. Priprema smeše standardnih rastvora | 57 |
| 3.3.5. Hemijsko profilisanje odabranih fenolnih jedinjenja pomoću LC-MS/MS tehnike..... | 57 |
| 3.3.6. Kvantifikacija odabranih fenolnih jedinjenja pomoću LC-MS/MS tehnike | 59 |
| 3.3.7. Obrada rezultata | 60 |
| 3.4. Opis staništa, orografski i mikroklimatski podaci..... | 60 |
| 3.5. Statistička analiza..... | 61 |
| 3.5.1. Deskriptivno statistička analiza..... | 61 |
| 3.5.2. Multivarijantna analiza podataka | 61 |
| 3.5.3. Hemometrijska analiza | 61 |
| 3.5.4. Korelaciona i regresiona analiza odabranih fenolnih jedinjenja sa parametrima staništa | 63 |
| 4. REZULTATI..... | 64 |
| 4.1. Sadržaj ukupnih fenola u uzorcima plodova <i>R. canina</i> , <i>C. monogyna</i> , <i>P. spinosa</i> , <i>C. mas</i> i <i>C. sanguinea</i> | 64 |
| 4.2. Kvalitativni i kvantitativni sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja | 65 |
| 4.3. Kvalitativni i kvantitativni sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod analiziranih vrsta u odnosu na lokalitet | 73 |
| 4.3.1. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>Rosa canina</i> u odnosu na lokalitet | 73 |
| 4.3.2. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>Craetegus monogyna</i> u odnosu na lokalitet..... | 76 |
| 4.3.3. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>Prunus spinosa</i> u odnosu na lokalitet . | 80 |
| 4.3.4. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>Cornus mas</i> u odnosu na lokalitet..... | 83 |
| 4.3.5. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>Cornus sanguinea</i> u odnosu na lokalitet | 86 |
| 4.4. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja | 90 |
| 4.4.1. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>R. canina</i> u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci | 90 |

| | |
|---|-----|
| 4.4.2. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>C. monogyna</i> u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci..... | 93 |
| 4.4.3. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>P. spinosa</i> u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci..... | 96 |
| 4.4.4. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>C. mas</i> u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci..... | 100 |
| 4.4.5. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>C. sanguinea</i> u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci..... | 101 |
| 4.4.6. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u uzorcima <i>R. canina</i> , <i>C. monogyna</i> i <i>P. spinosa</i> (fam. Rosaceae) | 102 |
| 4.4.7. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u uzorcima <i>C. mas</i> i <i>C. sanguinea</i> (fam. Cornaceae)..... | 104 |
| 4.5. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod ispitivanih vrsta | 105 |
| 4.5.1. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>R. canina</i> | 105 |
| 4.5.2. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>C. monogyna</i> | 111 |
| 4.5.3. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>P. spinosa</i> | 116 |
| 4.5.4. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>C. mas</i> | 121 |
| 4.5.5. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>C. sanguinea</i> | 126 |
| 4.5.6. Uporedna analiza varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima predstavnika familije Rosaceae (<i>R. canina</i> , <i>C. monogyna</i> i <i>P. spinosa</i>) | 130 |
| 4.5.7. Uporedna analiza varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima predstavnika familije Cornaceae (<i>C. mas</i> i <i>C. sanguinea</i>) | 135 |
| 4.5.8. Uporedna analiza varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta <i>R. canina</i> , <i>C. monogyna</i> , <i>P. spinosa</i> , <i>C. mas</i> i <i>C. sanguinea</i> | 140 |
| 4.6. Diskriminantna analiza uzoraka na osnovu sastava odabranih fenolnih jedinjenja | 146 |
| 4.6.1. Diskriminantna analiza uzoraka <i>R. canina</i> , <i>C. monogyna</i> , <i>P. spinosa</i> , <i>C. mas</i> i <i>C. sanguinea</i> u odnosu na populaciju | 147 |
| 4.6.2. Diskriminantna analiza uzoraka <i>R. canina</i> , <i>C. monogyna</i> , <i>P. spinosa</i> , <i>C. mas</i> i <i>C. sanguinea</i> u odnosu na vrstu | 151 |
| 4.7. Analiza osnovnih klimatskih faktora na proučavanim lokalitetima i određivanje njihovog uticaja na sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja | 153 |
| 4.7.1. Osnovni klimatski faktori na proučavanim lokalitetima - proleće | 154 |
| 4.7.2. Osnovni klimatski faktori na proučavanim lokalitetima - leto | 158 |
| 4.7.3. Osnovni klimatski faktori na proučavanim lokalitetima – septembar i oktobar..... | 161 |

| | |
|---|-----|
| 4.7.4. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i temperature na istraživanim lokalitetima..... | 163 |
| 4.7.5. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i količine padavina na istraživanim lokalitetima..... | 164 |
| 4.7.6. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i insolacije na istraživanim lokalitetima | 166 |
| 4.7.7. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i nadmorske visine istraživanih lokaliteta..... | 167 |
| 4.7.8. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i pokrovnosti istraživanih lokaliteta | 168 |
| 4.7.9. Utvrđivanje odnosa između sadržaja fenolnih jedinjenja i osnovnih faktora sredine istraživanih lokaliteta | 169 |
| 5. DISKUSIJA..... | 175 |
| 5.1. Ukupan sadržaj fenola u analiziranim vrstama | 181 |
| 5.2. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>R. canina</i> | 181 |
| 5.2.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda <i>Rosa</i> | 185 |
| 5.3. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>C. monogyna</i> | 186 |
| 5.3.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda <i>Craetegus</i> | 188 |
| 5.4. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>P. spinosa</i> | 189 |
| 5.4.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda <i>Prunus</i> | 192 |
| 5.5. Uporedna analiza sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod predstavnika familije Rosaceae..... | 193 |
| 5.6. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>C. mas</i> | 196 |
| 5.7. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima <i>C. sanguinea</i> | 198 |
| 5.7.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda <i>Cornus</i> | 199 |
| 5.8. Uporedna analiza sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod predstavnika roda <i>Cornus</i> | 200 |
| 5.9. Korelisanost između ispitivanih svojstava kod populacija sa različitim staništa | 202 |
| 5.10. Varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod ispitivanih vrsta | 204 |
| 5.10.1. Intra- i inter-populaciona varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>R. canina</i> | 206 |
| 5.10.2. Intra- i inter-populaciona varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>C. monogyna</i> | 208 |

| | |
|---|-----|
| 5.10.3. Intra- i inter-populaciona variabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>P. spinosa</i> | 210 |
| 5.10.4. Intra- i inter-populaciona variabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>C. mas</i> | 211 |
| 5.10.5. Intra- i inter-populaciona variabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste <i>C. sanguinea</i> | 213 |
| 5.11. Diskriminacija ispitivanih vrsta i populacija na osnovu sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja | 214 |
| 5.12. Korelisanost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod ispitivanih vrsta sa faktorima okruženja | 216 |
| 6. ZAKLJUČCI | 222 |
| 7. LITERATURA | 226 |
| 8. PRILOZI | 262 |

1. UVOD

1.1. Opšti pregled istraživanja sekundarnih metabolita

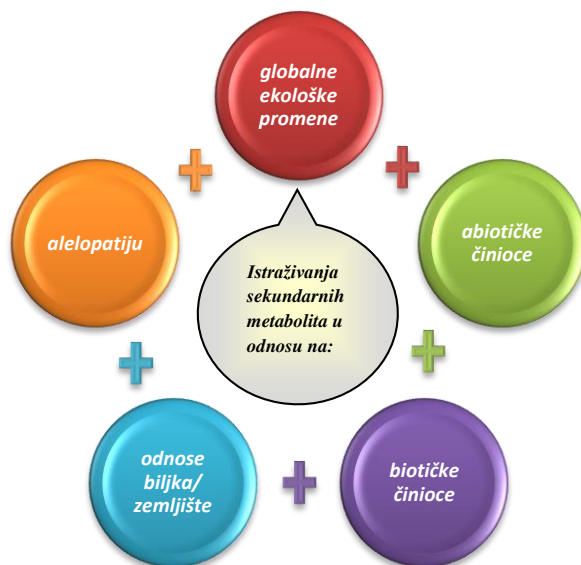
Šumski ekosistemi imaju izrazito značajnu ulogu u evoluciji i ekologiji života na Zemlji. Danas, šume pokrivaju približno 30% zemljine površine, akumuliraju približno 45% ugljenika na kopnu, i sa približno 50% učestvuju u primarnoj produkciji na kopnu (Bonan 2008). Mnogobrojne funkcije šumskih ekosistema obezbeđuju sveukupno održavanje života na zemlji: regulacija biogeohemijskih ciklusa, proizvodnja hrane i drvne mase, očuvanje biodiverziteta, ublažavanje klimatskih promena i posledica prirodnih i antropogeno izazvanih katastrofa (Hassan i sar. 2005).

U pogledu biološkog diverziteta, šumski ekosistemi su među najsloženijim i najvažnijim ekosistemima na Zemlji. Diverzitet vrsta u šumskom ekosistemu ima pozitivan efekat na njegovu produktivnost i kruženje materije (Tilman i sar. 1997). Visok stepen diverziteta često podrazumeva stabilnost ekosistema, otpornost na poremećaje, oporavak posle poremećaja i dugoročno stabilno i održivo funkcionisanje ekosistema (Peterson i sar. 1998, Naeem 1998). Šume su prirodna staništa za 80% od ukupnog broja kopnenih vrsta, ubrajajući biljne vrste različitih životnih formi, životinje, gljive i bakterije.

Ovaj veliki broj organizama ostvaruje složene odnose sa okruženjem, kao i brojne međudnose (trofičke, simbiotske, parazitske, kompetitivne) koji su u velikoj meri usklađeni putem hemijskih interakcija između različitih bionata. Iz ovih razloga biološki i hemijski diverzitet u šumskim ekosistemima su povezani mnogobrojnim uzročno-posledičnim vezama (McChesney 1996). Proizvodi primarnog biljnog metabolizma, biljna biomasa, transformišu se kroz biogeohemijske cikluse i trofičke lance koji obezbeđuju kruženje materije i funkcionisanje ekosistema (Lindroth 2010). Proizvodi sekundarnog biljnog metabolizma (veliki spektar hemijskih jedinjenja koja se ne koriste za produkciju biomase i razmnožavanje biljaka) imaju mnogobrojne funkcije koje su usmerene na regulaciju adaptivnih odgovora cenobionata na abiotičke činoice, kao i njihove međusobne odnose.

Smatra se da hemijska jedinjenja prirodnog porekla upravljaju mnogim, ako ne i većinom, interakcija koje karakterišu životnu zajednicu i funkcionisanje ekosistema (Lindroth 2010), i u skladu sa tim shvatanjima, mnoge savremene studije bave se istraživanjima proizvodnje

sekundarnih metabolita od strane biljnih članova šumskog ekosistema, kao i distribucijom ovih jedinjenja u biljkama i na samom šumskom staništu. Imajući u vidu širok spektar sekundarnih metabolita i njihovu kompleksnu ulogu u složenim odnosima u šumskom ekosistemu, hemijsko-ekološke i fitohemijske studije obuhvataju više segmenata (Slika 1):



Slika 1. Osnovni pravci istraživanja sekundarnih metabolita u ekološkim studijama

Istraživanja sekundarnih metabolita u odnosu na globalne ekološke promene: Jedan od najvećih ekoloških izazova je povećanje koncentracije atmosferskog CO₂, koje za posledicu ima porast produkcije biljaka i promene u njihovom hemijskom sastavu; izmenjeni hemijski sastav biljaka utiče na trofičke odnose i dekompoziciju, što povratno utiče na koncentraciju CO₂ u atmosferi (Peñuelas i Estiarte 1998, Beedlow i sar. 2004, Lindroth i Dearing 2005). Isparljiva organska jedinjenja koja se oslobađaju u velikim količinama u nekim šumskim ekosistemima (četinarskim šumama, šumama topole, eukaliptusa) su prekursori u formiranju ozona (O₃) u sloju trofosfere, koji utiče negativno na produkciju biljaka i na zdravlje ljudi (Fowler i sar. 1999, Lerdau i Gray 2003, Rosenstiel i sar. 2003, Laothawornkitkul i sar. 2009). Hemijsko-ekološkim istraživanjima u šumskim ekosistemima definiše se uloga prirodnih proizvoda kao adaptivnog odgovora, ali i kao uzročnika, u odnosu na globalne promene. Takođe, omogućavaju i da se predvide odgovori ekosistema na buduće promene i donesu odgovarajuće odluke za njihovo ublažavanje i adaptivne strategije.

Istraživanja sekundarnih metabolita u odnosu na abiotičke činioce: Ekofiziološki odgovor biljaka na različite vrste abiotičkog stresa je, zahvaljujući primeni modernih biohemijskih i molekularno-bioloških tehnika, uveliko rasvetljen i sa aspekta sinteze sekundarnih metabolita u cilju adaptiranja biljke na uslove okruženja (Bourgand i sar. 2001, Matić i sar. 2015). Istraživanja su uglavnom usmerena na tri velike klase jedinjenja: fenole, terpene, steroide i alkaloida, i u izvesnom broju slučajeva je i razjašnjena uloga specifičnih molekula u poboljšavanju adaptivnog odgovora, kao u slučaju suše i povećane koncentracije ozona (Lankadurai i sar. 2013). Uloga lignina, tanina i drugih fenolnih jedinjenja u zaštiti od UV zračenja, zagađenja zemljišta, izlaganja ozonu i teškim metalima je intenzivno proučavana (Gershenzon 1984, Mole i sar. 1988, Bussotti i sar. 1998, Lombardero i sar. 2000). Veliki broj isparljivih organskih jedinjenja (izopren, terpeni, alkani, alkeni, alkoholi, estri, karbonili, kiseline) sintetiše se u biljkama u različitom sastavu i količini, a stepen njihovih emisija unutar šumskog ekosistema pokazuje veliku prostornu i vremensku varijabilnost. Pokazano je da je prisustvo ovih jedinjenja jasno korelisano sa delovanjem abiotičkih faktora (temperaturom, svetlošću, dostupnom vodom, vetrom, ozonom) (Loreto i Schnitzler 2010, Peñuelas i Llusà 2001).

Istraživanja sekundarnih metabolita u odnosu na biotičke činioce (reprodukcija): Cvetovi i plodovi šumskih vrsta privlače organizme koji vrše oprašivanje i rasejavanje semena zahvaljujući svom mirisu, boji, ukusu, svarljivosti i/ili hranljivoj vrednosti. Za različite vrste šumskog drveća, karakterističan je specifičan miris koji potiče od sekundarnih metabolita smeštenih pre svega u vegetativnim delovima (listovima i kori drveta). Mirisne karakteristike šumskog drveća potiču najviše od smeše isparljivih sekundarnih metabolita, terpenoida, koja se formira pod složenom regulacijom genetičkih, biohemijskih i ekoloških faktora (Langenheim 1994). Produkcija smeše ovih jedinjenja ima dvostruku ekološku ulogu: često je istovremeno usmerena i na odbijanje herbivora (odbranu) i na privlačenje korisnih insekata, polinatora; odnosno privlačni kapacitet mirisa biljke ispunjava svoju ekološku funkciju, ali i zbunjuje „štetne” organizme kojima je potrebno više vremena da razviju otpornost ili toleranciju na sve komponente smeše (Bergström i sar. 1991). Njihova uloga je još kompleksnija time što privlače i prirodne neprijatelje herbivornih insekata (Pichersky i Gershenzon 2002). Populaciona varijabilnost u okviru biljne vrste u odnosu na sastav terpenoida je jedna od karakteristika ove grupe jedinjenja, i značajno se razlikuje u okviru geografskog areala vrste (Hall i Langenheim 1987), kao i tokom različitih vegetativnih faza biljke

(Hall i Langenheim 1986). Hemijska jedinjenja koja imaju uticaj na stimulaciju ishrane herbivora specijalista su iridoidni glikozidi, kao i fenoli koji su, pored karakteristične boje, i delimično isparljivi i imaju karakterističnu aromu (Bergström i sar. 1991). U vizuelnoj atraktivnosti plodova učestvuju antocijanini i karotenoidi, i u manjoj meri flavonoidni glikozidi kao kopigmenti (Macheix i sar. 1990, Cipollini 2000).

Istraživanja sekundarnih metabolita u odnosu na biotičke činioce (odbrana): Generalno, fitofagni insekti konzumiraju 2-15% primarne produkcije u umerenim listopadnim šumama, a u godinama prenamnožavanja (gradacije) i do 100% lisne mase može biti konzumirano (Donaldson i Lindroth 2008). Hemijska odbrana biljaka u odnosu na ove biotičke činioce može biti konstitutivna (ne zavisi od prethodnog kontakta sa herbivorom/patogenom) ili indukovana (podrazumeva snažan i vremenski pravovremen odgovor) (Dicke i Hilker 2003). Sekundarni metaboliti u funkciji odbrane biljke mogu delovati na više načina: kao deterenti-antifidanti, toksično, ili kao prekursori za stvaranje fizičkog sistema odbrane (Bennett i Wallsgrove 1994). Mnoge vrste herbivora i patogena, specijalizovane za određenog domaćina, ne samo što ne izbegavaju odbijajuće i toksične efekte sekundarnih metabolita, već ih koriste za prepoznavanje domaćina i/ili hrane.

Sinteza nekih klasa sekundarnih metabolita je indukovana infekcijom, oštećenjem tkiva ili herbivorijom. Kod drvenastih vrsta, kao sekundarni metaboliti odgovorni za odbranu, najviše su izučavani tanini i druga fenolna jedinjenja (Haukioja 2005). Poseban interes izazivaju isparljiva organska jedinjenja (izopren, terpeni, alkani, alkeni, alkoholi, estri, karbonili, kiseline) koja ne samo da dopinose zaštiti drveća od herbivornih insekata (Kesselmeier i Staudt 1999, Fineschi i Loreto 2012), već imaju i signalnu funkciju delujući kao induktor oslobađanja isparljivih jedinjenja i kod drugih članova biljne zajednice (Kessler i Baldwin 2001).

Iako odbrana drvenastih vrsta od napada sisara podrazumeva sintezu osnovnih klasa sekundarnih metabolita (smole, fenoli, tanini, alkaloidi), ona ima i neke specifičnosti (Bryant i sar. 1991). Naime, pokazano je sekundarni metaboliti iz iste klase jedinjenja nemaju nužno i sličan efekat na različite vrste sisara (Clausen i sar. 1986), da manja/veća koncentracija sekundarnih metabolita u biljnom tkivu nije korelisana sa manje/više privlačnim ukusom za potencijalne konzumente (Reichardt i sar. 1990), kao i da je hemijska odbrana drvenastih vrsta efikasna tokom čitavog

vegetacionog ciklusa, iako su moguće promene u sastavu sekundarnih metabolita (Reichardt i sar. 1984), što ide u prilog pretpostavkama da u odbrani drvenastih vrsta od sisara herbivora glavnu ulogu imaju pojedini specifični sekundarni metaboliti (a ne klase jedinjenja).

Istraživanja sekundarnih metabolita u odnosima biljka/zemljište: Zemljište se može posmatrati kao skup različitih abiotičkih i biotičkih činilaca, pa stoga uloga sekundarnih metabolita u odnosu biljka/zemljište u šumskom ekosistemu zauzima posebno mesto. Sastav i produktivnost šumskog zemljišta se uveliko razlikuje u odnosu na stanište, matičnu stenu, i dominantne vrste drveća koje sačinjavaju određenu šumsku zajednicu (Binkley i Giardina 1998). Karakteristike zemljišta su izuzetno značajne za distribuciju vrsta u okviru šumskog staništa, dok u isto vreme ukupna produktivnost šumskog ekosistema snažno utiče na teksturu i kvalitet zemljišta (Pastor i Post 1998). Fenoli su osnovna komponenta humusa i odgovorni za većinu njegovih fizičko-hemijskih i bioloških osobina. Stvarajući komplekse sa nutrijentima, fenoli i humusni polimeri utiču na stepen produktivnosti i promet nutrijenata u zemljištu. Za formiranje humusa neophodna je oksidativna aktivacija fenola, a fenolne kiseline koje nisu vezane u humusu regulišu zemljišni kapacitet razmene katjona (Kuiters 1990). Tanini, čiji udeo u drvenastim vrstama iznosi oko 40% suve težine, osim uloge u odbrani biljke, značajno utiču na dinamiku kruženja materije u šumskom ekosistemu utičući na razlaganje stelje, kruženje nutrijenata, aktivnost mikroorganizama, obrazovanje humusnih kiselina, pravljenje kompleksa sa metalima i pedogenezu (Kraus i sar. 2003). Zemljišni organizmi imaju veoma značajnu ulogu u dinamici kruženja materije u šumskom ekosistemu, kako u razlaganju organske materije u zemlji i stelji, tako i u vertikalnom transportu ovih komponenti kroz zemljišne slojeve. Fenolna jedinjenja koja se oslobađaju iz vegetativnih organa šumskih biljaka utiču na sastav zajednica zemljišnih razlagača i na njihovu aktivnost. Rastvorljivi polifenoli mogu da deluju stimulatивно ili inhibitorno na klijanje spora i rast saprofitnih gljiva, dok su mikorizne gljive izuzetno osetljive na njihovu koncentraciju. Takođe, utiču na rast i aktivnost azotno-fiksirajućih bakterija, a u visokim koncentracijama mogu značajno da inhibiraju aktivnost zemljišne mikrofaune, što dodatno utiče na dinamiku nutrijenata, interakcije između vrsta i sukcesionu dinamiku u šumskom ekosistemu (Kuiters 1990, Souto i sar. 2000).

Istraživanja sekundarnih metabolita u prostornoj i vremenskoj distribuciji vrsta u šumskoj zajednici (alelopatija): Produkcija i akumulacija sekundarnih metabolita sa alelopatskim efektom

(hemijska jedinjenja koja utiču na klijanje, rast, opstanak i reprodukciju biljaka) je prirodan proces svojstven svim šumskim ekosistemima koji ima uticaj na razvoj i dinamiku celokupnog šumskog ekosistema (Blanco 2007). Sinteza specifičnih sekundarnih metabolita alelopatskog karaktera u šumskim zajednicama razmatra se sa aspekta odgovora šumskih vrsta na različite vrste stresa (Chou 1986), na invaziju drugih vrsta na staništu (Callaway 2002) i kao deo procesa sukcesije (Mallik 2003). Preko sto vrsta šumskog drveća sintetiše različite sekundarne metabolite sa alelopatskim efektom koji deluju na susedne biljke preko biljnih organa ili stelje (Coder 1999). Pored dokaza da alelohemikalije deluju na rast i razviće individue, kao i na populacije u okviru biljnih zajednica, koncept alelopatije se uglavnom odnosi na procese koji se odvijaju na nivou čitavog ekosistema, naročito u slučajevima gde na staništu dominiraju jedna ili dve vrste drveća sa alelopatskim efektima (Wardle i sar. 1998).

Istraživanja sekundarnih metabolita u hemotaksonomskim studijama: Fitohemijska istraživanja su značajna i za izučavanje filogenije, taksonomije i sistematike biljaka. Informacije dobijene na osnovu hemotaksonomskih studija doprinose da se upotpuni klasifikacija biljnih vrsta na bazi njihovih hemijskih konstituenata (Singh 2016). Poznato je da su hemijska struktura sekundarnih metabolita i njihovi biosintetski putevi često vrlo specifični i karakteristični za taksonomski bliske grupe. Sve poznate klase sekundarnih metabolita izolovanih iz vegetativnih i generativnih biljnih organa predstavljaju važne indikatore za utvrđivanje sistematskog položaja određenog biljnog taksona, a najviše se istražuju fenoli, alkaloidi, terpenoidi i neproteinske aminokiseline (Smith 1976). U okviru svake klase jedinjenja beleže se velike varijacije u hemijskom diverzitetu, distribuciji i funkciji, a princip hemotaksonomske klasifikacije se bazira na hemijskoj sličnosti različitih taksona (Hegnauer 1986). U okviru šumskih ekosistema, najveću primenu u hemotaksonomiji imaju isprarljiva jedinjenja (terpeni) (Otto i Wilde 2001), kao i različite vrste fenolnih jedinjenja prisutnih u kori drveta (Rowe 2012). Istraživanja u oblasti hemotaksonomije i hemosistematike se sve češće baziraju na kvantifikaciji nekoliko unapred odabranih jedinjenja iz grupe sekundarnih metabolita u cilju utvrđivanja veza između različitih biljnih taksona.

Istraživanja sekundarnih metabolita u populaciono-ekološkim studijama: Prepoznavanje razlika između različitih populacija u okviru taksona u ekološkim studijama ukazuje na postojanje specifičnih ekotipova, koji pokazuju fenotipske razlike na morfološkom i/ili fiziološkom nivou. Postojanje razlika između populacija, kao i između individua u okviru populacija u ukupnom

hemijskom sastavu, kao i sadržaju sekundarnih metabolita, ukazuje na postojanje različitih hemotipova u okviru vrste (Brenes-Arguedas i Coley 2005, Schlag i McIntosh 2006). U ekologiji, ovakva ispitivanja su od naročitog značaja, posebno kod vrsta sa širokim arealom rasprostranjenja, čije su populacije adaptirane na životne uslove u različitim staništima. Populacije šumskih vrsta su kontinuirano izložene kompleksu manje ili više promenljivih sredinskih faktora na staništu, i kojima se one prilagođavaju brojnim morfološkim, anatomskim, biohemijskim i molekularnim adaptacijama.

Biosinteza sekundarnih metabolita u prvom redu zavisi od primarnog biljnog metabolizma, odnosno fotosinteze, tako da razlike u sastavu različitih hemijskih jedinjenja između populacija mogu da ukažu na izvesne restrikcije u primarnoj produkciji biljka u pojedinim mikrostaništima. Ove razlike se mogu povezati sa preovlađujućim specifičnim sredinskim uslovima ili mogu imati genetičku osnovu (Said i sar. 2011).

Pojedini sekundarni metaboliti su odavno prepoznati kao hemotaksonomski markeri, na nivou roda, vrste, populacije, ekotipa, varijeteta, pod-vrste, forme, kultivara, genotipa, klona (Nikolić i sar. 2012). U izučavanju inter- i intra- populacionih fitohemijskih diferencijacija kod šumskih drvenastih vrsta najčešće se ispituju etarska ulja, pri čemu se uglavnom vrši uporedna analiza sadržaja i distribucije terpena i alkana (Filipowicz i sar. 2009, Said i sar. 2011, Bäck i sar. 2012), dok se flavonoidi više koriste za utvrđivanje razlika između vrsta i kod nižih taksonomskih kategorija (pod-vrste, varijeteti, forme) (Nikolić i sar. 2012). U ovim ispitivanjima, pored razlika u kvalitativnom sastavu, poseban značaj ima utvrđivanje kvantitativnih razlika. Preciznim utvrđivanjem količina prisutnih hemijskih jedinjenja u populacijama sa različitih staništa i u različitim jedinkama na mikrostaništu, dobijaju se informacije o sintezi specifičnih metabolita kao odgovoru na kompleks ekoloških faktora na staništu (Lankadurai i sar. 2013).

Istraživanja sekundarnih metabolita sa potencijalnim zdravstveno-pozitivnim efektima: U skladu sa rastućom tendencijom istraživanja hemijskih jedinjenja sa potencijalno korisnim efektima za zdravlje ljudi, i šumske drvenaste vrste predstavljaju objekte istraživanja, u smislu izolacije, karakterizacije i ispitivanja biološke aktivnosti sekundarnih metabolita. Iz različitih biljnih organa (vegetativnih i generativnih) mogu se izolovati etarska ulja, koja su od davnina imala primenu u lečenju. To su kompleksne smeše 20-60 hemijskih komponenti koje su prisutne

u različitim koncentracijama; obično dve ili tri osnovne komponente koje su prisutne u visokoj koncentraciji (20-70%) određuju biološke karakteristike etarskog ulja. Osnovne komponente etarskih ulja su iz grupe terpena ili terpenoida, a ostale mogu biti aromatični ili alifatični konstituenti obično male molekulske težine (Bakkali i sar. 2008). Ekstrakcijom iz biljnog materijala (upotrebom rastvarača različite polarnosti) dobijaju se ekstrakti koji sadrže fenolna jedinjenja, karboksi i masne kiseline, sumporna jedinjenja (Starmans i Nijhuis 1996, Harborne 1998). Dostupan je veliki broj *in vitro* i *in vivo* studija u kojima su prezentovani rezultati biološke aktivnosti ovih jedinjenja (etarskih ulja, ekstrkata i pojedinačnih hemijskih jedinjenja) kod velikog broja nižih i viših organizama, uključujući i čoveka.

1.2. Hemijsko-ekološka i fitohemijska istraživanja šumske flore u Srbiji

Prirodne populacije drveća i žbunastih vrsta na šumskim staništima u Srbiji istraživane su u cilju hemijske karakterizacije etarskih ulja i utvrđivanja hemijskog diverziteta, kao i populacione varijabilnosti. U cilju hemotaksonomske karakterizacije, analiziran je sastav etarskog ulja, terpena i n-alkana u prirodnim populacijama crnog bora u oblasti Mediterana sa šire teritorije Srbije (Bojović i sar. 2005, Bojović i sar. 2012, Šarac i sar. 2013), kao i sastav etarskog ulja planinskog bora iz Julijskih Alpa (Bojović i sar. 2016). Populaciona varijabilnost vrsta *Picea omorika*, *Pinus heldreichii* i *Pinus peuce* je ispitivana na osnovu sastava etarskog ulja izolovanog iz četina, terpena i n-alkana u prirodnim populacijama ovih vrsta sa teritorije Srbije (Bojović i sar. 2011, Nikolić i sar. 2007, Nikolić i sar. 2008, Nikolić i sar. 2011, Nikolić i sar. 2013a, Nikolić i sar. 2013b, Nikolić i sar. 2014, Nikolić i sar. 2015), kao i u vosku sa četina *Picea omorika* (Nikolić i sar. 2009). Prirodne populacije vrsta *Pinus mugo* (Stevanović i sar. 2005), *Pseudotsuga menziesii* (Tešević i sar. 2009) i *Taxus baccata* (Stefanović i sar. 2016) su fitohemijski okarakterisane na osnovu sastava etarskog ulja. Diarilheptanoidi, izolovani iz kore drveća iz prirodnih populacija vrsta *Alnus viridis* i *A. glutinosa*, definisani su kao pouzdani hemotaksonomski indikatori, a pokazali su izvesne biološke aktivnosti u kulturi ćelija (Novaković 2014, Dinić i sar. 2016). Takođe, dokazana je i njihova pouzdanost kao indikatora intra- i inter- populacione varijabilnosti (Vidaković i sar. 2018). Kod drvenaste vrste *Juniperus deltoids* iz različitih staništa sa teritorije Srbije i Hrvatske, utvrđena je hemijska varijabilnost između populacija i pokazano je da postoji više hemotipova, u

odnosu na sastav etarskog ulja i n-alkana u četinama (Rajčević i sar. 2013, Rajčević i sar. 2014a, Rajčević i sar. 2014b, Rajčević i sar. 2015).

U nekoliko hemijsko-ekoloških studija, publikovani su rezultati analiza fenolnih jedinjenja u stelji i zemljištu u odnosu na karakteristike sastojine omorike na Tari (Djurđević i sar. 2003), alelopatski odnosi između dominantnih vrsta hrastova na Avali (Djurđević i sar. 2005), kao i efekat fenola prisutnih na zemljištu u bukovo-lipovoj šumi na Avali na ekofiziologiju biljaka prizemnog sloja (Djurđević i sar. 2008).

1.3. Šumske drvenaste vrste, divlji srodnici voćnih vrsta

Područje Balkanskog poluostrva karakteriše se jedinstvenim biodiverzitetom i predstavlja jedan od centara diverziteta dendroflora (Medail i Quezel 1999). U odnosu na svoju površinu, Srbija se odlikuje izuzetnom florističkom raznovrsnošću vaskularnih biljaka koja je, između ostalog, rezultat specifičnih klimatskih, orografskih i edafskih uslova (Stevanović i sar. 1995). Među biljnim vrstama koje ulaze u sastav autohtonih šumskih zajednica Srbije, po svojim specifičnim odlikama, izdvajaju se divlji srodnici voćaka (samoniklo šumsko voće). Ove vrste su najčešće cenobionti mezofilnih listopadnih šuma brdsko-planinskih regiona. Po podacima Martinić i Fotirić-Akšić (2014) na području Srbije konstatovano je prisustvo 100 divljih vrsta šumskog samoniklog voća, svrstanih u 15 familija i 26 rodova, dok Nikolić i sar. (2004) navode 122 vrste (88 drvenastih) svrstanih u 23 familije i 38 rodova. U obe studije se ističe mišljenje da je prostor Srbije primarni genetički centar za većinu vrsta voćaka koje se danas gaje. Najveći broj vrsta je iz rodova *Rosa*, *Rubus*, *Prunus*, *Sorbus* i *Crataegus*. Po životnoj formi većina šumskog samoniklog voća pripada nanofanerofitama i fanerofitama.

Samonikle vrste voćaka adaptirane su na ekološke uslove u prirodnim šumskim zajednicama i njihovi plodovi u odnosu na plodove gajenog voća često imaju veću biološku vrednost zahvaljujući specifičnom hemijskom sastavu, pre svega prisustvu značajnih količina bioaktivnih jedinjenja (Smith i sar. 2000). Takođe, plodovi samoniklih voćaka imaju značajan udeo u ishrani sitnih sisara i rezidentnih i migratornih ptica tokom zime, pa ove biljke predstavljaju važan deo lanca ishrane u šumskim ekosistemima. Jestivi plodovi samoniklih voćnih vrsta mogu biti sušni ili sočni.

Perikarp (oplodnica) sočnih plodova je mesnat, i to delimično, kada pored mesnatog postoji i odrveneli deo (koštica) kao kod koštunice, ili je sočan u potpunosti, kao kod bobice.

Odavno je dokazano da samoniklo voće sadrži obilje dijetetskih vlakana, vitamina, minerala i posebno velike količine biološki aktivnih jedinjenja. Postoje mnogobrojni dokazi da su različiti delovi ovih biljaka bili sastavni deo svakodnevne ishrane pripadnika raznih drevnih civilizacija, a korišćeni su i za prevenciju i za lečenje različitih poremećaja zdravlja, kao i za spravljanje preparata koji su se koristili u kozmetici (Etkin 2000). Izvestan broj vrsta ima plodove koji su neukusni za konzumiranje, iako nisu toksični. Neprivlačan ukus ili teška svarljivost ovih plodova potiče od njihovog specifičnog hemijskog sastava, i potvrđuje primarnu ekološku ulogu sekundarnih biljnih metabolita u odbijanju potencijalnih herbivora. Ipak, i plodovi ovih vrsta se smatraju potencijalno jestivim (u obrađenom stanju), i po mnogim drugim kriterijumima korisnim za zdravlje ljudi (Etkin 2000). Mnoge, do sada nedovoljno proučavane, voćnim vrstama srodne divlje vrste sa jestivim i potencijalno jestivim plodovima koje su poznate iz etnobotaničkih i etnofarmakoloških izvora privukle su pažnju istraživača širom sveta kao novi izvori prirodnih antioksidanasa. Različiti pristupi (hemijski, biohemijski, ekološki, morfološki, farmkološki i molekularni) primenjuju se u ovim istraživanjima. Generalno, pažnja istraživača usmerena na sveobuhvatno izučavanje već dokazanih ili potencijalno lekovitih ili jestivih biljnih vrsta je u konstantnom porastu, a u poslednje dve decenije pažnju su privukle i manje izučavane vrste iz prirodnih populacija i sa nezagađenih staništa (divlje ili samonikle) (Pawlowska i sar. 2010, Adamczak i sar. 2012, Mikulič-Petkovšek i sar. 2012, Roman i sar. 2013, Ruiz-Rodríguez i sar. 2014, Mikulič-Petkovšek i sar. 2016, Mudge i sar. 2016).

Zbog široke ekološke valence i dekorativnog izgleda pojedine drvenaste samonikle vrste voćaka često se koriste u pejzažnoj arhitekturi za uređenje parkova i zelenih površina u urbanim sredinama. Ove vrste imaju i značajnu ulogu u pošumljavanju goleti i smanjenju površina degradiranih zemljišta jer su veoma adaptivne i razvijaju dubok i razgranat korenov sistem, pa se uspešno vezuju za suve i erozivne terene. U voćarskoj proizvodnji, šumske voćne vrste predstavljaju početni materijal u selekciji i oplemenjivanju gajenih voćaka kako bi se poboljšala otpornost prema patogenima, štetočinama i nepovoljnim ekološkim uslovima i time smanjila primena hemijskih sredstava zaštite gajenog voća, a pojedine samonikle voćne vrste se koriste kao generativna podloga. Mnoge samonikle voćne vrste imaju medonosna i lekovita svojstva.

Samoniklo šumsko voće, pre svega njihovi plodovi, i danas predstavljaju jednu od najomiljenijih i najzastupljenijih grupa jestivih divljih biljaka lokalnog ruralnog stanovništva u brdskim i planinskim regionima Srbije u kojima, zbog specifičnih ekoloških uslova, samo mali broj voćaka gajenih u kulturi može da opstane. Pored uloge u ishrani, sakupljanje i prodaja plodova najpoznatijih i najcenjenijih vrsta samoniklog voća za lokalno stanovništvo može da predstavlja i značajan sezonski izvor prihoda, jer su za ove proizvode zainteresovane prehrambena i farmaceutska industrija. Naša narodna medicina sadrži obilje tradicionalnih recepata u kojima se listovi, cvetovi, plodovi i kora mnogih samoniklih voćnih vrsta upotrebljavaju za sprečavanje nastanka (blagotvorno deluju na poboljšanje opšteg zdravstvenog stanja, kao i na specifična medicinska stanja), kao i na ublažavanje i lečenje mnogih poremećaja i bolesti (imaju antireumatično, antimikrobno, antiinflamatorno, antiparazitsko i sedativno dejstvo, koriste se za lečenje opekotina i nekih kožnih bolesti, snižavanje pritiska, koncentracije šećera u krvi, itd) (Gostuški 1979). Da se ne bi narušila stabilnost šumskih zajednica, eksploatacija pojedinih vrsta na prirodnim staništima regulisana je zakonom (*Uredba o stavljanju pod kontrolu korišćenja i prometa divlje flore i faune*, Službeni glasnik RS, br. 31/2005, 45/2005, 22/2007, 38/2008 i 09/2010). Značaj zaštite i očuvanja prirodnih populacija biljaka koje su divlji srodnici jestivih i/ili lekovitih gajenih vrsta *in situ* i *ex situ* je prepoznat na pan-evropskom nivou, i formulisan u obliku Evropske Strategije za očuvanje biljaka (European Strategy for Plant Conservation) (Planta Europa 2008) i u obliku EU Strategije biodiverziteta za 2020 (European Commission 2011). Sve zemlje Evrope i Centralne Azije su se obavezale u pogledu očuvanja genetičkog diverziteta biljnog i životnjskog fonda koji može biti potencijalno korišćen u ishrani ljudi.

1.4. Biološki aktivna jedinjenja

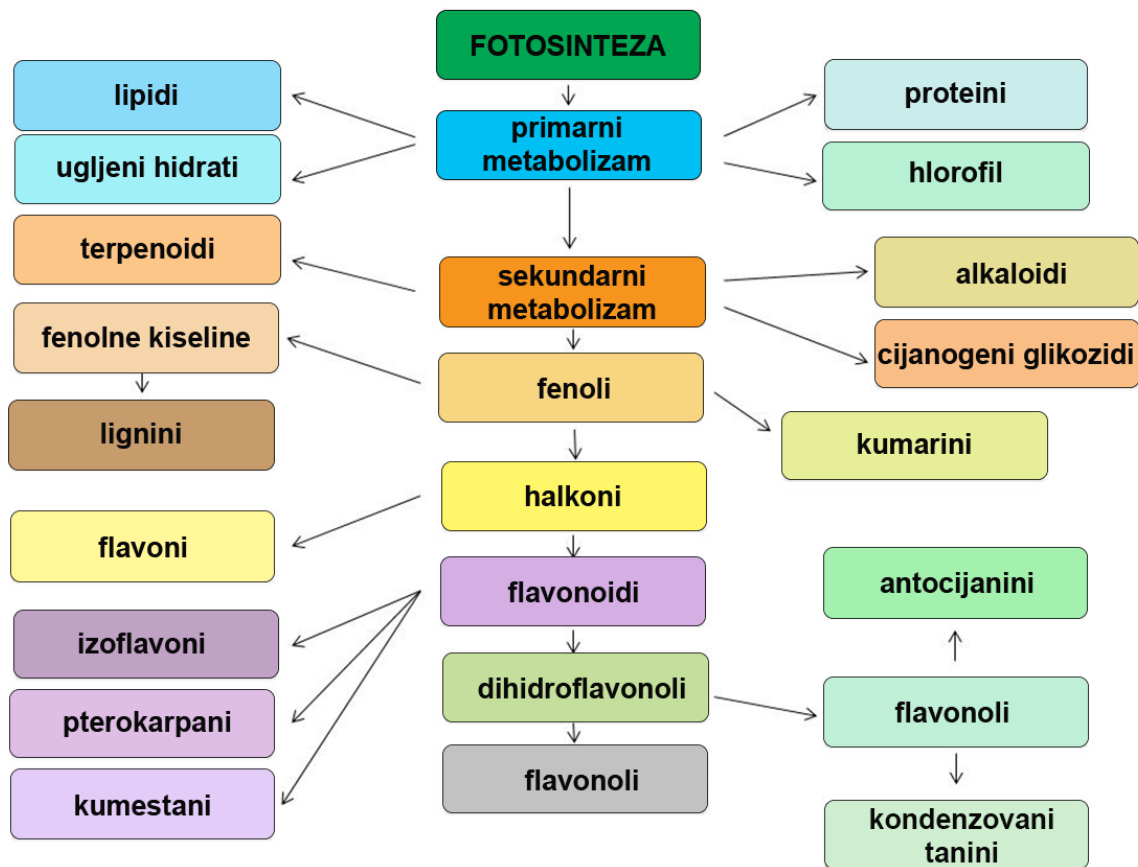
1.4.1. Hemijska jedinjenja biološkog porekla

Iako se hemijska jedinjenja biološkog porekla izučavaju već više od jednog veka, inventar prirodnih molekula još uvek nije konačan i konstantno se proširuje pronalaženjem novih struktura i funkcija nepoznatih ili nedovoljno istraženih prirodnih proizvoda (Cladry i Walsh 2004). Hemijska karakterizacija prirodnih molekula je uvek povezana sa rasvetljavanjem bioloških i biohemijskih mehanizama njihove potencijalne terapijske aktivnosti, i interes farmakoloških

kompanija za intenzivna istraživanja u ovoj oblasti datira još od pronalaska antibiotika. Postojanje velikog broja različitih hemijskih jedinjenja biološkog porekla je predmet razmatranja raznih evolucionih teorija, obzirom da koncept prirodne selekcije podrazumeva da bi cena sinteze bilo kog organskog molekula imala svrhu jedino ukoliko se time povećava fitnes jedinke (Firn i Jones 2003). Biološka aktivnost prirodnih proizvoda u svetlu prirodne selekcije nije jednaka biološkoj aktivnosti koja se danas podrazumeva u traganju za novim farmakološki aktivnim jedinjenjima. Uprkos poznavanju molekularne strukture jedinjenja, njihova aktivnost u drugim biološkim sistemima nije predvidljiva, zbog čega se ogroman broj jedinjenja intenzivno testira u *in vitro* i *in vivo* studijama. Ipak, u velikom broju hemijskih interakcija između različitih vrsta u prirodi učestvuju jedinjenja koja nemaju biološku aktivnost sa farmakološkog aspekta. Postojanje ogromnog broja različitih hemijskih jedinjenja u prirodi ukazuje na beskrajn biološki diverzitet i skreće pažnju na biotičke odnose koji su uspostavljeni u prirodnim ekosistemima (Berenbaum i Zangerl 1996). Iz evoluciono-ekološke perspektive, organsko jedinjenje koje se može naći kod jednog taksona ne bi nužno ispoljilo biološku aktivnost u odnosu na drugi takson koji je ekološki udaljen (sa kojim ne deli zajedničko stanište, resurse, interakcije). Zbog toga, od ogromnog broja testiranih prirodnih jedinjenja, tek mali procenat pokazuje biološku aktivnost od farmakološkog značaja (Firn 2003). Proizvodi prirodnog porekla koji su potvrdili svoju aktivnost u drugim biološkim sistemima su izolovani iz biljka, gljiva, algi, životinja, mikroorganizama (Bidlack i sar. 2000). Fito-hemijsko ispitivanje biljaka i farmakološko ispitivanje njihovih proizvoda je najčešće indikovano podacima o upotrebi pojedinih vrsta u tradicionalnom lečenju u različitim kulturama (Popović i sar. 2016). Imajući u vidu da se od ukupnog broja biljnih vrsta na Zemlji (250.000-500.000), 50.000 vrsta koristi u medicinske svrhe (Idu 2013), a da je svega oko 5.000 vrsta fitohemijski ispitano (Rates 2001), očekuje se da će veliko interesovanje naučne javnosti u ovoj oblasti biti nastavljeno i u budućim godinama.

1.4.2. Sekundarni metaboliti biljaka

Terminom “sekundarni” je još 1891 godine A. Kossel nazvao metabolite koji su, za razliku od “primarnih” - prisutnih u svakoj živoj ćeliji (Slika 2), prisutni samo u pojedinim biljkama i nisu neophodni za održavanje osnovnog metabolizma biljaka (Edreva i sar. 2008). Njihova sinteza se odvija fenilpropanoidnim putem (Hollman 2001), pri čemu se za ovu sintezu i alokaciju metabolita troše izvesni energetski resursi primarnog metabolizma (Stamp 2003).



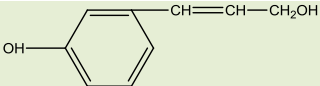
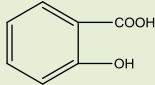
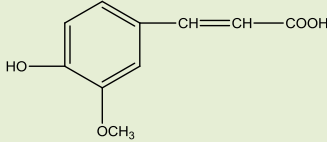
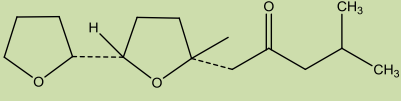
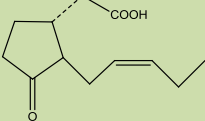
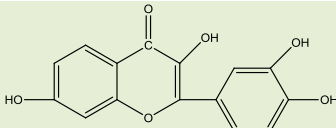
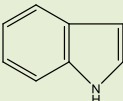
Slika 2. Povezanost primarnog i sekundarnog metabolizma biljaka
(prilagođeno iz Giada 2013)

Sekundarni metaboliti su niskomolekularna organska jedinjenja koja se javljaju u svim živim bićima, ali su naročito rasprostranjena u biljnom svetu. Smatra se da postoji veliki broj sekundarnih metabolita, procenjeno je da njihov ukupan broj prevazilazi 500.000, mada je do početka 21. veka tek nešto više od 100.000 ovih niskomolekularnih jedinjenja hemijski okarakterisano (Hadacek 2002). Veliki broj informacija o sekundarnim metabolitima moguće je naći u obimnoj NAPRALERT® (Natural product alert) bazi podataka. Iako sadrži više od 200.000 naučnih i revijalnih radova, i sami tvorci ove baze procenjuju da ona trenutno uključuje samo oko 20% globalne literature o prirodnim proizvodima koja je publikovana od 2005. do danas.

Imenom sekundarni metaboliti su obuhvaćeni hemijski veoma različiti tipovi jedinjenja, gde su zastupljene sve glavne klase organskih jedinjenja: alifatična, aromatična, hidroaromatična, heterociklična; odnosno, osnovni ugljenični skeleti sa mnoštvom funkcionalnih grupa (Slika 3). Bez obzira na njihovu veliku raznovrsnost, utvrđeno je da se oni sintetišu od samo tri osnovna građivna bloka: acetata, mevalonata i šikimata (Waterman 2005).

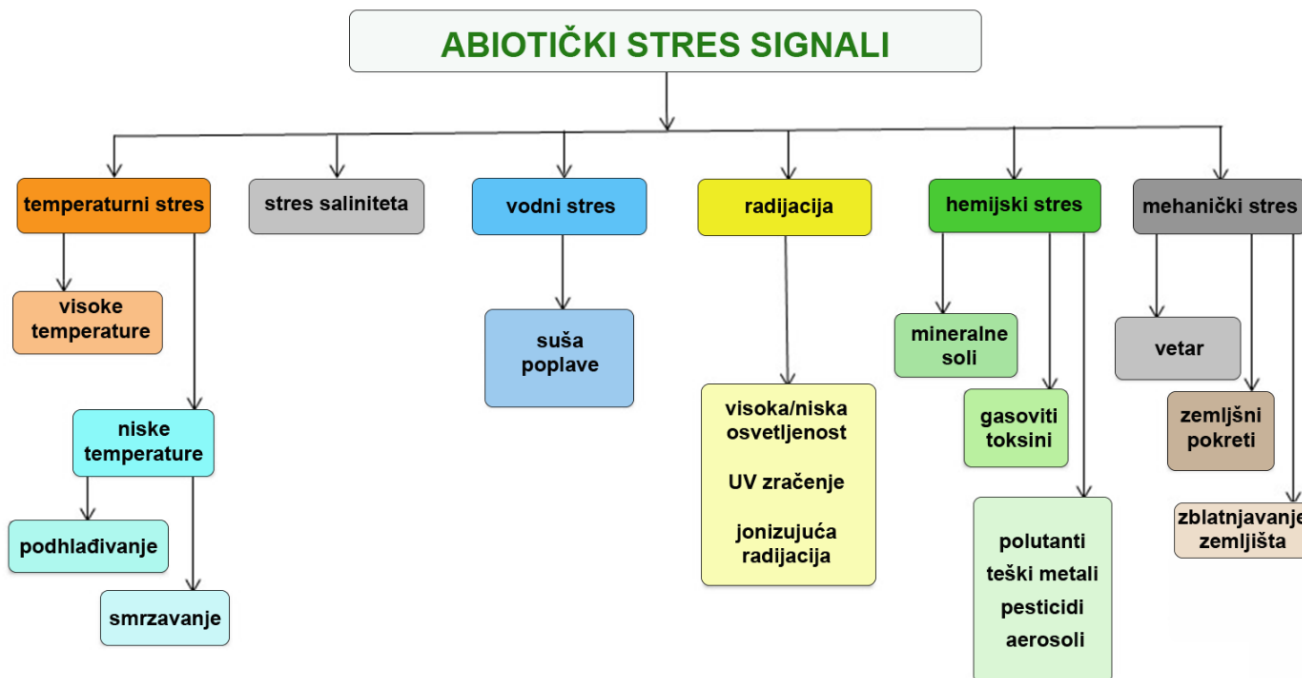
Sposobnost biljaka da sintetišu sekundarne metabolite (iz primarnih metabolita - ugljenih hidrata, masti i aminokiselina) nastala je tokom selektivne evolucije u različitim rodovima biljaka kada je postojala potreba da se ostvari određeni ekofiziološki odogovor (Pichersky i Gang 2000, Wink 2003). Iako još uvek nisu dovoljno rasvetljeni putevi biosinteze mnogih sekundarnih metabolita biljaka, sigurno je da su oni veoma kompleksni i višefazni, kao i da uključuju veliki broj enzima, multienzimskih sistema i regulatora ovih enzima, koji su u većini slučajeva specifični za određeni supstrat i regulišu sintezu samo jednog produkta (Somerville i Somerville 1999).

Količina i sastav sekundarnih metabolita odraz su genetičkog potencijala određenog taksona, a njihova sinteza, odnosno dinamika ispoljavanja, rezultat je prilagođavanja vrste specifičnim sredinskim faktorima. Smatra se da je veliki hemijski diverzitet ovih jedinjenja nastao kao rezultat složenog višestepenog evolucionog odgovora biljaka na opasnosti od napada herbivora, odnosno patogena. Sa druge strane, sinteza i alokacija ovih odbrambenih jedinjenja podrazumeva izvesnu metaboličku cenu, koja je delimično opravdana sigurnijom reprodukcijom jer biljka ne trpi štetu gubitka biomase izazvanu herbivorama ili patogenima (Theis i Lerdaui 2003).

| Hemijski tip | Formula | Predstavnic |
|-------------------------------|--|---|
| Alifatična jedinjenja | $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ | Poliamini |
| | $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$ $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}_2$ | Etilen Isopren |
| Aromatična jedinjenja |  | Fenolni alkoholi |
| |  | Fenolne kiseline |
| |  | Nezaićene aromatične organske kiseline |
| Hidroaromatična jedinjenja |  | Terpenoidi |
| |  | Jasmonska kiselina |
| Heterociklična jedinjenja |  | Flavonoidi |
| |  | Derivati indola |

Slika 3. Osnovni hemijski tipovi sekundarnih metabolita

Obzirom da sekundarni metaboliti nisu neophodni za održavanje primarnog metabolizma biljke, smatra se da je njihova funkcija u biljkama prevashodno ekološka, u adaptiranju na abiotičke uslove okruženja i u odbrani (Bennett i Wallsgrove 1994). Pored toga, ovi biljni konstituenti imaju značajnu ulogu u rastu (signalna funkcija, zaštita od UV zračenja) i razmnožavanju biljaka (oprašivanje, rasejavanje plodova), kao i u složenim odnosima u okviru biljnih zajednica i ekosistema (kompeticija, parazitizam, alelopatija) (Harborne 1993).



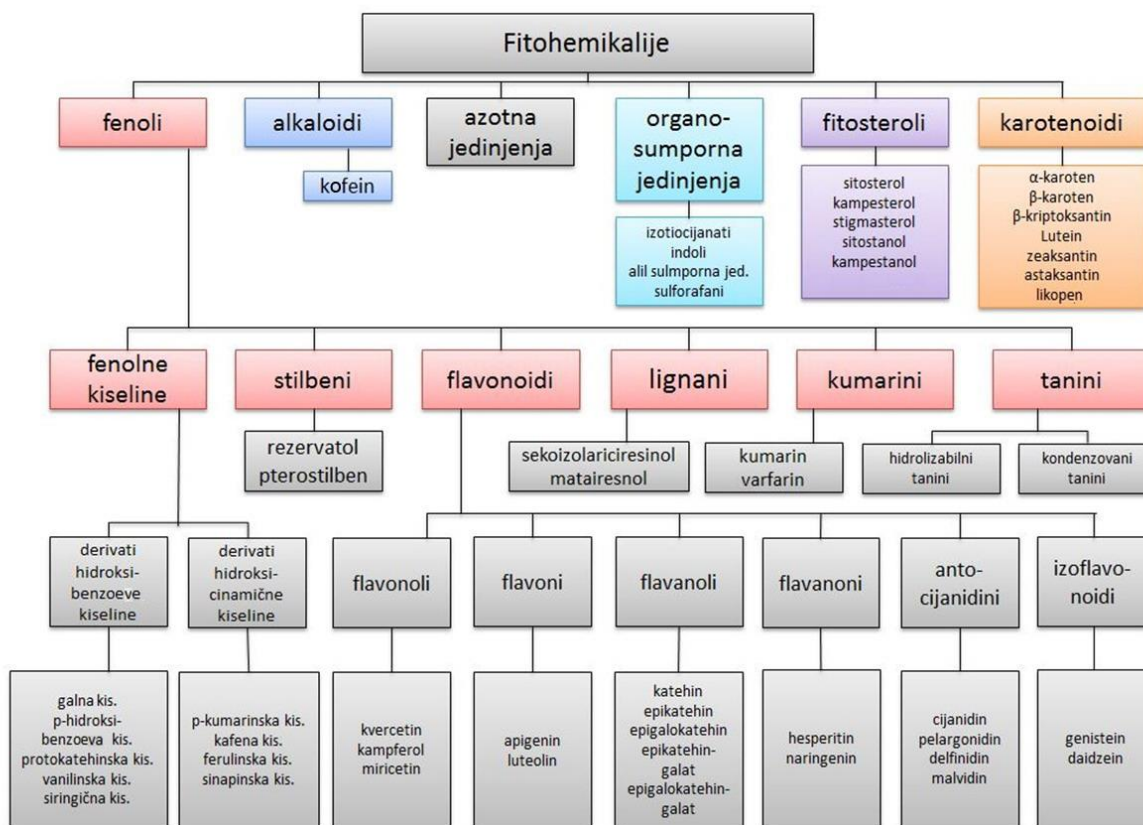
Slika 4. Abiotički stres signali (*prilagođeno iz Edreva i sar. 2008*)

Mnogobrojni faktori spoljašnje sredine predstavljaju svojevrsne “stres signale” (Slika 4), odnosno mogu da indukuju sintezu pojedinih sekundarnih metabolita. Brojna istraživanja specifičnih odgovora na pojedine faktore spoljašnje sredine su pokazala da su sekundarni metaboliti značajni i kao indikatori različitih vrsta stresa (Akula i Ravishankar 2011, Lankadurai i sar. 2013, Matić i sar. 2015). Zbog toga su postali prepoznatljivi kao deo uobičajenih adaptivnih strategija biljaka (napr. akumulacija antocijana prilikom narušenog odnosa Na/K, promena iz mono- u orto-hidroksi supstituciju na B-prstenu antocijanskog aglikona u cilju povećanja kapaciteta za “hvatanje” slobodnih radikala, promena sinteze polifenola u uslovima vodnog stresa, emisija izoprena kao ozonska zaštita i prilikom toplotnog stresa, itd.) (Edreva i sar. 2008).

1.4.3. Biološki aktivna jedinjenja sa potencijalnim pozitivnim zdravstvenim efektom – fitohemikalije

Biološki aktivna jedinjenja koja imaju potencijalno koristan efekat na zdravlje ljudi i ne obuhvataju jedinjenja koja imaju hranjivu funkciju su poznata i pod imenom fitohemikalije („phytochemicals“, Liu 2013). Preko 5.000 jedinjenja sa ovim svojstvima je identifikovano u

plodovima voća, povrću, žitaricama, leguminozama, orašastim plodovima, a smatra se da velika većina još uvek nije izolovana (Liu 2003). Ova velika grupa jedinjenja je klasifikovana su u šest osnovnih grupa: fenoli, alkaloidi, azotna jedinjenja, organosumporna jedinjenja, fitosteroli i karotenoidi (Slika 5), i uglavnom imaju ulogu prirodnih antioksidanasa (Liu 2013). Iako imaju niži bioaktivni potencijal u poređenju sa farmaceutskim lekovitim supstancama, zbog činjenice da se svakodnevno kroz hranu unose u malim količinama dugoročno mogu izazvati primetan fiziološki efekat (Espín i sar. 2007).



Slika 5. Podela sekundarnih metabolita sa pozitivnim zdravstvenim efektima (preuzeto iz Liu 2013)

Halliwell (1994) je definisao prirodne (biološke) antioksidanate kao “supstance koje su prisutne u malim koncentracijama u odnosu na supstrat (biomolekul) koji se oksiduje i koje značajno

usporavaju ili sprečavaju oksidaciju tog supstrata”, dok su Shi i sar. (2001) klasifikovali ova jedinjenja prema nivou i načinu delovanja u ljudskom organizmu na: preventivne antioksidante (sprečavaju nastanak slobodnih radikala), “skeptičer” antioksidante (imaju sposobnost da “hvataju” slobodne radikale) i “reparacione” antioksidante (deluju posebnim mehanizmima, obnavljajući ili uklanjajući oštećene vitalne biomolekule koji nastaju u uslovima oksidativnog stresa). Imajući u vidu veoma raznovrsnu strukturu prirodnih antioksidanata, mehanizmi kojima oni ostvaruju aktivnost u sistemu antioksidantne zaštite se razlikuju. Prema mestu nastajanja antioksidanti značajni za ljudski organizam dele se na: endogene (koji nastaju u ljudskom organizmu) i egzogene (koji se unose putem hrane ili lekova). Fenolna jedinjenja su jedna od najvažnijih grupa prirodnih egzogenih antioksidanata, a aktivnost i biološka dostupnost ovih jedinjenja su uslovljeni njihovim strukturnim karakteristikama.

1.4.4. Fenolna jedinjenja

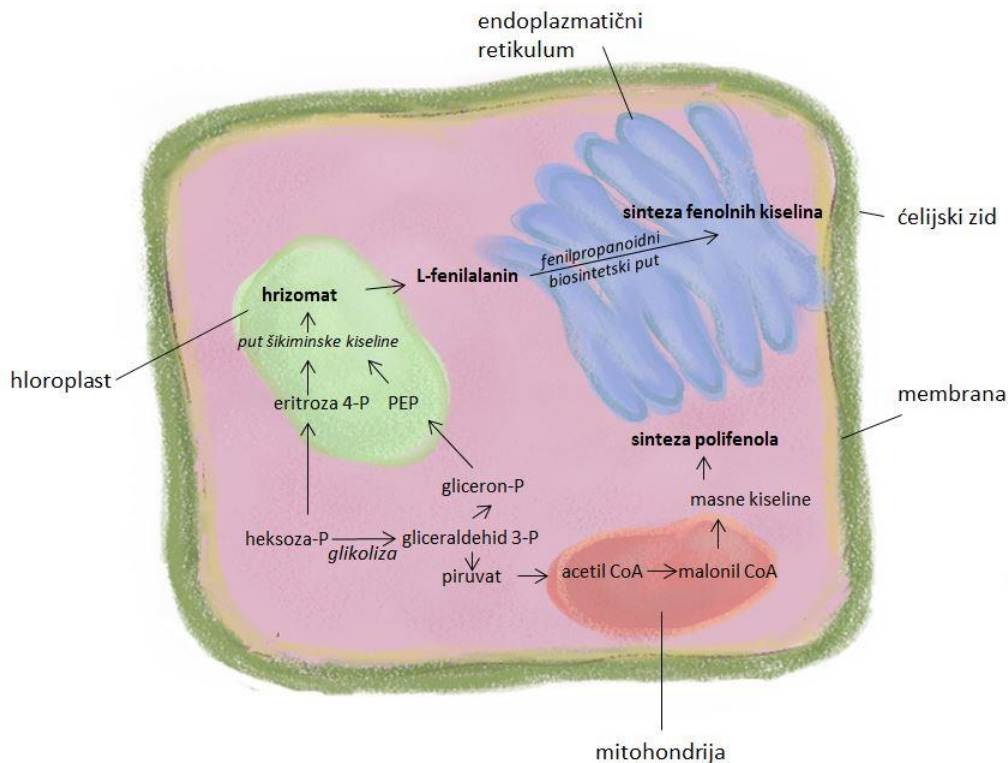
Fenolna jedinjenja su supstance koje poseduju aromatični prsten za koji je vezana jedna ili više hidroksilnih grupa. S obzirom na veliku raznovrstnost fenola prisutnih u biljkama, u savremenoj literaturi postoje različite klasifikacije, pri čemu se većina od njih zasniva na hemijskoj strukturi, biološkoj funkciji i biosintetskom poreklu ovih jedinjenja. Podela fenola na osnovu njihovog osnovnog skeleta obuhvata sledeće klase: C_6 (jednostavni fenoli, benzohinoni), C_6-C_1 (fenolne kiseline), C_6-C_2 (fenilsirćetne kiseline), C_6-C_3 (hidroksicinamične kiseline, kumarini, fenilpropani, hormoni), C_6-C_4 (naftohinoni), $C_6-C_1-C_6$ (ksantoni), $C_6-C_2-C_6$ (stilbeni, antrahinoni) $C_6-C_3-C_6$ (flavonoidi, isoflavonoidi, neoflavonoidi), $(C_6-C_3-C_6)_{2,3}$ (bi-, triflavonoidi), $(C_6-C_3)_2$ (lignani), $(C_6)_n$ (katehol melanini) i $(C_6-C_3-C_6)_n$ (kondenzovani tanini) (Lattanzio 2013).

Polifenoli su najrasprostranjenija klasa sekundarnih metabolita u prirodi, i njihova zastupljenost u biljnom svetu je gotovo univerzalna (Tsao 2010). Poznato je više od 8.000 fenolnih jedinjenja, koja se po svojoj strukturi veoma razlikuju. Procenjuje se da se oko 20% ugljenika vezanog u fotosintezi preusmerava u fenilpropanoidni biosintetski put (ciklus šikimske kiseline ili acetatnomalonatni ciklus) i da se na taj način sintetiše velika većina prirodnih fenolnih jedinjenja (Metcalf 1987, Ralston i sar. 2005). U ovu brojnu grupu se ubrajaju i fenolne kiseline, iako suštinski nisu

polifenolna već monofenolna jedinjenja, one se zbog mnogih svojih osobina i karakteristika smatraju „funktionalnim polifenolima“ (Dixon 2004).

Fenolna jedinjenja u biološkim sistemima ispoljavaju antioksidativnu aktivnost, tako što reaguju sa slobodnim radikalima brže nego supstrat. Znajući da su slobodni radikali izrazito reaktivni u odnosu na brojne organske molekule, lipide, masti i proteine, označeni su kao izazivači brojnih degenerativnih bolesti. Generalno, postoje dva načina oksidacije u kojima antioksidansi mogu imati preventivnu ulogu u reakciji sa slobodnim radikalima: transferom vodnonikovog atoma ili transferom elektrona (Wright i sar. 2001). Zahvaljujući izrazitoj antioksidativnoj sposobnosti, fenolna jedinjenja imaju sposobnost da direktno vezuju („hvataju“) slobodne kiseonikove i azotne radikale (Kancheva 2009), heliraju peroksidativne metalne jone (Michalak 2006), aktiviraju antioksidacijske enzime (Lü i sar. 2010) i inhibiraju peroksidacijske enzime (Krylov i Dunford 1996).

Fenolna jedinjenja se sintetišu u hloroplastima i citoplazmi biljne ćelije (Kefeli i Kalefitch 2002). Fenole kiseline se sintetišu putem biosinteze šikiminske kiseline, dok je biosinteza kompleksnih polifenola, flavonoida, povezana sa primarnim metabolizmom preko plastidnih i mitohondrijalnih intermedijera (Slika 6) (Tsao 2010, Jacobo-Velázquez i Cisneros-Zevallos 2012). Nakon sinteze na citoplazmatičnoj površini endoplazmatičnog retikuluma, fenolna jedinjenja se transportuju do vakuola (Kitamura 2006). Biosinteza i akumulacija polifenolnih jedinjenja se kontroliše, endogeno, tokom rasta biljke (Macheix i sar. 1990), ili se reguliše egzogenim faktorima kao što su svetlost, temperatura, različita oštećenja i drugi stresni sredinski faktori (Dixon i Paiva 1995). Pokazano je da je biosinteza fenil-karboksilnih kiselina i flavonoida stimulisana nakon izlaganja hloroplasta svetlosti, dok metabolčki inhibitori fotosinteze (simazin, diruol, hloramfenikol) negativno utiču i na sintezu flavonoida (Kefeli i Kalefitch 2002). Svetlost je početni inicijator sinteze fenolnih jedinjenja, a takođe i indukuje sintezu flavonoida iz prekursora (kalhoni i fenolkarbonske kiseline) u hloroplastima i citoplazmi.



Slika 6. Ćelija: metabolički mehanizam biljaka koji se koristi za biosintezu fenola (prilagođeno iz Tsao 2010, Jacobo-Velázquez i Cisneros-Zevallos 2012)

Osim stimulacije, inhibicije i regulacije biosintetičkog mehanizma, za razumevanje ekološke uloge fenolnih jedinjenja je važno utvrditi njihovu lokalizaciju i funkciju u pojedinim biljnim organima i tkivima (Hutzler i sar. 1998). Pokazano je da se fenolna jedinjenja i enzimi uključeni u njihovu biosintezu najviše akumuliraju u centralnoj vakuoli i ćelijama pomoćnicama, u epidermalnim i subepidermalnim ćelijama listova (Moskowitz i Hrazdina 1981, Weissenbock i sar. 1986, Schnabl i sar. 1989) i izdanaka (Ozimina 1979). Neka jedinjenja se kovalentno vezuju u ćelijskim zidovima (Strack i sar. 1988, Schnitzler i sar. 1996), dok su neka vezana u voskovima ili na spoljašnjoj površini biljnih organa (Schmutz i sar. 1994). Značajna akumulacija fenolnih jedinjenja u spoljašnjim izraštajima epidermisa, kao što su trihomi, potvrđuje njihovu UV-zaštitnu (Rozema i sar. 1997) i antiherbivornu funkciju (Close i McArthur 2002). Polifenolna jedinjenja se akumuliraju i u ćelijskim zidovima na površini ploda (Guern i sar. 1987, Monties 1989), a stepen njihove akumulacije varira zavisno od izloženosti biljke svetlosti (Wollenweber 1994) i od njenog

fiziološkog stanja (Macheix i sar. 1990). Ova jedinjenja su od velike važnosti za biljku jer čine integralni deo strukture ćelijskog zida (kao polimeri), gradeći mehničku barijeru u odbrani od mikroorganizama i značajni su za organoleptičke osobine i pozitivne zdravstvene efekte plodova, dok neka polifenolna jedinjenja imaju ulogu biljnih pigmenata.

Fenolna jedinjenja se nalaze i u hloroplastima, gde se takođe može odvijati i njihova sinteza (Pollastri i Tattini 2011, Hernández i sar. 2009). U hloroplastima, tokom obavljanja reakcija u svetlosnoj fazi fotosinteze, flavonoidi imaju funkciju u elektronskom transportu i fotofosforilaciji, a postoji pretpostavka da fenoli imaju i izvesnu ulogu u samoj akumulaciji svetlosne energije (Kefeli i Kalefitch 2002). Flavonoidi u hloroplastima sprečavaju da slobodni kiseonik ($1O_2$) napusti hloroplast, i održavaju integritet membrane remodelirajući lipidni sloj tokom ćelijske dehidracije (Moellering i sar. 2010, Inoue 2011). Pored toga imaju ulogu supstrata (polifenoli i njihovi produkti se koriste u različitim biosintetskim putevima), energetskog izvora (transport elektrona i protona, razmenu jona i membranskog potencijala, obrazovanje radikala) i regulatora (učestvuju u enzimskim reakcijama kao inhibitori ili aktivatori) (Kefeli i Kalefitch 2002).

Dokazano je da se uslovima stresa (prekomerno UV zračenje, oštećenje tkiva, infekcija) u biljkama indukuje sinteza polifenolnih jedinjenja (Dixon i Paiva 1995). Fenolna jedinjenja koja se akumuliraju pre napada mikroorganizama se javljaju u formi toksina, a postinfekcijska polifenolna jedinjenja u formi fitoaleksina. Među polifenolnim toksinima i fitoaleksinima najvažnije su hidroksikumarini, derivati hidroksicimentne kiseline i flavonoli (Starck 1997).

Fenolna jedinjenja su važna i za kvalitet hrane biljnog porekla: daju karakterističnu boju i ukus svežem voću, sokovima i vinu. Konzumacija biljnih plodova sa velikim sadržajem fenola dopinosi zdravlju ukoliko se oni konzumiraju u svežem stanju, dok se prilikom obrade i skladištenja fenoli delimično konvertuju u nove i nedovoljno poznate derivate (Cheynier 2012).

Istraživanja sadržaja fenolnih jedinjenja u svežim biljnim plodovima, kao i biološke aktivnosti ekstrakata dobijenih iz svežih plodova su aktuelna tokom niza godina (Li i sar. 2016). Mnoge vrste gajenog voća koje su sastavni deo svakodnevne ishrane su fitohemijski ispitane sa ovog aspekta, i prisustvo i količina pojedinih fenolnih jedinjenja u njihovim jestivim plodovima su poznati. Značajno manje podataka je dostupno za divlje srodnike voćnih vrsta koje rastu na prirodnim staništima, a do sada urađene studije dokazuju da pojedine retko proučavane, samonikle vrste sa

jestivim plodovima, naročito one sa prirodnih, nezagađenih staništa sadrže veće koncentracije prirodnih antioksidanata u odnosu na gajene vrste (Pawlowska i sar. 2010, Adamczak i sar. 2012, Mikulič-Petkovšek i sar. 2012, Roman i sar. 2013, Ruiz-Rodríguez i sar. 2014, Mikulič-Petkovšek i sar. 2016).

1.4.4.1. Fenolne kiseline

Fenolne kiseline su široko rasporstanjeni sekundarni biljni metaboliti koji doprinose jedinstvenom ukusu i boji povrća i voća (Tomas-Barberan i Espin 2001) i ispoljavaju brojne biološke aktivnosti (Dai i Mumper 2010). Njihova sinteza u biljkama se odvija kao odgovor na faktore okruženja (svetlost, niske temperature, zagađenje, i sl.) i u cilju obnavljanja oštećenih delova biljnog tkiva (Kefeli i sar. 2003).

Fenolne kiseline koje su zastupljene u biljnom svetu se sastoje od fenolnog jezgra i bočnog niza koji sadrži jedan (derivati benzoeeve kiseline) ili tri (derivati cimetine kiseline) ugljenikova atoma. Fenolne kiseline obuhvataju hidroksi i druge funkcionalne derivate benzoeeve i cimetine kiseline.

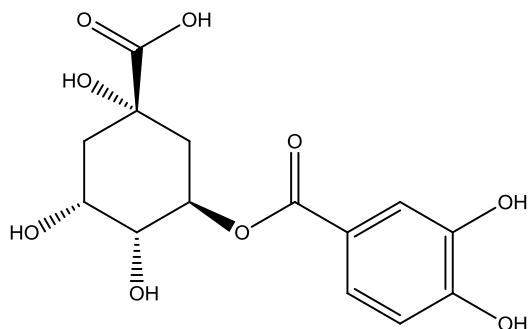
Derivati hidroksibenzoeeve kiseline nastaju hidroksilovanjem ili metilovanjem aromatičnog jezgra, i najčešće se u biljkama javljaju, slobodne ili vezane za ćelijski zid, *p*-hidroksibenzoeva, vanilinska, siringinska i protokatehinska kiselina. Derivati hidroksicimetine kiseline imaju C₆-C₃ strukturu, i najzastupljeniji su *p*-kumarinska, kafena, ferulna i sinapinska kiselina. Prisutne su u različitim konjugovanim formama, kao estri hidroksi kiselina kao što su hinska, šikimska i vinska kiselina, kao i njihovi glikozidi. U prirodnom obliku se mogu naći i u formi glikozida ili estara sa drugim jedinjenjima, sterolima, alkoholima, glukozidima i hidroksi masnim kiselinama (Macheix i sar. 1990, Shahidi i sar. 1996).

Fenolne kiseline ispoljavaju antioksidativnu aktivnost u reakciji otpuštanja vodonikovog atoma i reakcijama „hvatanja“ slobodnih radikala, a njihova efiksanost je u vezi sa brojem i pozicijom hidroksilnih grupa u molekulu. Antioksidativna aktivnost fenolnih kiselina (monofenola) se značajno povećava ukoliko je prisutna još jedna hidroksilna grupa na *orto*- ili *para*- poziciji, kao i prisustvom jedne ili dve metoksi substitucije na *orto*-poziciji u odnosu na hidroksilnu grupu (Cuvelier i sar. 1992, Fukumoto i Mazza 2000, Dewick 2002).

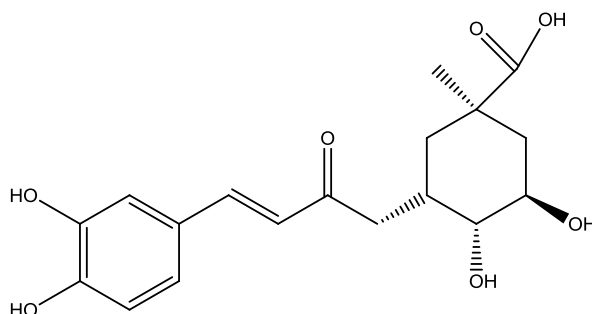
Derivati hidroksicimetne kiseline su efikasniji antioksidanti od derivata hidroksibenzojeve kiseline zbog prisustva dvostruke veze koja učestvuje u stabilizaciji nastalog aroksil radikala rezonancijom (Pereira i sar. 2009).

Prekursori za sintezu cinamičnih kiselina su *L*-fenilalanin i *L*-tirozin (C_6-C_3 građivni blokovi), i u prvom koraku biosintetskog puta se vrši deaminacija sa bočnog lanca pri čemu se dobija odgovarajuća *trans*-cinamična kiselina. U slučaju fenilalanina, dobija se cinamična kiselina, a u slučaju tirozina dobija se 4-kumarinska kiselina (*p*-kumarinska). Sve biljke imaju sposobnost deaminacije fenilalanina pomoću enzima fenilalanin amonijum liaze, ali nemaju i sposobnost transformacije tirozina koja je uglavnom karakteristična za pripadnike familije Poaceae. Jedna od najrasprostranjenijih cinamičnih kiselina je kafena kiselina (njen sadržaj u većini voćnih plodova je između 75% i 100% od ukupne količine hidroksicinamčnih kiselina) (Manach i sar. 2004). Javlja se slobodna, ali češće u obliku estara sa hinskom kiselinom (hlorogena kiselina, ili 5-*O*-kafeoilhinska kiselina) (Croft 1998). Hlorogena kiselina se može naći u velikom broju voćnih plodova (borovnice, kivi, šljive, trešnje, jabuke) i u kafi (Clifford 1999). Nalazi se u svim delovima ploda, sa najvećom koncentracijom u egzokarpu (Manach i sar. 2004). Sintaza hlorogene kiseline u biljci je indukovana stresom, odnosno oštećenjem biljnog tkiva, i ona ima odbrambenu ulogu u odnosu na mogući napad mikroorganizama (gljiva) ili ulogu prekursora za sintezu lignina i drugih polifenolnih barijera (Hahlbrock i Schee 1989, Bernards i Lewis 1992).

Kafeoilhinske kiseline, hlorogena i neohlorogena (Slika 7a, b), poseduju visok anti-oksidativni kapacitet (Kayano i sar. 2002), delujući na heliranje metalnih jona, inhibirajući oksidaciju lipida i peroksidativne enzime i eliminišući slobodne radikale (Kim i sar. 2003). Zahvaljujući ovim osobinama, neohlorogena i hlorogena kiselina štite niskomolekularni lipoprotein (LDL) od oksidacije u visokom procentu (86-97%), i time deluju preventivno na nastajanje mnogih degenerativnih bolesti (Fang i sar. 2002).



Slika 7a. Hemijska struktura hlorogene kiseline (3-*O*-kafeoilhinska kiselina, C₁₆H₁₈O₉)



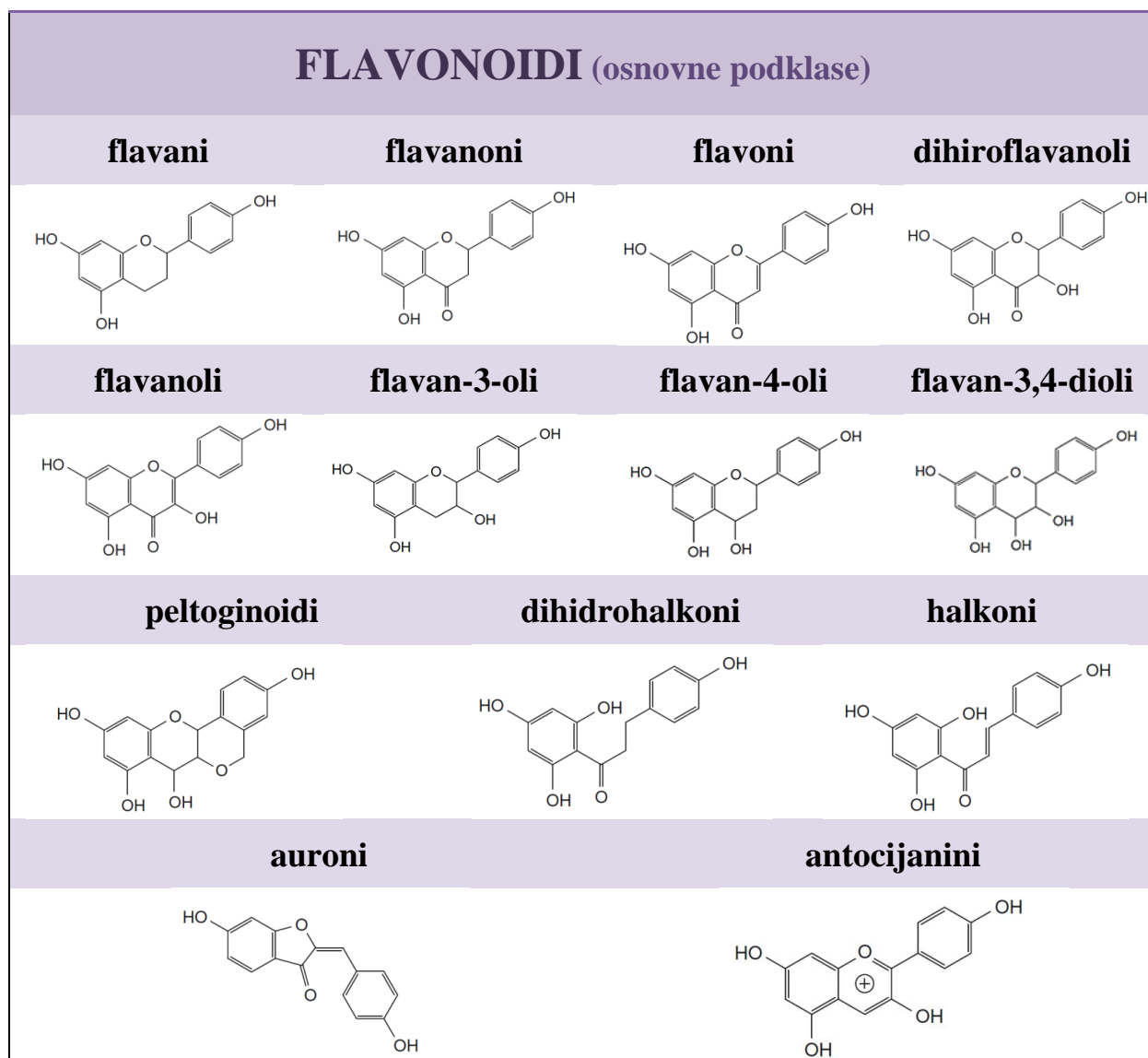
Slika 7b. Hemijska struktura neohlorogene kiseline (5-*O*-kafeoilhinska kiselina, C₁₆H₁₈O₉)

1.4.4.2. Flavonoidi

Flavonoidi predstavljaju najprisutniju grupu prirodnih polifenola (Cohen i Kennedy 2010, Van Dorsten i sar. 2010), sa više od 10.000 identifikovanih jedinjenja u voću, povrću i biljnim napicima (čajevima, vinu) (Côté i sar. 2010, Beecher 2003). Imaju osnovnu hemijsku difenilpropansku strukturu (C₆-C₃-C₆) koja se temelji se na flavonoidnom jezgru sastavljenom od tri fenolna prstena. Benzenski prsten A kondenzovan je sa tročlanim alifatičnim nizom koji zajedno sa kiseonikom gradi šestočlani prsten C, a na poziciji 2 prstena C nalazi se benzenski prsten B. Ovakva osnovna struktura omogućava mnogobrojne modifikacije: hidroksilacije, O-metilacije hidroksilnih grupa, dimerizacije, vezivanje neorganskog sulfata, glikolizacije hidroksilnih grupa (nastajanje *O*-glikozida) ili flavonoidnog jezgra (nastajanje *C*-glikozida) (Harborne i Baxter 1999, Quideau i sar. 2011).

Flavonoidi su podeljeni na više podgrupa: flavani, flavanoni, flavoni, dihiroflavanoli, flavanoli, flavan-3-oli, flavan-4-oli, flavan-3,4-dioli, peltoginoidi, dihidrohalkoni, halkoni, auron i

antocijanini (Slika 8) (Lattanzio 2013). Neke biljne vrste sintetišu specijalne oblike flavnoida, izoflavonoide, koji se najčešće nalaze u leguminozama (Winkel-Shiley 2001). Flavanoli su najšire rasprostranjena grupa flavonoida u biljkama, a najčešći flavonoli prisutni u hrani su kvercetin i kampferol (Beecher 2003, Xiao i sar. 2013).



Slika 8. Osnovne podklase flavonoida koji su prisutni u višim biljkama

U biljnom svetu flavonoidi su univerzalno zastupljeni, sintetišu se u svim organima viših biljaka, a njihovo prisustvo je utvrđeno i kod nekih nižih organizmima. Uloga flavonoida u pigmentaciji i odbrani biljaka je dokazana; međutim, njihove ostale funkcije još nisu u potpunosti objašnjene, iako su utvrđena njihova svojstva kao antioksidanata, inhibitora enzima, fotosenzibilizatora i prenosioca energije, respiratora u biosintezama (Winkel-Shirley 2002). Sa ekološke i evolucione tačke gledišta, crvena boja plodova, koja je najčešća u biljnom svetu, predstavlja adaptivnu karakteristiku koja podstiče frugivoriju ptica zbog upadljivosti ploda (ujedno ukazuje i na njihovu zrelost); a istovremeno ova adaptacija ima i zaštitnu funkciju, pošto su ovakvi plodovi neupadljivi za druge frugivorne organizme koji nisu adekvatni rasejavači semena (kao na pr. za insekte koji nisu osetljivi na talasne dužine iz crvenog dela spektra ili sitne kičmenjake koji ih prepoznaju kao opasne) (Wilson i Whelan 1990). Ekološko-fiziološka funkcija flavonoida je regulatorna i signalna u interakcijama između biljaka i mikroorganizama, takođe imaju izuzetno važnu ulogu u odbrani kao antimikrobni agensi i odbijači herbivora, kao i u UV zaštiti (Stafford 1990). Brojne studije potvrđuju da flavonoidi uneti hranom ispoljavaju određene biološke aktivnosti i da mogu imati pozitivan zdravstveni efekat na tretirane životinje. Metabolizam flavonoida podrazumeva prvo biološku transformaciju u crevu pod delovanjem crevne mikroflore, dok se drugi korak transformacije odigrava u jetri (Kagawa i sar. 2004).

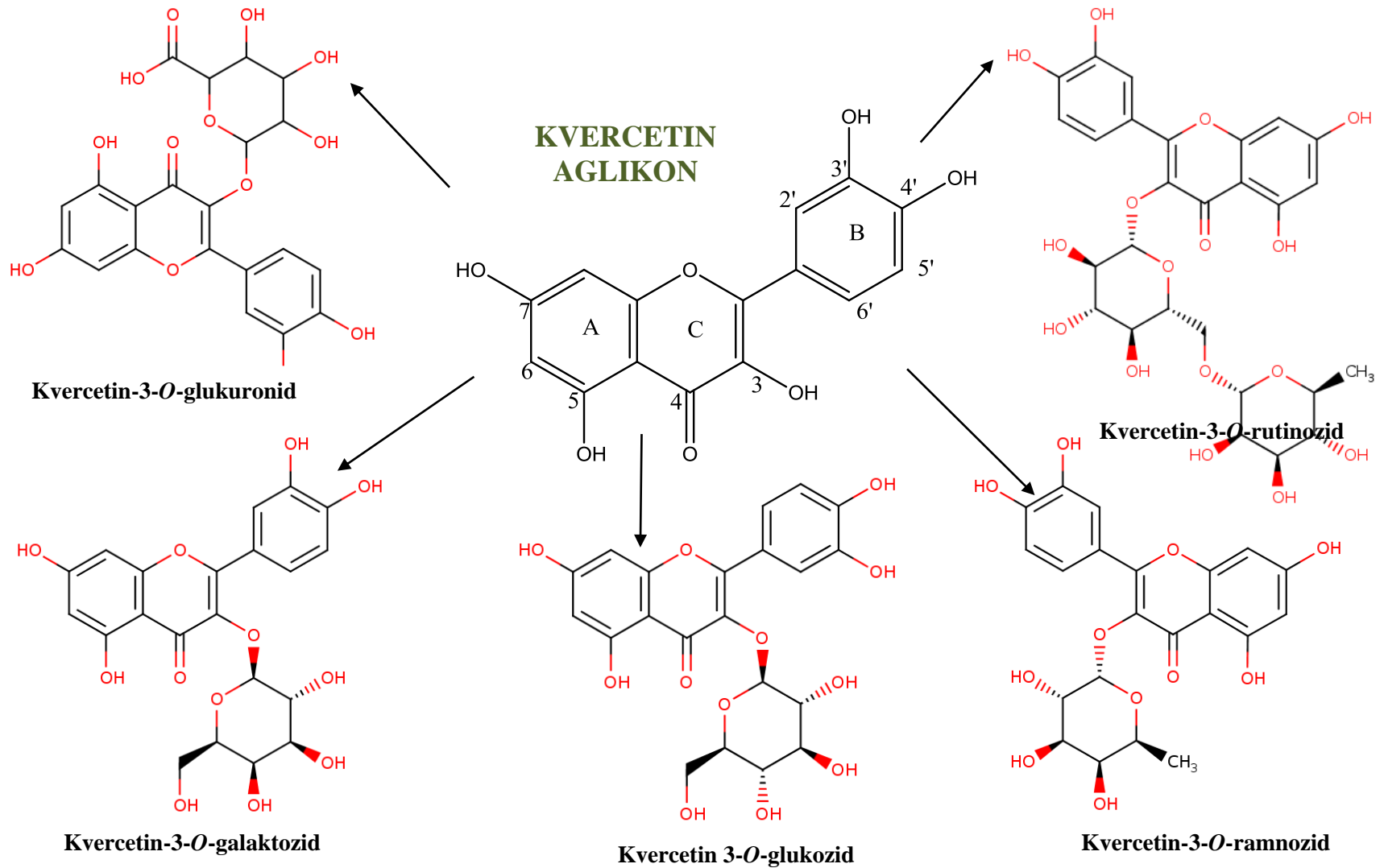
Farmakološka svojstva flavonoida se istražuju u velikom obimu, obzirom da je dokazano da ispoljavaju anti-inflamatornu, antimikrobnu, antifugalnu, estrogenu, enzim-inhibitornu, hipoglikemijsku, antialergijsku, analgetsku, kardiotoničnu, spazmolitičku, antiulkusnu, vaskularnu i citotoksičnu antitumorsku aktivnost (Hollman i Katan 1999, Cushnie i Lamb 2005). Ipak, najpoznatija je njihova antioksidativna aktivnost, koja je i najviše izučavana sa aspekta farmakološke primene i zasniva se na mehanizmima otpuštanja vodonika, „hvatanja“ radikala i helatizaciji metala. Smatra se da je upravo njihova antioksidativna aktivnost odgovorna i za sve druge biološke aktivnosti koje ispoljavaju, a u kojima je prevencija oksidativnog stresa jedan od bitnih preduslova (Aron i Kennedy 2008).

Od svih klasa flavonoida, najzastupljeniji u biljnom svetu su flavonoli. Glavni predstavnici ove grupe su kvercetin i kampferol, koji se u visokim koncentracijama nalaze u luku, kelju, praziluku,

brokoliju i borovnicama, kao i u crvenom vinu (Manach i sar. 2004). Ova jedinjenja su uglavnom prisutna u glikozilovanoj formi, a vezani šećer je najčešće glukoza ili ramnoza, mada to mogu biti i drugi šećeri (galaktoza, arabinoza, ksiloza, glukuronska kiselina). Plodovi najčešće sadrže 5-10 različitih flavonol glikozida koji se akumuliraju na spoljašnjoj strani biljnih organa (ploda) jer je njihova sinteza stimulirana pod uticajem svetlosti (Macheix i sar. 1990, Price i sar. 1995), a slično je i kod zelenih listova povrća gde je spoljašnje lišće bogatije flavonolima u odnosu na unutrašnje (Herman 1976).

Kvercetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon) (Slika 9), spada u najzastupljenije biljne flavonoide. Nalazi se u velikom broju biljaka (povrću, voću, začinima, čajevima, vinu) i jedan je od najčešće izučavanih flavonoida (Manach i sar. 2004). Prirodno se javlja u obliku brojnih glikozida, konjugovan sa šećerima (glukoza, galaktoza, ramnoza); preovlađujuća forma je kvercetin konjugovan sa jednim ili dva molekula glukoze – izokvercetin, i kvercetin konjugovan sa rutinozom – rutin. Različite forme kvercetina čine 60%-75% od ukupne količine flavonoida koji se unosi ishranom (Justesen i sar. 1998). Količina kvercetina kod gajenih biljaka zavisi od primenjenih uslova gajenja (Cassidy i sar. 2000), kao i od izloženosti sunčevoj svetlosti (Price i sar. 1995).

Među polifenolima, kvercetin je jedan od najmoćnijih antioksidanata, što je dokazano u brojnim *in vitro* (Bors i sar. 1990) i *in vivo* studijama (Prior 2003). Njegova efikasnost se ispoljava u „hvatanju“ slobodnih radikala (Rice-Evans i sar. 1995) i inhibiciji oksidacije lipida (Cook i Samman 1996).



Slika 9. Molekulska struktura kvercetin aglikona i pet njegovih glikozida

1.5. Opšte karakteristike ispitivanih vrsta

1.5.1. *Rosa canina* L. (familija: Rosaceae)

Prema podacima iz baze The Plant List (2013) ova vrsta ima 105 sinonima.

Narodni nazivi: divlja ruža, šipak, divlji šipak, šipurak, šipurkovina, šipurika, šipurina, šip, pasja ruža



Slika 10. Izgled biljke *Rosa canina* (foto: J. Bajić-Ljubičić)

Morfološke i fenološke karakteristike: Šipurak je listopadni grm čija stabla dostižu visinu 1-3 m. To je pentaploidna vrsta i karakteriše se izuzetno velikom varijabilnošću mnogih morfoloških karaktera (Koobaz i sar. 2009). Grane su joj tanke i najčešće lučno povijene (Slika 10). Po kori stabala i grana su raspoređene jake, srpasto povijene bodlje. Listovi su dugi, naizmjenično i neparno perasti, sastavljeni od 7-9 listića eliptičnog oblika. Može da se reprodukuje vegetativno, aseksualno i seksualno, pri čemu relativni uspeh reprodukcije zavisi od različitih spoljašnjih i unutrašnjih faktora. Cvetovi su dvopolni i otvoreni što omogućava lakši pristup insektima polinatorima (Slika 11a). Čašični listići su sa donje strane dlakavi, a sa gornje najčešće goli. Posle

cvetanja oni se povijaju, pripajaju uz plod i rano opadaju. Krunični listići su krupni, bledoružičaste boje, kraći od čašičnih. Cveta krajem maja i tokom juna, a plodovi mu sazrevaju u septembru i oktobru. Plod je zbirna orašica dužine 1-2 cm, ovalnog, ređe okruglastog oblika, izrazito crvene boje (Slika 11b) (Vukićević 1972). Prosečna težina ploda kreće se od 1,3 do 4,58 g (Ercišli i Eşitken 2004).



Slika 11a. Cvet vrste *R. canina*

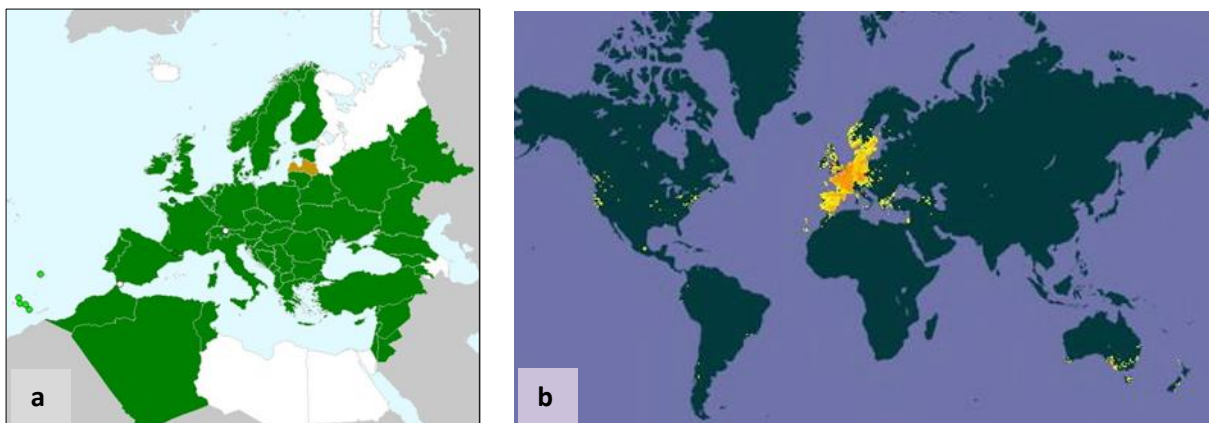
(fotografije preuzete sa <https://easywildflowers.files.wordpress.com>)



Slika 11b. Plod vrste *R. canina*

Ekološke karakteristike: Šipurak je najrasprostranjenija vrsta iz roda *Rosa*. Sreće se u nizijском, brdskom i planinskom regionu, stanovnik je i svetlih lišćarskih i četinarskih šuma do nadmorske visine od 1200 m. Nastanjuje i šumske proplanke, česta je po ivicama šuma, kao i u šikarama. Vrlo je adaptivna prema različitim geološkim podlogama (silikatnim krečnjačkim stenama, serpentinskim stenama, peščarama i dr.) i različitim tipovima zemljišta (rendzinama, smeđe kiselim zemljištima, opodzoljenim zemljištima, gajnjači, černozemu, itd) (Mratinić i Kojić 1998).

Rasprostranjenje: Autohtono rasprostranjenje obuhvata veliki deo Evrope, severo-zapadnu Afriku (Alžir, Moroko i Tunis) i zapadnu Aziju (Slika 12a). Ova vrsta je introdukovana u Severnu Ameriku (u manjem stepenu i u Južnu Ameriku), kao i u Australiju (Jürgens i sar. 2007) (Slika 12b).



Slika 12. Distribucija vrste *R. canina* prema: **a)** Euro+Med PlantBase
b) Global Biodiversity Information Facility

U Srbiji šipurak je rasporstranjen na celoj teritoriji i ulazi u sastav sledećih zajednica: *Querc-Fraxinetum serbicum mixtum* B. Jovanović 1951, *Quercetum frainetto-cerris* Rudski (1940) 1949, *Quercetum montanum* (B. Jovanovic 1948) Černjavski et B. Jovanović 1953 i *Pinetum nigrae-silvestris* Z. Pavlović 1951 (Mratinić i Kojić 1998).

1.5.2. *Crataegus monogyna* Jacq. (familija: Rosaceae)

Prema podacima iz baze The Plant List (2013) ova vrsta ima 100 sinonima.

Narodni nazivi: beli glog, glog, jednokoštičavi glog, beli trn, bela drača

Morfološke i fenološke karakteristike: Beli glog je žbun ili nisko drvo koje dostiže visinu od 5- 10 m sa gustom krošnjom (Slika 13). Drvo gloga ima glatku koru, a na granama se nalazi trnje dužine 5-15 mm. Listovi su polimorfni, dužine 2-4 cm, široko jajastog, rombično-jajastog ili rombično-objajastog oblika, usečeni na 3-5 delova. Fenotipske razlike u odnosu na oblik i veličinu lišća uslovljene su pre svega klimatsko-edafskim faktorima. Cvetovi su dvopolni skupljeni u štitastu cvast (Slika 14a). Broj cvetova u cvasti se kreće od 4-23 (sa porastom nadmorske visine raste i broj cvetova u cvasti). Krunični listići su bele, a brojni prašnici svetlocrvene boje. Cveti od polovine maja do polovine juna. Plodovi sazrevaju u drugoj polovini



Slika 13. Izgled biljke *Crataegus monogyna* (foto: J. Bajić-Ljubičić)

septembra. Plod je sinkarpna koštunica, široko jajastog oblika, crvene boje, na čijem se vrhu nalaze povijeni čašični listići (Slika 14b) (Jovanović 1972). Prosečna težina ploda kreće se od 2,38 do 3,79 g (Koyuncu i sar. 2007).



Slika 14a. Cvet vrste *C. monogyna*



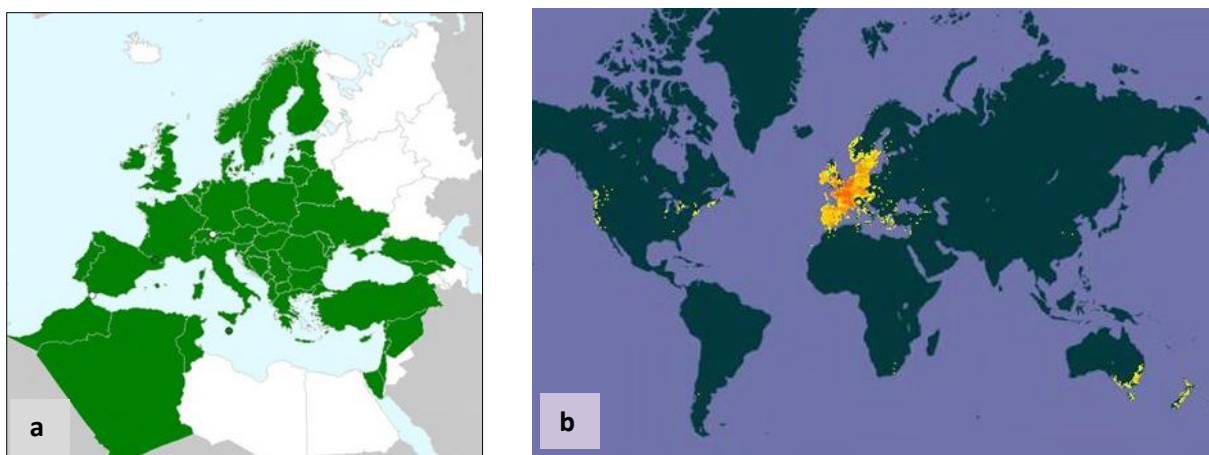
Slika 14b. Plod vrste *C. monogyna*

(fotografije preuzete sa www.english-country-garden.com)

Ekološke karakteristike: U poređenju sa drugim vrstama roda *Crataegus*, beli glog se karakteriše najširokom ekološkom amplitudom. Sreće se na nadmorskim visinama od 100 do 1500 m. Najčešće

raste po suvljim hrastovim i bukovim šumama, često u šikarama, kao i uz ograde i živice. Najveću brojnost ostvaruje u zoni listopadnih šuma na nadmorskim visinama od 900 do 1200 m. Vrlo je adaptivna prema različitim geološkim podlogama i različitim tipovima zemljišta (Mratinić i Kojić 1998).

Rasprostranjenje: Autohtono rasprostranjenje vrste obuhvata veliki deo Evrope, jugo-zapadnu Aziju i severo-zapadnu Afriku (Slika 15a). Ova vrsta je introdukovana u Severnu Ameriku i Australiju i Novi Zeland (Lang 1987) (Slika 15b).



Slika 15. Distribucija vrste *C. monogyna* prema: **a)** Euro+Med PlantBase
b) Global Biodiversity Information Facility

U Srbiji je veoma rasprostranjena i ulazi u sastav sledećih šumskih zajednica: *Carpinetum orientalis serbicum* Rudski 1940 emend. B. Jovanović 1953, *Quercetum farnetto cerris* Rudski (1940) 1949 *aculeatetosum* B. Jovanović 1953, *Quercu-Ostryetum carpinifoliae* Ht. 1938, *Orno-Quercetum petraeae-pubescentis* M. Janković 1980, *Fagetum submontanum* (Rudski 1949) B. Jovanović 1976, a delimično i *Fagetum montanum* B. Jovanović 1953 (non Rudski 1949). (Mratinić i Kojić 1998).

1.5.3. *Prunus spinosa* L. (familija: Rosaceae)

Sinonimi: *Druparia spinosa* Clairv.; *P. acacia* Crantz ex Por.; *P. acacia* Crantz; *P. acacia-germanica* Crantz; *P. domestica* var. *spinosa* (L.) Kuntze (The Plant list, 2013).

Narodni nazivi: trnjina, trnina, trnula, trnavka, trn, crni trn, divlja šljiva, grulja, kukinja, derandelj, drač, trlinka



Slika 16. Izgled biljke *Prunus spinosa* (foto: J. Bajić-Ljubičić)

Morfološke i fenološke karakteristike: Trnjina je listopadni žbun ili nisko drvo koje dostiže visinu 1-5 m. To je alotetraploidna vrsta sa vrlo izraženom sposobnošću vegetativnog razmnožavanja korenovim izdancima. Habitus je najčešće okruglast, bez izraženog debla, sa višestruko razgranatim granama (Slika 16). Jednogodišnji letorasti se završavaju trnastim izraštajima. Listovi su ovalni, 2-4,5 cm dugi i 1,2-2 cm široki. Cvetovi su pojedinačni, dvopolni, sa pet kremasto-belih latica (Slika 17a). Krunični listići su jajastog oblika, dužine 5-8 mm. Bijka cveta u rano proleće (u martu ili početkom aprila), pre listanja. Plod je ljubičasto-plava koštunica

koja sazreva krajem septembra i početkom oktobra (Slika 17b). Plodovi su uglavnom sitni (1,2-1,4 cm u prečniku), ali se mogu značajno razlikovati po obliku i veličini. Mezokarp je žutozelen, tvrd, srastao sa košticom (Jovanović 1972). Koštica je loptastog oblika, sa dve semenke unutra. Prosečna težina ploda kreće se od 1,86 do 3,13 g (Erturk 2012).

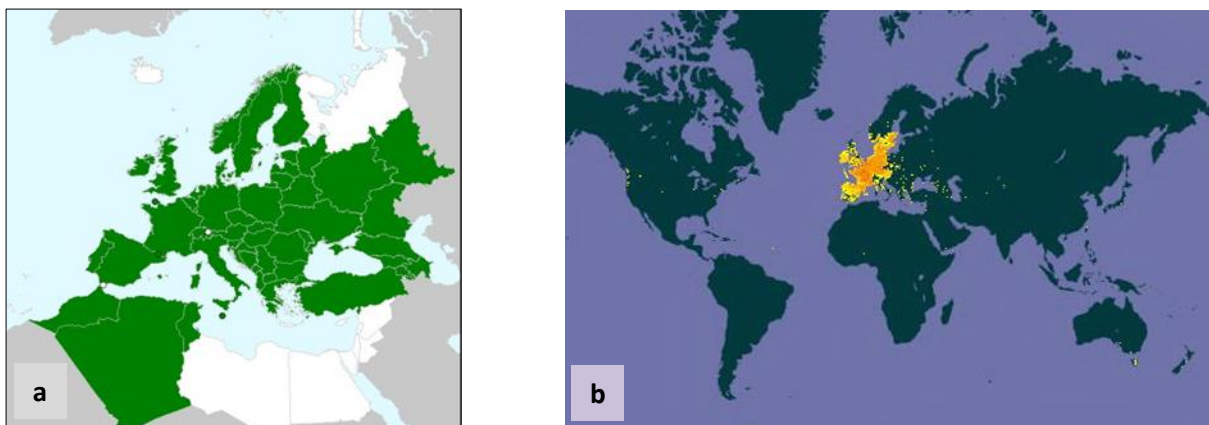


Slika 17a. Cvet vrste *P. spinosa*

Slika 17b. Plod vrste *P. spinosa*

(fotografije preuzete sa www.rhs.org.uk/Plants/)

Ekološke karakteristike: Ova vrsta je rasprostranjena u zoni hrastovih šuma na nadmorskim visinama do 1000 m. Gusti žbunovi trnjine su česti i na neobrađenim površima, kraj puteva i duž kanala. Oprašivanje se vrši pomoću insekata, a disperziju semena vrše razne vrste sisara i ptica (Guitian i sar. 1993). Ova vrsta pripada prelaznoj grupi između mezotermnih i termofilnih biljaka. Uglavnom naseljava osvetljenije delove staništa. Otporna na hladnoću i može da podnese mrazeve i do -30° C. Takođe dobro podnosi sušne uslove u staništu. Najbolje se razvija na dubokim zemljištima bez obzira na geološku podlogu (Mratinić i Kojić 1998).



Slika 18. Distribucija vrste *P. spinosa* prema: **a)** Euro+Med PlantBase
b) Global Biodiversity Information Facility

Rasprostranjenje: Autohtono rasprostranjenje obuhvata veliki deo Evrope, zapadnu Aziju i severo-zapadnu Afriku (Slika 18a). Ova vrsta je introdukovana u Severnu Ameriku i Novi Zeland (Slika 18b). U Srbiji je rasporstranjen u pojasu hrastovih šuma.

1.5.4. *Cornus mas* L. (familija Cornaceae)

Sinonimi: *C. erythrocarpa* St.-Lag.; *C. flava* Steud.; *C. homerica* Bubani; *C. mas* f. *conica* Jovan.; *C. mas* f. *macrocarpa* Dippel; *C. mas* f. *microcarpa* Sanadze; *C. mas* var. *oblongifolia* Jovan.; *C. mas* f. *oxycarpa* Jovan.; *C. mas* f. *pyriformis* Sanadze; *C. mascula* L.; *C. nudiflora* Dumort.; *C. praecox* Stokes; *C. vernalis* Salisb.; *Eukrania mascula* (L.) Merr.; *Macrocarpium mas* (L.) Nakai (The Plant List 2013).

Narodni nazivi: dren, tvrdi dren, drenovina, drenjina, drenak, bela svibovina, drenjka, drenula



Slika 19. Izgled biljke *Cornus mas* (foto S. Bojović)

Morfološke i fenološke karakteristike: Dren je veliki listopadni grm, visine 3-4 m, ili ređe nisko drvo visine 5-7 m i prečnika 20-25 cm. Habitus se odlikuje kratkim deblom i okruglasto-piramidalnom krunom (Slika 19). Kora na starijim stablima je siva, tanka i plitko ispucana, a na mladim graničicama siva, glatka i sjajna. Jednogodišnji letorasti su glatki, crvenkasto-zeleni, sa izraženim lenticelama. Pupoljci su naspramno raspoređeni. Lisni su izduženi sa špicastim vrhom, sedeći, bez lisnih drški. Cvetni pupoljci su loptasti, na dugim drškama, zaštićeni sa četiri ljuspasta listića. Listovi su prosti, eliptičnog ili jajasto-eliptičnog oblika, sa oštrim vrhom i klinastom osnovom. Sa obe strane liske prekriveni su gustim, čekinjastim maljama. Liska je dužine 4-8 cm, a širine 1,3-3 cm. Veličina lista zavisi od plodnosti zemljišta. Nervatura lista je zrakasta. Lisna peteljka je kratka, dužine od 0,5-1 cm. Listovi su poređani naspramno.

Od jednog cvetnog pupoljka formira se štitasta cvast od 10-23 cvetova (Slika 20a). Svaki cvet je na sopstvenoj cvetnoj dršci, ljuspasti listići pupoljka po precvetavanju ne otpadaju već se okreću nadole. Cvetovi su dvopolni, iako se ponekad mogu sresti samo morfološki i funkcionalno muški

cvetovi. Čašica i krunica su žuti, dužine 4-5 mm i širine 1-1,5 mm. Prašnici su dva puta kraći od kruničnih listića. Plodnik je sredcvetan dvognezdan sa jednim stubićem. Cvetna drška je maljava i dužine 5-10 mm. U zavisnosti od nadmorske visine, cvetanje se dešava od februara do kraja aprila. Cvetovi se javljaju vrlo rano u proleće, mnogo pre listanja. To je razlog što često stradaju od mrazeva.

Dren cveta veoma rano i predstavlja jednu od najranijih medonosnih biljaka. Oprašivanje je entomofilno. Plodovi sazrevaju relativno kasno - u toplijim područjima to je sredinom avgusta, a u hladnijim do sredine septembra. Analogno cvetanju i zrenje plodova na istoj vočki se ne dešava istovremeno, te na istoj vočki, pa čak i u istoj cvasti u isto vreme ima zrelih i zelenih plodova. Plodovi su monokarpne koštunice varijabilne po boji, veličini, obliku ploda i koštice (Slika 20b). Koštica (endokarp) štiti dve semenke (Jovanović 1976). Prosečna težina plodova se kreće u rasponu od 2,38 do 3,79 g (Koyuncu i sar. 2007).



Slika 20a. Cvet vrste *C. mas*
(fotografije preuzete sa www.plantsystematics.org/imgs)

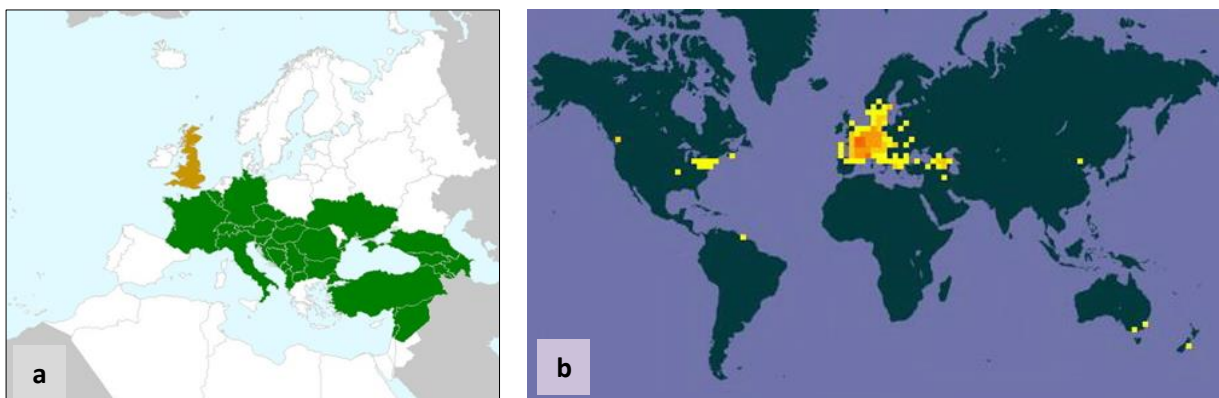


Slika 20b. Plod vrste *C. mas*

Ekološke karakteristike: Dren je vrlo adaptivna vrsta. Sreće se na različitim nadmorskim visinama od 100 do 1000, pa i do 1300 m. Najbolje mu odgovaraju topliji tereni i položaji, kao i otvorene visoravni. Često se javlja i po obodu kotlina. Zimski mrazevi mu ne smetaju, ali često strada u vreme cvetanja od prolećnih mrazeva. To upravo i limitira njegovu veću rasprostranjenost. Sreće se uglavnom u rejonima gde srednja godišnja temperatura nije niža od 10°C. U pogledu geološke podloge pokazuje ogromnu prilagodljivost. Podjednako se sreće na karbonatnim i silikatnim terenima. Takođe se sreće i na suvim nerazvijenim deluvijalnim zemljištima, na rendzinama,

kiselim zemljištima i dr. Ređe se sreće na aluvijalnim zemljištima. Dren je sastavni deo kako termofilnih hrastovih šuma, tako i šikara i kamenih fitocenoza. Najviše je zastupljen u svetlim termofilnim šumama submediteranske zone. Dren se takođe sreće i u kserofilnim i termofilnim zajednicama na visinama od 600 mnv. Sreće se i na otvorenim toplim kamenjarima pokraj naselja, po rubovima šuma i na šumskim goletima. Dren je mezotermna i submezofitna vrsta. Dobro podnosi zasenu, ali se normalno razvija i plodonosi na svetlu. Razmnožava se semenom, korenovim izdancima i izdancima iz panja. Relativno sporo raste, naročito na suvim staništima. Izdanci sa panja rastu do svoje 5-6 godine relativno brzo, ali na suvim, kamenitim zemljištima počinju da se suše već pri starosti od oko 30 godina, dok na bogatijim zemljištima mogu da dostignu veliku starost (Mratinić i Kojić 1998).

Rasprostranjenje: Vrsta je rasprostranjena na Apeninskom i Balkanskom poluostrvu, srednjoj Evropi, Maloj Aziji, Krimu i Kavkazu (Da Ronch i sar. 2016) (Slika 21a). Ova vrsta je introdukovana u Severnu i Južnu Ameriku, Australiju i Novi Zeland (Slika 21b).



Slika 21. Distribucija vrste *C. mas* prema: **a)** Euro+Med PlantBase
b) Global Biodiversity Information Facility

U Srbiji je rasporstranjena na celoj teritoriji sa hrastovim šumama (sadašnjim ili ranije prisutnim), kao i u brdskim bukovim šumama i šibljacima jorgovana (*Quercu-Tilietum tomentosae* L. Stjepanović-Veseličić 1953, *Quercu-Carpinetum orientalis* B. Jovanović 1953 (1979), *Tilio-Fagetum submontanum* (M. Janković et Mišić 1960) Mišić 1972, *Quercetum frainetto-cerris* Rudski (1940) 1949 *aculeatetosum* B. Jovanović 1953, *Quercetum montanum* (B. Jovanovic 1948) Černjavski et B. Jovanović 1953, *Quercu-Carpinetum orientalis* B. Jovanović 1953 (1979),

Celtido-Juglandetum B. Jovanović (1957) 1970, *Syringo-Carpinetum orientalis* (Grebenščikov 1950) Mišić 1967, *Syringo-Prunetum mahalebi* (B. Jovanović 1949) Mišić 1978 (Mratinić i Kojić 1998).

1.5.5. *Cornus sanguinea* L. (familija Cornaceae)

Sinonimi: *C. citrifolia* Wahlenb. ; *C. latifolia* Bray; *C. sanguinea* subsp. *czerniaewii* Grosset; *C. sylvestris* Bubani; *Swida sanguinea* (L.) Opiz; *Thelycrania sanguinea* (L.) Fourr. (The Plant List, 2013)

Narodni nazivi: svib, sviba, pasdren



Slika 22. Izgled biljke *Cornus sanguinea* (foto: J. Bajić-Ljubičić)

Morfološke i fenološke karakteristike: Svib je veliki listopadni žbun, visine i do 5 m, sa manje-više uspravnim glatkim i duguljastim granama (Slika 22). Izdanci su tanki i šiboliki, prekriveni sitnim dlakama, na osunčanoj strani ljubičastocrveni, a na zasjenjenoj zelenkasti. Kora stabla je glatka, u starijoj dobi mrežasto ispucana. Ove biljke imaju dobro razvijen vlaknasti korenov sistem. Pupaoljci su bez zaštitnih ljuipi, goli. Listovi su jednostavni, široko eliptični do jajasti, sa

obe strane dlakavi. Naizmenično su raspoređeni, dužine 4-8 cm i širine 2-4 cm, i poprimaju karakterističnu crvenu boju u jesen. Cvetovi su beličasti, dvopolni (4 latice, 4 tučka, 4 prašnika), mali (0,5-1 cm), skupljeni u guste, grozdaste cvasti na vrhovima grana (Slika 23a). Oprašivanje vrše insekti. Svib cveta u u maju nakon listanja, a ponekad i ponovo u jesen. Plod je okrugla, glatka, crna bobica posuta sitnim, belim tačkicama, koja sadrži jednu košticu (Slika 23b) (Jovanović 1976). Sazreva krajem avgusta i tokom septembra i veoma je zastupljen u ishrani većeg broja ptica (Krüsi i Debussche 1988).

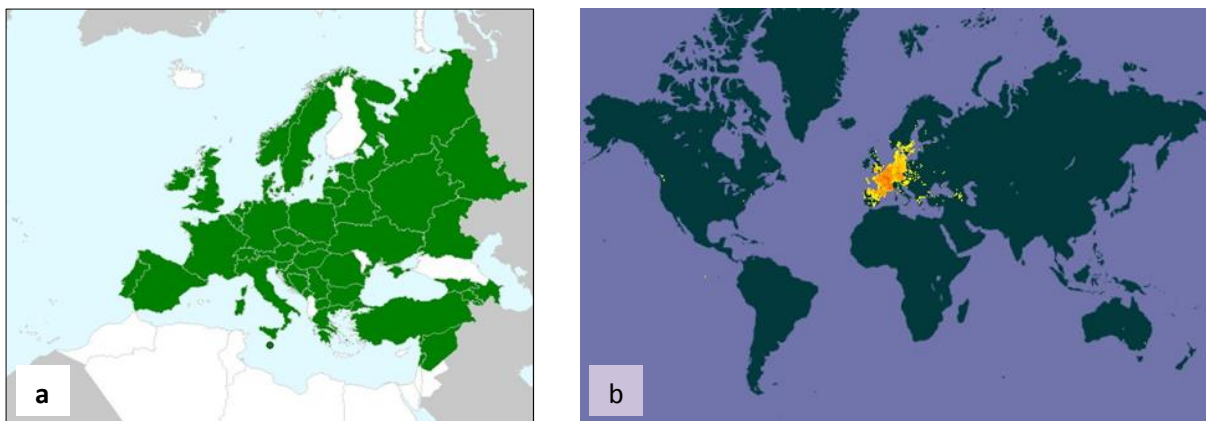


Slika 23a. Cvet vrste *C. sanguinea*

Slika 23b. Plod vrste *C. sanguinea*

(fotografije preuzete sa www.hedgingandtrees.co.uk)

Ekološke karakteristike: Svib se odlikuje velikom ekološkom amplitudom, tako da ulazi u sastav različitih šumskih zajednica, od vlažnih aluvijalnih šuma do kserotermnih hrastovih šuma. Čest je stanovnik suvih staništa i osunčanih i kamenitih površina. Dobro podnosi zasenu, ima izrazitu izdanačku snagu. U južnijim delovima svog areala ova vrsta raste u planinskim predelima, dok u hladnijim regionima, kao što je Skandinavija, naseljava područja niže nadmorske visine (Mratinić i Kojić 1998).



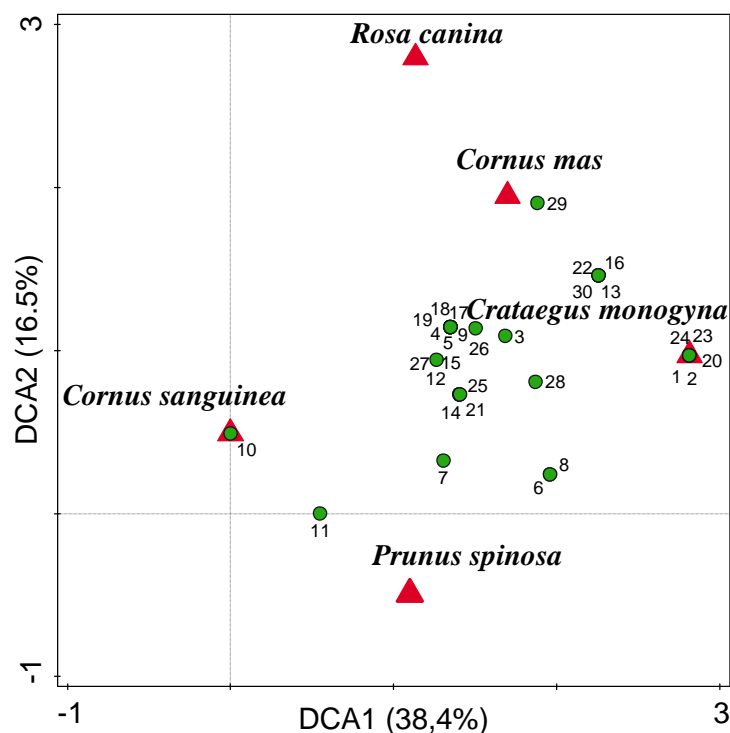
Slika 24. Distribucija vrste *C. sanguinea* prema: **a)** Euro+Med PlantBase
b) Global Biodiversity Information Facility

Rasprostranjenje: Prirodni areal ove vrste obuhvata veći deo Evrope (od Skandinavije, atlanske i srednje Evrope do Balkanskog poluostrva) i zapadnu Aziju (Krüsi i Debussche 1988) (Slika 24a). Introdukovana je na pojedinačnim lokalitetima u Severnoj Americi i Australiji (Slika 24b). U Srbiji je rasprostranjena, najčešće se nalazi u okviru hrastovih (sadašnjih ili bivših) šuma, kao i u okviru vegetacije šibljaka.

Iako su sve istraživane vrste uobičajeni stanovnici šumskih ekosistema u brdskom i planinskom pojasu, u odnosu na izbor staništa one pokazuju izvesno diferenciranje. Prema prisustvu vrsta u spektru biljnih zajednica u Srbiji (Lakušić i sar. 2005) može se sagledati njihova ekološka različitost. Na osnovu podataka o prisustvu/odsustvu istraživanih vrsta u 30 zajednica (Slika 25) urađena je diskriminantna kanonijska analiza (DCA). Na grafiku se uočava razdvajanje vrsta prema njihovom prisustvu u određenim biljnim zajednicama. Od 30 biljnih zajednica (legenda slike 25) sve analizirane vrste su prisutne u pet (4, 5, 15, 17 i 18). *C. monogyna* je najzastupljenija i ulazi u sastav 28 nabrojanih biljnih zajednica, dok je najmanje zastupljena *R. canina* (ulazi u sastav 10 zajednica). Vrste *C. mas*, *C. sanguinea* i *P. spinosa* prisutne su u 16 zajednica, ali se odlikuju određenim specifičnostima (za *C. mas* to su zajednice 13, 16, 22, 29 i 30; za *C. sanguinea* 10, 11, 21 i 27; za *P. spinosa* 6 i 8).

Povezanost vrsta sa specifičnim sintaksonomskim elementima je rezultat različitih istorijskih faktora, a takođe odražava i ekološki profil svake vrste (Kojić i sar. 1997, Tabela 1). U skladu sa „Uredbom o stavljanju pod kontrolu korišćenja i prometa divlje flore i faune“ četiri navedene vrste

(osim *C. sanguinea*) spadaju u zaštićene divlje vrste flore u Srbiji, i do sada su relativno malo istraživane.



Slika 25. Analiza prisustva istraživanih vrsta u biljnim zajednicama na teritoriji Srbije (1 - grčko-balkanske stepe sa *Satureja montana*; 2 - suve subkontinentalne stepске travne formacije; 3 - panonske lesne stepске travne formacije; 4 - subkontinentalne i kontinentalne listopadne šikare; 5 - balkanske subkontinentalne listopadne šikare i šibljadi; 6 - grčko-balkanska pseudomakija; 7 - vrbove šume oko reka; 8 - Boreo-alpijske rečne galerije; 9 - jasenovo-jovine i hrastovo-brestovo-jasenove šume duž reka; 10- higrofilne šume poljskog bresta; 11 - ritske hrastove šume; 12 - istočne šume medunca; 13 - mezijske bukove šume; 14 - jugoistočne subtermofilne hrastove šume; 15 - balkansko-anatolijske termofilne hrastove šume; 16 - šume makedonskog hrasta; 17 - stepске hrastove šume; 18 - mešovite termofilne šume; 19 - šume pitomog kestena; 20 - srednjeevropske acidofilne kontinentalne šume; 21 - kontinentalne šume hrasta kitnjaka; 22 - kontinentalne šume istočnog hrasta; 23 - brezove šume na nezamočvarenom terenu; 24 - šuma trepetljike i breze; 25- šume hrasta, javora i graba na eutrofnim i mezotrofnim zemljištima; 26 - jasenove šume izvan vodotokova; 27 - grabove šume; 28 - šume u klisurama i strmim padinama; 29 - mešovite šume crnog bora i mečje leske; 30 - mešovito bukovo-munikove šume)

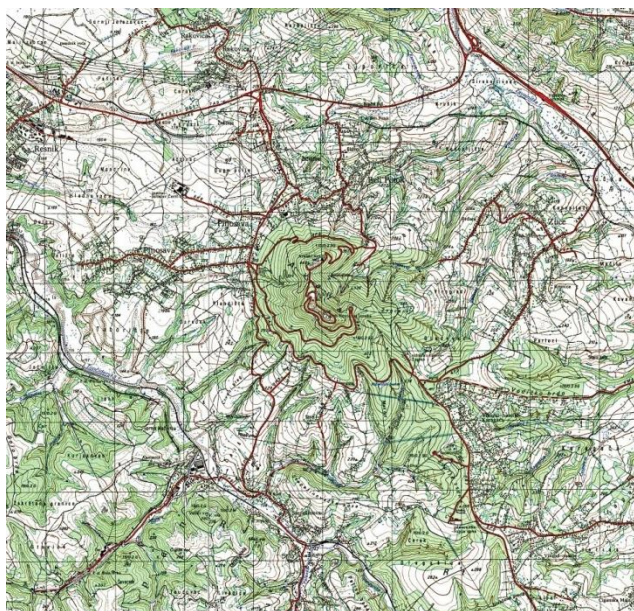
Tabela 1. Ekološke karakteristike ispitivanih vrsta (iz Kojić i sar. 1997).

| ekološki faktori | <i>Rosa canina</i> | <i>Crataegus monogyna</i> | <i>Prunus spinosa</i> | <i>Cornus mas</i> | <i>Cornus sanguinea</i> |
|--------------------------------------|---|--|--|---|---|
| Vlažnost | submezofita | submezofita | subkserofita | submezofita | submezofita |
| kiselost zemljišta | neutrofilna | prelazna grupa između neutrofilnih i bazofilnih | prelazna grupa između neutrofilnih i bazofilnih | prelazna grupa između neutrofilnih i bazofilnih | prelazna grupa između neutrofilnih i bazofilnih |
| snabdevenost zemljišta azotom | prelazna grupa između oligotrofnih i mezotrofnih | prelazna grupa između oligotrofnih i mezotrofnih | mezotrofna | mezotrofna | mezotrofna |
| Svetlost | polusciofita | prelazna grupa između polusciofita i heliofita | prelazna grupa između polusciofita i heliofita | polusciofita | polusciofita |
| Temperature | mezotermna | mezotermna | prelazna grupa između mezotermnih i termofilnih | mezotermna | mezotermna |
| životna forma po Raunkiaer-u | nanofanerofita | fanerofita | nanofanerofita | nanofanerofita | nanofanerofita |
| sintaksonomski elementi | vegetacija šibljaka sa dominacijom vrsta roda <i>Prunus</i> (red <i>Prunetalia spinosae</i>) | šumske zajednice pretežno klimatogenog karaktera, u nižem pojasu, sa umereno kontinentalnom klimom (sveza <i>Quercion pubescentis-petraeae</i>) | kserotermne i heliofitne fitocenoze šibljaka, obično na obodu kserotermnih šuma, na černozemu (sveza <i>Prunion spinosae</i>) | kseromorfne, svetle zajednice šuma, šikara i šibljaka (red <i>Quercetalia pubescentis</i>) | vegetacija šibljaka sa dominacijom vrsta roda <i>Prunus</i> (red <i>Prunetalia spinosae</i>) |

1.6. Opšte karakteristike ispitivanih lokaliteta

1.6.1. Avala – opis istraživanog područja

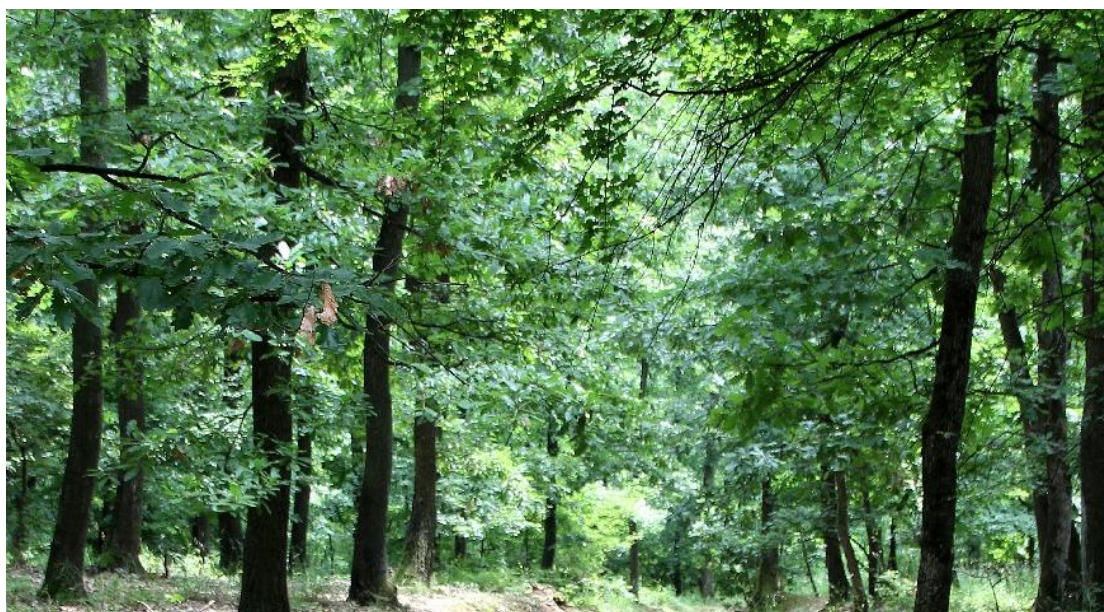
Avala, zajedno sa šumskim kompleksima na teritoriji Zuca, Ripnja, Belog Potoka i Pinosave, nalazi se na 44°41'25" severne geografske dužine, a 20°30'51" istočne geografske širine. Visoka je 511 metara sa izraženom kupom na vrhu, i isprekidana jarugama, između kojih se nalaze uži i širi grebeni (Slika 26). Na istočnoj strani Avale postoje četiri potoka koji se ulivaju u Zavojničku reku, na zapadnoj strani takođe teku četiri potoka, a na južnoj pet, i oni se ulivaju u Topčidersku reku. Na Avali postoji veliki broj tipova zemljišta sa različitim prelaznim stadijumima. Generalno, to su smeđe lesivirana zemljišta, pseudoglejevi, kiselo smeđa zemljišta i eutrična smeđa zemljišta (gajnjače). Hemijska ispitivanja zemljišta na Avali ukazuju na veliku kiselost, naročito kiselo smeđe i kiselo smeđe lesivirano zemljište (Obratov 1986).



Slika 26. Topografska karta Avale (1:25000) [preuzeto iz <http://avalainfo.com/o-avali>]

Kao najsevernija i najjisturenija planina Šumadije, Avala se nalazi pod uticajem kontinentalne klime Panonske nizije, što uslovljava niske zimske i visoke letnje temperature, kao i neravnomerni raspored vodenih taloga u toku godine, sa naročito malim količinama padavina u kasno letnjim mesecima. Najtopliji meseci su jul i avgust, dok se maksimum taloga javlja krajem proleća i u jesen, a minimum krajem avgusta. Avala ima vlažniju varijantu umereno-kontinentalne klime sa srednjom godišnjom temperaturom 9,5°C i srednjom godišnjom količinom padavina 631,7 mm (Obratov 1986).

Na severnim i istočnim padinama Avale dominiraju hrastovo-bukove šume, a na južnim sladunovo-cerove i kitnjakove šume (Slika 27). Prema Borisavljević i sar. (1955), na Avali postoji više šumskih zajednica: mešovita brdska bukova šuma polidominantnog tipa (*Fagetum mixtum silicicolum*), brdska bukova šuma sa lipom (*Tilio-Fagetum submontanum*), šuma kitnjaka i graba sa kostrikom (*Rusco-Quercu-Carpinetum*), šuma kitnjaka sa crnim jasnom (*Orno-Quercetum petrae*), šuma sladuna i cera sa kostrikom (*Rusco aculeati - Querceto frainetto cerris*), šuma krupnolisnog medunca i crnog jasena (*Orno-Quercetum virgiliana*). Prema Dinić (1975) postoji i više prelaznih varijanti šumskih zajednica u zavisnosti od ekspozicije i mikroklimatskih uslova. Šumske zajednice na Avali su u manjoj ili većoj meri degradovane.



Slika 27. Šumska vegetacija na Avali (foto: J. Bajić-Ljubičić)

1.6.2. Zlatarsko jezero – opis istraživanog područja

Zlatarsko jezero se nalazi 43°30'31" severne geografske širine i 19°50'19" istočne geografske dužine, između planina Zlatara na jugozapadu i Murtenice na severoistoku, na nadmorskoj visini od 880 m. Jezero je dugačko 15-23 km, širine 1,5 km, dubine 75 m i površine 7,25 km². Spada u veštačka, akumulaciona jezera i nastalo je pregrađivanjem reke Uvac kod Kokinog Broda (Slika 28). Zlatarsko jezero leži na prostorima koji su izgrađeni od trijaskih i jurskih tvorevina, a u manjoj meri i od miocenskih jezerskih sedimenata. Na području od Kokinog Broda do Nove Varoši nalaze se krečnjaci sa proslojcima laporaca (Ćirić 1977, Ćirić i sar.

1977). Uporedo sa postojanjem velikog geološkog diverziteta na području planine Zlatar, zastupljeni su i različiti tipovi zemljišta. Najčešće se sreće rendzina na krečnjaku, smeđe zemljište na krečnjaku, kiselo smeđe na kristalnim stenama i stenovito zemljište (Pavićević i sar. 1972).



Slika 28. Položaj Zlatarskog jezera

Klimatski uslovi na području Zlatarskog jezera su umereno-kontinentalnog tipa. Dominantnom tipu klime doprinose specifične odlike reljefa, odnosno okruženje većih planinskih masiva, kao i podjednaka udaljenost od Jadranskog mora (uticaja mediteranske klime) i Panonske nizije (uticaja kontinentalne klime). Prosečna količina padavina iznosi 1010,5 mm, sa najmanjom količinom u toku jeseni i zime, a najvećom s proleća i leti (462 mm tokom vegetacionog perioda). Prosečna godišnja temperatura je 9,3 °C, sa najvišom srednjom temperaturom od 19,1 °C u julu i najnižom od -2,8 °C u januaru (tokom vegetacionog perioda temperatura je u opsegu 6,8 °C do 13,0 °C). Dužina trajanja snežnog pokrivača iznosi 110 dana, a relativna vlažnost 65-72% (Tošić 1986).

Čitava oblast planine Zlatar se odlikuje velikim površinama pod šumskom vegetacijom, za koju je karakteristično da nema izrazito vertikalno zoniranje (Slika 29). Smrčeve šume tipa *Oxali*

acetosellae - *Piceetum abietis* (Rudski 49) Mišić i Popović 1960 obrazuju visinski pojas 1200-1630 mnv, a smrča prodire i u niža staništa bukovih i hrastovo-grabovih šuma spuštajući se do 650-750 mnv (Mišić i Dinić 2006). Zastupljene su i smrčevo-jelove šume na severnim ekspozicijama u pojasu 1150-1300 mnv, a šuma bukve, jele i smrče se prostire u pojasu 1100-1150 mnv na osojnim i blago nagnutim padinama (Mišić i Jovanović 1983, Mišić i sar 1985). Značajna je i zajednica belog bora i smrče *Piceo abietis* - *Pinetum sylvestris* Stefanović (Obratov 1992).



Slika 29. Šumska vegetacija na Zlatarskom jezeru (foto: M. Popović)

1.6.3. Ozren – opis istraživanog područja

Ozren se nalazi u jugoistočnoj Srbiji, na koordinatama između 43°35'02" severne geografske širine i 21°50'41" istočne geografske dužine, sa najvišim vrhom Leskovik, 1178 m. Planina se nalazi u sastavu prostranog Karpatsko-Balkanskog sistema i prostire se na krečnjačkom supstratu, ali se lokalno javljaju andeziti i silikatna podloga. Od različitih tipova zemljišta, najčešće se sreću rendzina, distrično smeđe i krečnjačka crnica (Mišić i Dinić, 2000).

Klima je umereno-kontinentalna sa većim godišnjim temperaturnim kolebanjima i sa često izraženim ekstremnim temperaturnim vrednostima. Prema autorima koji su istraživali ovo područje, klima ima specifično prelazno obeležje, između stepske, mediteranske i planinske što i vegetaciji ovog kraja daje delimično kseromorfan karakter (Mišić i Dinić, 2000).

Ozrenski planinski masiv je pokriven gustim šumama u kojima preovlađuju crni bor, bukva i hrast kitnjak (Slika 30). Na prostoru planine pojavljuje se niz endemoreliktnih vrsta vezanih za staništa serpentinsko-peridotitskih kamenjara, pukotina stena i sipara (Randelović i sar 2005). Na padinama Ozrena dominiraju klimatogene zajednice *Carpino orientalis* - *Quercetum frainetto* *cerris* B. Jov. (1953) 1979. Takođe, značajne vegetacijske celine čine kitnjakove (*Quercion petraeae* *cerris* Jovanović et Lakušić 1980) i bukove šume (*Fagion moesiaca* Blečić et Lakušić 1970) iznad kojih se razvijaju vegetacija šibljaka jorgovana, zeljaste zajednice na kamenjarima i poluprirodni travnjaci (Diklić 1962).



Slika 30. Šumska vegetacija na Ozrenu (foto: S. Bojović)

2. POLAZNE HIPOTEZE – CILJEVI RADA

Šumske drvenaste vrste (potencijalno) jestivih i/ili korisnih plodova, označene kao samoniklo voće, predstavljaju važan deo specijskog divertiteta u šumskim ekosistemima Srbije. Vrste *Rosa canina* L. (Rosaceae), *Crataegus monogyna* Jacq. (Rosaceae), *Prunus spinosa* L. (Rosaceae), *Cornus mas* L. (Cornaceae) i *Cornus sanguinea* L. (Cornaceae), iako su relativno česte u flori Srbije, još uvek nisu dovoljno proučene sa fitohemijskog, kao ni ekološko-hemijskog aspekta.

Polazeći od pretpostavke da se kvalitativnom i kvantitativnom analizom sadržaja pojedinih hemijskih jedinjenja u populacijama sa međusobno udaljenih staništa, kao i u pojedinačnim jedinkama na mikrostaništu, mogu dobiti informacije o sintezi specifičnih sekundarnih metabolita kao odgovoru na kompleks ekoloških faktora na staništu osnovni ciljevi ovog rada su:

- Identifikacija i kvantifikacija fenolne kiseline (neohlorogena kiselina [5-*O*-kafeoilhinska kiselina]) i pet flavonoida (kvercituron [kvercetin-3-*O*-glukuronid], hiperozid [3-*O*-galaktozid], rutin [kvercetin-3-*O*-rutinozid], izokvercetin [kvercetin-3-*O*-glukozid] i kercitrin [kvercetin-3-*O*-ramnozid]) u metanolnim ekstraktima svežih plodova pet šumskih drvenastih vrsta samoniklog voća iz tri prirodne populacije sa teritorije Srbije;
- Procena unutarpopulacione varijabilnosti ispitivanih vrsta na osnovu kvalitativne i kvantitativne analize sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova;
- Procena međupopulacione varijabilnosti ispitivanih vrsta na osnovu kvalitativne i kvantitativne analize sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova;
- Procena varijabilnosti između ispitivanih vrsta na osnovu kvalitativne i kvantitativne analize sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova;
- Utvrđivanje povezanosti količine odabranih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova ispitivanih vrsta sa nadmorskom visinom, pokrovnošću vegetacije, temperaturom, količinom padavina i insolacijom na staništima proučavanih populacija;
- Doprinos stabilnoj naučnoj osnovi za očuvanje biodiverziteta i sprovođenju međunarodnih obaveza o zaštiti šumskih vrsta našeg dela Balkanskog poluostrva.

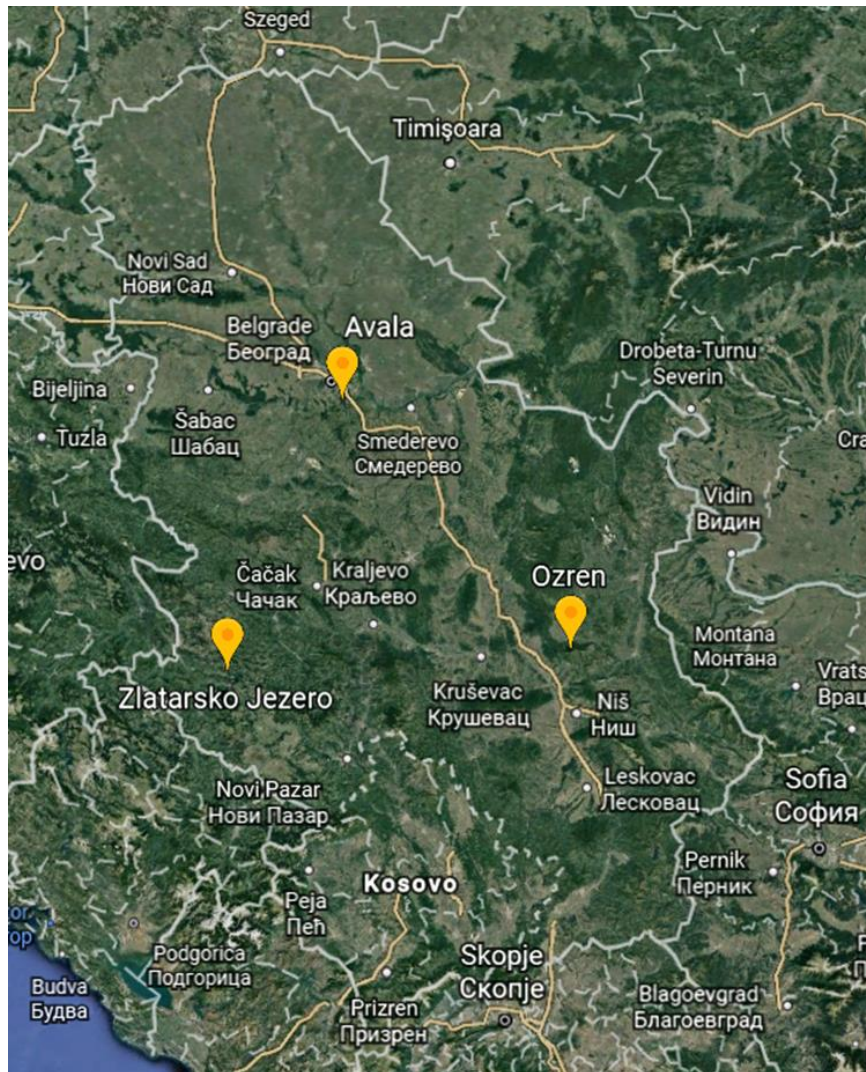
3. MATERIJAL I METODE RADA

3.1. Izbor vrsta i lokaliteta

U radu je ispitivan sadržaj šest odabranih fenolnih jedinjenja u metanolnim ekstraktima svežih plodova pet šumskih drvenastih vrsta: *Rosa canina* (Rosaceae), *Crataegus monogyna* (Rosaceae), *Prunus spinosa* (Rosaceae), *Cornus mas* (Cornaceae) i *Cornus sanguinea* (Cornaceae). Jedan od važnijih kriterijuma koji je uticao na izbor vrsta je bio da se one mogu naći na istom ili geografski veoma bliskom i ekološki sličnom šumskom staništu, što je značajno smanjilo listu potencijalnih objekata istraživanja. Takođe, prilikom izbora vrsta bilo je važno da neke od odabranih vrsta pripadaju istom rodu ili familiji, kako bi dobijeni rezultati mogli komparativno da se analiziraju. Pošto je jedan od ciljeva rada bio utvrđivanje međupopulacione varijabilnosti, prilikom odabira populacija vodilo se računa da one budu relativno udaljene, odnosno da se terenskim istraživanjima obuhvati istočni, zapadni i centralni deo Srbije.

Šumske zajednice iz kojih su uzimani uzorci plodova za analizu nalazile su se na geografski udaljenim lokalitetima, tako da je bilo moguće da se procenjuje uticaj sredinskih faktora na staništu na kvalitativni i kvantitativni sadržaj odabranih jedinjenja u plodovima. Sveži plodovi ispitivanih vrsta su sakupljani sledećim lokalitetima: Avala (Čarapićev brest), Zlatarsko jezero (Kokin brod) i Ozren (selo Lekovac). Geografski položaj odabranih lokaliteta je prikazan na slici 31.

Izbor reprezentativnog uzorka za ispitivanje hemijske varijabilnosti, odnosno onog dela populacije na kojem će se obavljati istraživanje (u konkretnom slučaju plodovi sa stabala izabranih vrsta), je sproveden u skladu sa procedurom opisanom od strane Cornelissen i sar. (2003), pri čemu se vodilo računa da se istraživane populacije nalaze na istom ili na sličnim staništima (približno slične biljne zajednice), a da uzorkovane individue budu slične starosti i sličnog položaja u okviru biljne zajednice. Broj jedinki koji će biti uzorkovan određen je na osnovu testiranja kojim su Stefanović i sar. (2013) pokazali da je statistički opravdan onaj broj jedinki koji obezbeđuje da izračunata srednja vrednost ispitivanih parametara reprezentuje osnovni skup sa verovatnoćom većom od 95%. U populacijama svake vrste broj uzorkovanih jedinki je iznosio 10 ($n = 10$), a svaka vrsta je bila predstavljena sa po tri populacije (svaka populacija na različitom staništu).

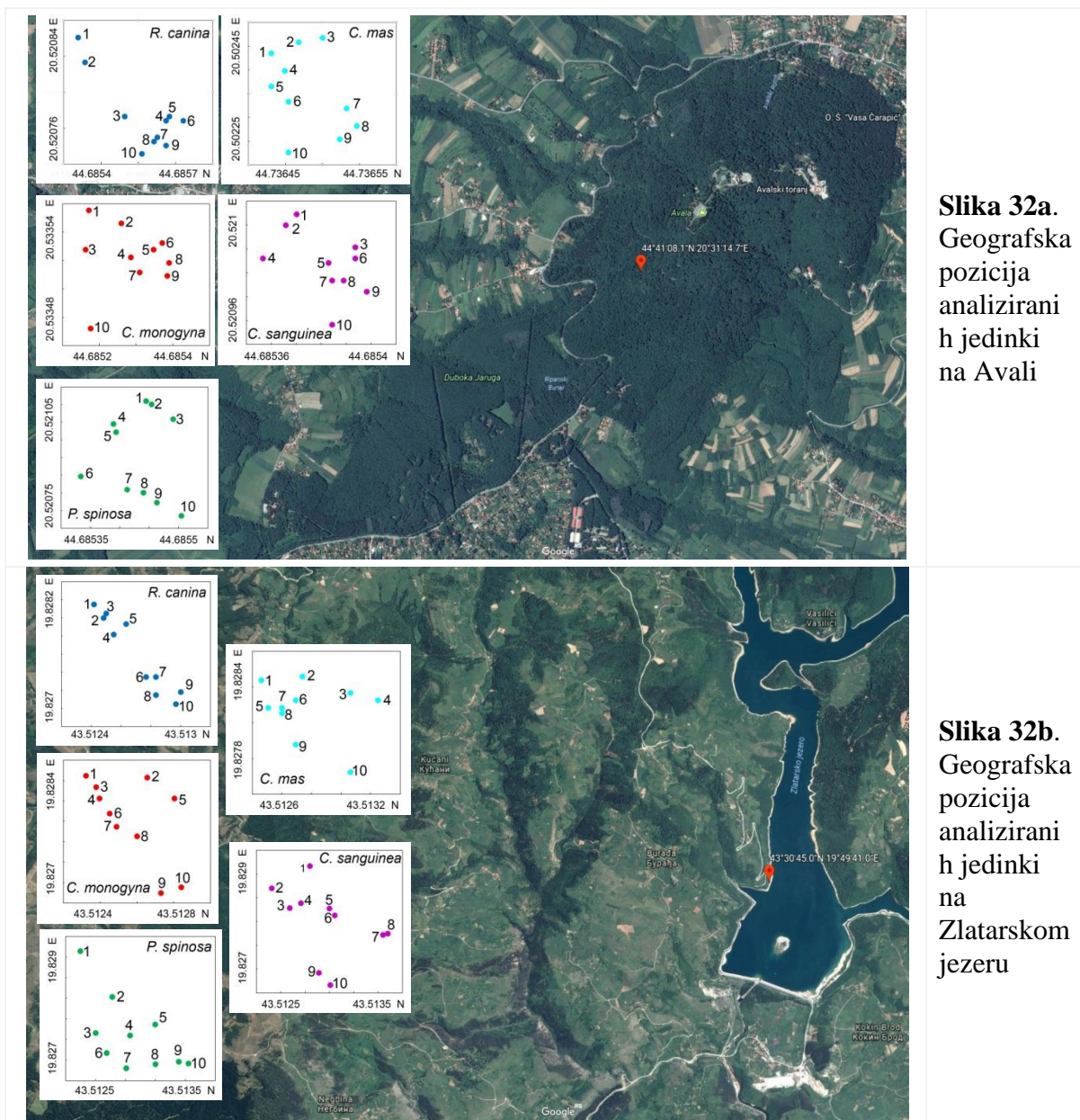


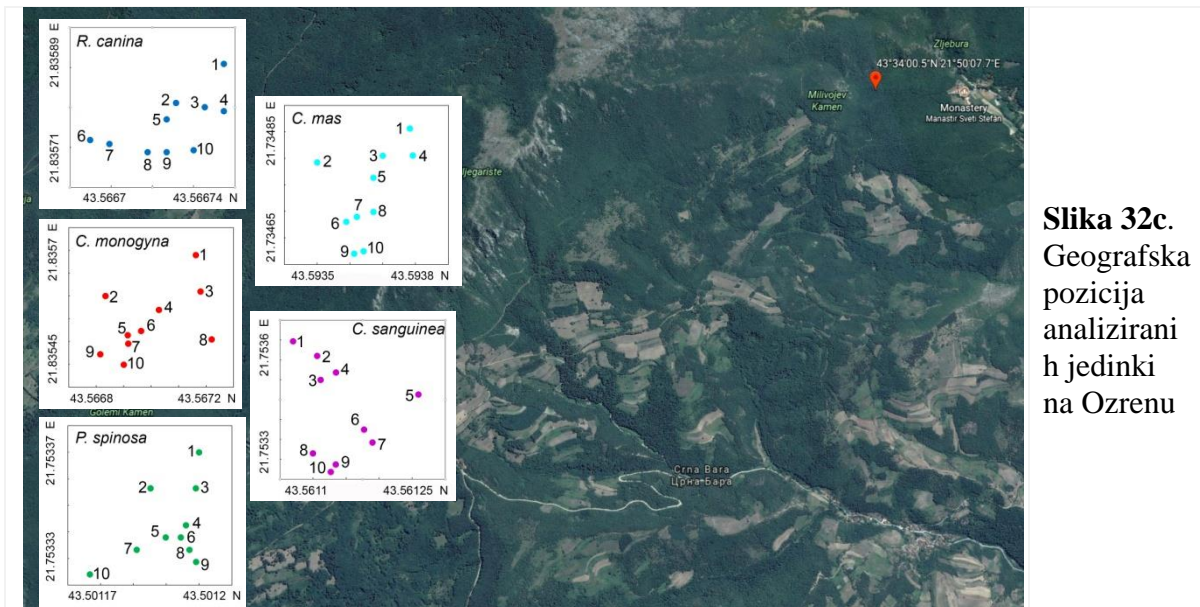
Slika 31. Geografski položaj lokaliteta sa kojih je uzorkovan biljni materijal

3.1.1. Uzorkovanje biljnog materijala

Zreli plodovi pet ispitivanih vrsta su prikupljeni u vreme njihove pune zrelosti (oktobar), na navedenim lokalitetima, pri čemu su terenska istraživanja obavljena u roku od nekoliko dana radi uniformnog uzorkovanja. Odabrane populacije su rasle u sklopu spontane flore, na staništima koja su bila udaljena od puta i relativno očuvana u pogledu biljnog pokrivača. Na Avali, uzorkovanje plodova ispitivanih vrsta je obavljeno u šumi hrasta sladuna i cera (*Quercetum frainetto-cerris s. lato*), na Zlatarskom jezeru u okviru šume kitnjaka i graba (*Ostryo-Quercetum petraeae s. lato*), dok su na Ozernu sve vrste osim *P. spinosa* bile prisutne u šumi sladuna i cera (*Quercetum frainetto-cerris s. lato*), a vrsta *P. spinosa* je uzorkovana iz šume lužnjaka i žutilovke (*Genisto-Quercetum roboris s. lato*). Sa svake jedinice uzorkovano

je po pet zrelih plodova, koji su činili zbirni uzorak koji reprezentuje jednu individu (slika 32a, b, c). Na svakom staništu (3 staništa), u okviru svake populacije (5 vrsta = 5 populacija), na ovaj način je uzorkovano 10 jedinki ($n = 10$). Ukupan broj uzoraka je iznosio 5 vrsta x 3 staništa (populacije) x 10 jedinki = 150. Botanička determinacija vrsta je urađena na terenu i potvrđena upotrebom profesionalnih ključeva za determinaciju (Josifović 1970-1986), a biljni materijal (grane, listovi) je deponovan u Institutu za biološka istraživanja “Siniša Stanković”, Univerzitet u Beogradu. Dalje laboratorijske analize su obavljene u Institutu za biološka istraživanja “Siniša Stanković” i Departmanu za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu.





Slika 32c.
Geografska
pozicija
analizirani
h jedinki
na Ozrenu

3.1.2. Obrada biljnog materijala

Sveži plodovi su odmah nakon branja smešteni u plastične vrećice, obeleženi prema vrsti, lokalitetu i geografskim koordinatama stabla. Svež material je transportovan u laboratoriju u prenosivom frižideru i preko noći smešten u frižideru da bi sutradan bio sortirani (odbačeni su oštećeni, nagnječeni plodovi) i očišćen od semenki nakon čega se pristupilo proceduri ekstrakcije.

3.1.3. Priprema ekstrakata

Ekstrakcija je veoma važan korak u izolaciji, identifikaciji i kvantifikaciji fenolnih jedinjenja, ali može se reći da ne postoji pojedinačni standardni metod ekstrakcije. Među najčešće korišene tehnike izolacije fenolnih jedinjenja spada tečna ekstrakcija (Ignat i sar. 2011), a najzastupljeniji metodi tečne ekstrakcije su oni koji koriste zakiseljeni metanol ili etanol kao rastvarač (Lapornik i sar. 2005, Caridi i sar. 2007). Smatra se da metoda ekstrakcije metanolom najefikasnija (Kapasakalidis i sar. 2006).

U ovim istraživanjima odmerena masa svežih plodova bez koštica za svaki pojedinačni uzorak (ukupno 150 uzoraka) je rastvorena maceriranjem u 70% V/V metanolu. Odnos biljnog materijala prema rastvaraču bio je 1:10. Po 0,5 g svežih plodova je ekstrahovano sa 5 ml metanola 70% na sobnoj temperaturi uz mućkanje tokom 20 h na 150 rpm/min. Dobijeni ekstrakti su proceđeni kroz membranski filter (0,45 μm membranski filter na bazi regenerisane celuloze), deponovani u frižideru i korišćeni za dalje analize.

3.2. Određivanje ukupnih fenola u ekstraktima plodova

Za određivanje ukupnih fenola korišćeni je perikarp svežih plodova. Za svaku vrstu sakupljeno je po tri uzorka (pet zrelih plodova je činilo jedan uzorak za analizu) sa tri lokaliteta. Biljni materijal je samleven u blenderu; od homogenizovanog uzorka izmerene su probe od po 2 g i ekstrahovane u 70% metanolu. Dobijeni ekstrakti su procedeni kroz membranski filter. Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima određen je spektrofotometrijski metodom po Folin-Ciocalteu (Singleton i Rosi 1965). Ova metoda je zasnovana na merenju redukujućeg kapaciteta polifenolnih jedinjenja. Reakciona smeša je pripremljena mešanjem 0,1 ml metanolnog rastvora ekstrakta svežih plodova, 7,9 ml dejonizovane vode, 0,5 ml Folin-Ciocalteu-ovog reagensa i 1,5 ml 20% Na₂CO₃. Istovremeno je pripremljena i slepa proba, smeša od 8 ml dejonizovane vode, 0,5 ml Folin-Ciocalteu-ovog reagensa i 1,5 ml 20% Na₂CO₃. Nakon inkubacije od 2 h na sobnoj temperaturi izmerene su apsorbance na $\lambda = 760$ nm. Kvantifikacija je izvršena na osnovu standardne krive galne kiseline (20 - 200 mg/l). Ukupan sadržaj fenola u uzorcima izražen je kao mg ekvivalenta galne kiseline na g sveže težine ploda (mg GAE/g SvT).

3.3. Identifikacija i kvantifikacija odabranih fenolnih jedinjenja

3.3.1. Izbor analitičke metode

Hromatografija je fizička metoda razdvajanja u kojoj se komponente koje se razdvajaju distribuiraju između dve faze, od kojih je jedna stacionarna (stacionarna faza), dok se druga mobilna (mobilna faza) kreće u određenom smeru. Raspodela komponenti uzoraka između faza uzrokovana je sa nekoliko fizičko-hemijskih procesa (adsorpcijom, raspodelom između dve faze, jonskom izmenom, gel filtracijom, stvaranjem jonskih parova), što kao posledicu ima da se komponente smeše različito raspodeljuju između faza i pod uticajem mobilne faze kreću se kroz stacionarnu fazu različitim brzinama.

Rezultati hromatografske analize se prikazuju na hromatogramu kao signali detektora sa pikovima na y-osi i retencionog vremena na x-osi. Dužina boravka određenog jedinjenja u koloni hromatografa se najčešće izražava preko retencionog vremena, koje predstavlja vreme koje protekne od ubrizgavanja smeše do pojave maksimuma signala. Retenciono vreme se

dodatno koriguje (podešeno, relativno ili korigovano retenciono vreme) zbog uticaja velikog broja spoljašnjih činilaca na reproduktivnost podataka.

Za analize alkaloida, saponina, fenolnih kiselina, fenilpropanoida, flavonoida i lipida se koristi kombinovana tehnika tačne hromatografije i masene spektrometrije (LC-MS). Tačni hromatograf omogućava razdvajanje složene smeše jedinjenja sa širokim spektrom hemijske polarnosti i različitim molekulskim masama, dok maseni spektrometar omogućava njihovu preciznu detekciju (Boyd i sar. 2008). Maseni detektori su visoko osetljivi analizatori koji mogu da „otkriju” jedinjenja koja su prisutna u vrlo niskim koncentracijama u uzorku, i da ih identifikuju na osnovu njihove molekulske mase. Veza između tačnog hromatografa i masenog spektrometra se izvodi preko jonizacionog izvora (koji jonizuje jedinjenja od interesa); upotrebom jonizacionog izvora dobijaju se protonizovani (u pozitivnom modu) ili deprotonizovani (u negativnom modu) molekuli, koji se mogu detektovati i simultano fragmentisati, pri čemu se dobija potpuna fragmentacija jedinjenja. U masenom analizatoru, joni ispitivanih analita razdvajaju se prema odnosu mase i naelektrisanja (m/z). Kada se koriste dva masena analizatora u tandemu (MS/MS), „prekursor“ jon se detektuje u prvom masenom analizatoru, a „produkt“ jon u drugom. Na taj način se dobijaju dodatne informacije o strukturi analiziranih jedinjenja preko specifičnih fragmentacionih reakcija (Boyd i sar. 2008) tj. modom za praćenje izabranog fragmenta („selected reaction monitoring“, SRM) ili modom za praćenje višestruke fragmentacije („multiple reaction monitoring“, MRM). Pouzdanost masene spektrometrije se zasniva na činjenici da su maseni spektri različitih jedinjenja dovoljno specifični da omogućavaju njihovu identifikaciju sa velikim stepenom poverenja, često i sa potpunom sigurnošću.

3.3.2. Izbor fenolnih jedinjenja za ciljanu analizu

U ovom radu je analizirano prisustvo šest fenolnih jedinjenja, neohlorogene kiseline i pet derivata kvercetina, u plodovima pet šumskih drvenastih vrsta. Odabrana jedinjenja su poznata kao veoma jaki antioksidanti (Bors i sar. 1990, Kayano i sar. 2002, Prior 2003) i dokazano je da imaju brojne biološke funkcije (antimikrobnu, antialergijsku, antiviralnu, inflamatornu) (Fang i sar. 2002, Villarino i sar. 2011); njihova biološka iskoristljivost u ljudskom organizmu je relativno visoka zbog čega se proizvodi bogati ovim jedinjenjima preporučuju u isharni (Hollman i sar. 1999, Gee i sar. 1998, Kim i sar. 2003); intenzivno se istražuju i postoji veliki

broj podataka o njihovoj biosintezi i količini u različitim biljkama (voću i povrću), ali i veliki interes za nove prirodne izvore (ne-gajenih vrsta, sa prirodnih staništa) ovih jedinjenja. Dosadašnja istraživanja su potvrdila da u plodovima vrsta srodnih ispitivanim vrstama postoje značajne količine selektovanih fenolnih jedinjenja, zbog čega se vrste iz rodova *Cornus*, *Prunus*, *Rosa* i *Crataegus* smatraju bogatim prirodnim izvorima kvercetina i (neo)hlorogene kiseline (Demir i sar. 2014, Pawlowska i sar. 2010, Mikulič-Petkovšek i sar. 2012, Sochor i sar. 2014). Na osnovu dostupnih podataka, odabrana su jedinjenja za koja je očekivano da će biti prisutna u količinama dovoljnim za preciznu kvantifikaciju i utvrđivanje varijabilnosti između različitih populacija ispitivanih vrsta.

3.3.3. Hemijski reagensi

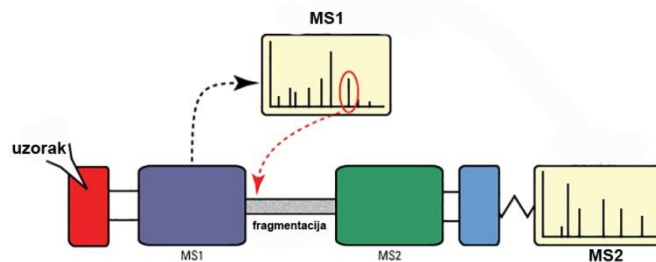
Korišćeni analitički reagensi i standardi odabranih fenolnih jedinjenja su nabavljeni od kompanija Sigma-Aldrich Chem (Steinheim, Nemačka), Fluka Chemie GmbH (Buchs, Švajcarska) i ChromaDex (Santa Ana, USA).

3.3.4. Priprema smeše standardnih rastvora

Pripremljeni su osnovni rastvori pojedinačnih fenolnih jedinjenja (10 mg/ml) rastvaranjem standarda u DMSO. Od tako pripremljenih standarda napravljen je osnovni mikš u smeši metanol:voda (1:1), sa koncentracijama od 100 µg/ml. Zatim je, sukcesivnim razblaživanjem pripremljena serija radnih rastvora u opsegu koncentracija od 15,5 ng/ml do 40 µg/ml.

3.3.5. Hemijsko profilisanje odabranih fenolnih jedinjenja pomoću LC-MS/MS tehnike

Hemijski profil ispitivanih ekstrakata je analiziran primenom tačne hromatografije sa tandemnom masenom spektrometrijom (LC-MS/MS), koja predstavlja visoko selektivnu tehniku za pouzdano razdvajanje analita. Tandemno masena spektrometrija je tehnika koja se zasniva na izolovanju prekursor jona analita (MS1), koji se zatim selektivno fragmentišu i analiziraju pomoću drugog analizatora (MS2) kako bi se generisali spektri za jonske fragmente (Slika 33).



Slika 33. Dijagram tandemske masne spektrometrije (MS/MS)

Za hemijsko profilisanje odabranih fenolnih jedinjenja korišćen je *Agilent Technologies 1200 Series Rapid Resolution* tečni hromatograf povezanim sa *Agilent Technologies 6410A series triple-quadrupole MS/MS* detektorom sa elektrosprej izvorom jonizacije (ESI) (Slika 34).



Slika 34. Izgled aparature *Agilent Technologies*

Injektovana zapremina svih uzoraka i standarda bila je 5 μL . Za hromatografsko razdvajanje korišćena je *Agilent Technologies Zorbax XDB-C18* reverzno-fazna kolona (dimenzije 50 mm \times 4,6 mm, veličine čestica 1,8 μm), termostatorirana na 50 $^{\circ}\text{C}$. Binarna mobilna faza sastojala se od 0,05% mravlje kiseline (A) i metanola (B), sa brzinom protoka od 1 ml/min. Primenjen je gradijenti mod sa

sledećim odnosom faza: 0 min 30% B, 6 min 70% B, 9 min 100% B, 12 min 100% B, uz održavanje sastava (vreme rekvilibracije) dodatnih 3 min, tako da je ukupno vreme analize trajalo 15 min.

Eluirana jedinjenja su jonizovana pomoću elektrosprej jonskog izvora čiji su parametri bili podešeni na negativan polaritet, sa azotom kao gasom za sušenje (temperatura 350 $^{\circ}\text{C}$, protok 9,5 L/min) i pritiskom gasa za nebulizaciju 50 psi i napona kapilare 4 kV. MS2 Scan mode (MS1 eksperiment), sa $m/z= 120-1000$, sken vremenom 200 ms i naponom fragmentacije 135 V je korišćen za preliminarni skrining komponenti i selekciju jona prekursora za MS2 eksperimente.

Podaci su analizirani i u pozitivnom i u negativnom modu, za pouzdaniji prenos jona i određivanje molekulskih masa. Pomoću “*Product Ion Scan moda*” (MS2 eksperiment) su

dobijeni spektralni podaci za identifikaciju komponenti. $[M+H]^+$ i $[M-H]^-$ joni reprezentativnih komponenti su upotrebljeni kao prekursori za CID, korišćenjem azota visokog stepena čistoće kao kolizionog gasa i kolizione energije u rangu 5-35 V (10 V inkrementi).

Instrument je kontrolisan softverskim sistemom *MassHunter* ver. B.03.03 (*Agilent Technologies*), a dobijeni podaci analizirani pomoću *MassHunter Workstation Qualitative Analysis* B.06.00 softvera (*Agilent Technologies*), koji je bio povezan sa *NIST MS Search 2.0d* softverom opremljenim sa interno kreiranom LAFIB bibliotekom masenih spektara (Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu).

3.3.6. Kvantifikacija odabranih fenolnih jedinjenja pomoću LC-MS/MS tehnike

Primenom tačne hromatografije sa masenim detektorom (Orčić i sar. 2014) određen je sadržaj odabranih jedinjenja (5-*O*-kafeoilhinska kiselina, kvercetin-3-*O*-glukuronid, kvercetin-3-*O*-galaktozid, kvercetin-3-*O*-rutinozid, kvercetin-3-*O*-glukozid i kvercetin-3-*O*-ramnozid) u metanolnim ekstraktima plodova ispitivanih vrsta.

Uzorci su analizirani na *Agilent Technologies 1200 Series Rapid Resolution* tačnom hromatografu povezanim sa *Agilent Technologies 6410A series triple-quadrupole MS/MS* detektorom sa elektrosprej izvorom jonizacije (ESI). Komponente su razdvojene na *Agilent Technologies Zorbax XDB-C18* reverzno-faznoj koloni. Binarna mobilna faza sastojala se od 0,05% mravlje kiseine (A) i metanola (B), sa brzinom protoka od 1 ml/min i temperaturom kolone od 50 °C. Eluat je prosleđen na ESI jonski izvor, čiji su parametri bili: temperatura gasa za sušenje (N₂) 350 °C, protok 9 L/min, pritisak gasa za nebulizaciju 40 psi, napon na kapilari 4 kV, negativan polaritet. Detekcija jona je vršena u SRM („*selected reactions monitoring*“) modu, a za svako jedinjenje posebno su optimizovani parametri masenog spektrometra (napon fragmentora V_f i napon kolizione ćelije V_c).

Za kvantifikaciju 5-*O*-kafeoilhinske kiseline korišćena je tranzicija 353→191, praćena pri 100 V (V_f) i 10 V (V_c); kvercetin 3-*O*-glukuronida tranzicija 477→300, praćena pri 100 V (V_f) i 10 V (V_c); kvercetin 3-*O*-rutinozida tranzicija 609→300, praćena pri 135 V (V_f) i 42 V (V_c); kvercetin 3-*O*-galaktozida tranzicija 463→300, praćena pri 200 V (V_f) i 30 V (V_c); kvercetin 3-*O*-glukozida tranzicija 463→300, praćena pri 210 V (V_f) i 30 V (V_c); kvercetin 3-*O*-ramnozida tranzicija 353→191, praćena pri 190 V (V_f) i 27 V (V_c) (Tabela 2). Kontrola instrumenta i obrada rezultata je izvršena pomoću *MassHunter Workstation Qualitative*

Analysis B.06.00 softvera (Agilent Technologies), koji je bio povezan sa NIST MS Search 2.0d softverom.

Tabela 2. Optimizovani MRM parametri

| Jedinjenje | Prekursor m/z | Produkt m/z | V _f | V _c | tR |
|----------------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|------|
| 5-O-kafeoilhinska kiselina | 353 | 191 | 100 | 10 | 0.79 |
| kvercetin-3-O-glukuronid | 477 | 300 | 145 | 20 | 1.97 |
| kvercetin-3-O-galaktozid | 463 | 300 | 200 | 30 | 2.03 |
| kvercetin-3-O-rutinozid | 609 | 300 | 135 | 42 | 2.06 |
| kvercetin-3-O-glukozid | 463 | 300 | 210 | 30 | 2.11 |
| kvercetin-3-O-ramnozid | 447 | 300 | 190 | 27 | 2.61 |

3.3.7. Obrada rezultata

Površine pikova iz hromatograma su očitavane u softveru *MassHunter Workstation - Qualitative Analysis software*, verzija B.04.00 (Agilent Technologies). Iz podataka dobijenih očitavanjem površina standardnih jedinjenja konstruisane su kalibracione krive (funkcija logaritma površine pika u zavisnosti od logaritma koncentracije standarda, $\log(A) = f \log(C)$) u program *OriginPro 8*, iz kojih je određen sadržaj ispitivanih jedinjenja u ekstraktima, a rezultat je izražen kao μg ispitivanog jedinjenja na 1 g svežih plodova ($\mu\text{g/g}$).

3.4. Opis staništa, orografski i mikroklimatski podaci

Geografske pozicije ispitivanih populacija su određene pomoću ručnog uređaja za globalno pozicioniranje (*Garmin eTrex* GPS prijemnik), pri čemu su zabeležene koordinate, nadmorska visina, nagib i ekspozicija na svakom od lokaliteta. Opis biljne zajednice je urađen na osnovu posmatranja i procena, a geološke i pedološke podloge su određene uz pomoć geoloških i pedoloških karti u razmeri 1:100.000. Klimatološki podaci za svaki lokalitet (srednje mesečne vrednosti za temperaturu, količinu padavina i insolaciju) tokom vegetacionog perioda ispitivanih vrsta dobijeni su od Republičkog Hidrometeorološkog Zavoda Srbije (Sektor za meteorološki osmatrački sistem). Korišćeni su podaci dostupni za mernu stanicu koja je najbliža ispitivanom lokalitetu, pa su zbog toga korigovani primenom visinskih gradijenata klimatskih elemenata (Kolić, 1988) tamo gde se nadmorska visina najbližih meteoroloških stanica značajno razlikovala od nadmorske visine ispitivanih populacija. Takođe, u analizi su korišćeni podaci dostupni na portalu RHMZS-a (Operativni hidrometeorološki bilten,

http://www.hidmet.gov.rs/ciril/meteorologija/op_bilteni.php i Sezonski bilteni za Srbiju (<http://www.hidmet.gov.rs/podaci/meteorologija/latin/>). Pokrovnost vegetacije na lokalitetima je ona procenjivana na osnovu Braun-Blanquet metode (Wikum i Shanholtzer 1978) i satelitskih snimaka terena koji su dostupni na portalu www.geosrbija.rs. Podaci za pokrovnost vegetacije, procenjeni na osnovu pokrovnosti svih članova zajednice na prostoru od 50 m², kretali su se u rasponu od 1 do 5: 1, 1-5%; 2, 5-25%; 3, 25-50%; 4, 50-75%; i 5, 75-100% pokrovnosti zemljišta.

3.5. Statistička analiza

3.5.1. Deskriptivno statistička analiza

Za svaku ispitivanu varijablu (pojedina hemijska komponenta) je izračunata deskriptivna statistika (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartalne razlike, minimalne i maksimalne vrednosti) i proverena normalnost distribucije i homogenost varijansi korišćenjem hi-kvadrat i Levenov-og testa. Za poređenje srednjih vrednosti ispitivanih varijabli korišćena je ANOVA sa post-ANOVA Bonferroni testom (parametarski test). Za poređenje medijana ispitivanih svojstava korišćen je Kruskal-Wallis neparametarski test.

3.5.2. Multivarijantna analiza podataka

Za vizualizaciju grupisanja i odnosa jedinki na osnovu sadržaja ispitivanih hemijskih jedinjenja korišćene su analiza glavnih komponenti (PCA) i klaster analiza. Njima je prethodila korelaciona analiza u cilju eliminisanja visokokorelisanih varijabli. Isprobano je više metoda klaster analize (i više distanci): „Average Linkage“ (Euclidean distance i Squared Euclidean distance), „Single Linkage“ (Euclidean distance i Squared Euclidean distance), „Ward’s Linkage“ (Euclidean distance i Squared Euclidean distance), a u radu su prikazane neke od njih. Diskriminantna analiza je korišćena za utvrđivanje i grafičko predstavljanje razlika između istraživanih populacija i vrsta.

3.5.3. Hemometrijska analiza

Za ispitivanje varijabilnosti između uzoraka primenjena je složena hemometrijska analiza, koja je od ukupnog broja ispitivanih fenolnih jedinjenja (6) diskriminisala osnovna koje doprinose razdvajanju grupa (vrsta, populacija, individua). Na ovaj način je utvrđen doprinos pojedinih jedinjenja razdvajanju grupa i njihova pouzdanost kao diskriminišućih parametara.

Zbog različitosti ispitivanih svojstava (hemijska jedinjenja) u pogledu njihove varijabilnosti hemometrijske analize su urađene nakon primene nekoliko preliminarnih koraka:

a) Utvrđeno je da li postoje ekstremno visoke ili niske vrednosti (označene kao autlajeri) koje često mogu da „iskrive“ i „zamagle“ rezultate koji se dobijaju primenom nekih složenijih statističkih analiza. Autlajeri među dobijenim podacima određivani su primenom neparametarskog Grubbs-ovog testa (test statistic T ; $p < 0,05$), kao i analizom grafičkog prikaza rezultata predstavljenih kutijastim dijagramima („box and whiskers plot“). Analizom podataka ovim pristupom definišu se autlajeri koji se u daljoj analizi glavnih komponenti (PCA) tretiraju kao suplementi.

b) Odabir testa za međusobno poređenje analiziranih populacija za pojedino svojstvo je izvršen na osnovu toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenosti varijansi (primenjeni su hi-kvadrat i Leven-ov test). Na osnovu ovih pokazatelja primenjuje se testiranje poređenjem srednjih vrednosti (parametarskim ANOVA testom) ili medijana (neparametarskim Kruskal-Wallis testom).

c) Da bi se iz obimne tabelarne forme odredila i grafički predstavila struktura svojstava i da bi se utvrdilo kako se oni grupišu, koja svojstva su međusobno povezana, a koja nisu, kakav je njihov uticaj na ukupnu varijabilnost populacije, kao i struktura elemenata (kako se grupišu pojedinačne individue, koje su slične, a koje se razlikuju) primenjena je analiza glavnih komponenti (PCA). Na ovaj način, dobijena je vrednost za kumulativnu varijabilnost koja se ogleda u vrednostima duž tri ose na PC grafiku. Procenat udela svake ose ukazuje na to koja svojstva (orjentisana duž date ose) najviše doprinose varijabilnosti uzorka, a visoka vrednost procenta udela (više od 70%) govori o tome da su podaci dobro kompresovani. Da bi se korigovala mogućnost nepouzdanog prikaza podataka oni su prethodno transformisani [$y' = \log_{10}(y + 1)$] i standardizovani tako što su glavne komponente izračunate preko korelacione matrice (matrica kovarijansi za standardizovane vrednosti). Na osnovu sume kvadriranih korelacija u planu prve dve PC ose procenjuje se doprinos pojedinih svojstava ukupnoj varijabilnosti uzorka: (suma $r^2 > 0,8$) najbolje predstavljena svojstva, odnosno ona koja značajno doprinose ukupnoj varijabilnosti uzorka; ($0,6 < \text{suma } r^2 < 0,8$), svojstva koja su dobro prezentovana; ($0,4 < \text{suma } r^2 < 0,6$) svojstva osrednje prezentovana; (suma $r^2 < 0,4$) slabo prezentovana svojstva.

d) Tendencije među individuama, njihova grupisanja i razdvajanja tumače se u odnosu na njihov položaj u prostoru prve tri PC ose. Na osnovu sume \cos^2 za prve tri ose ($< 0,5$) zaključuje se koliko je individua u ukupnom uzorku statistički nepouzdan predstavljeno.

e) U hijerarhijskoj klaster analizi istraživanih vrsta i njihovih populacija (metoda najbližeg suseda) za određivanje sličnosti korišćena je standardna euklidska udaljenost koja je izračunavana kao kvadratni koren iz sume kvadriranih razlika vrednosti za svaku varijablu.

3.5.4. Korelaciona i regresiona analiza odabranih fenolnih jedinjenja sa parametrima staništa

Koeficijent višestuke korelacije (Pirsonov koeficijent) je korišćen za utvrđivanje stepena linearne zavisnosti između sadržaja ispitivanih hemijskih parametara i relevantnih sredinskih uslova na staništu (nadmorska visina, pokrovnost vegetacija, temperatura, količina padavina i insolacija). Regresionoj analizi je prethodilo testiranje varijabli staništa u cilju utvrđivanja kolinearnosti.

Statistička obrada podataka je rađena u programima: Statistica 10, Stata 12, Microsoft Excel 2010, CANOCO 5 i XLSTAT.

4. REZULTATI

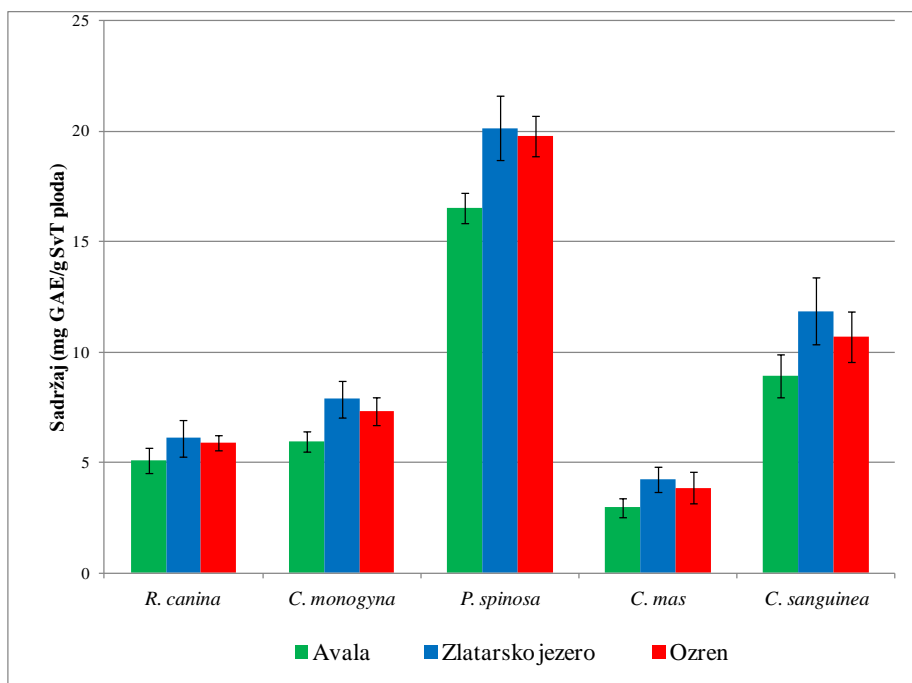
4.1. Sadržaj ukupnih fenola u uzorcima plodova *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*

Fenolna jedinjenja predstavljaju najviše ispitivane fitokemikalije i veoma često se koriste kao model sistemi u različitim oblastima istraživanja biljaka (Boudet 2007). Sadržaj ukupnih fenola određen metodom po Folin-Ciocalteu ne pruža potpuno realnu sliku o kvantitetu polifenolnih jedinjenja u ekstraktima biljaka, pre svega zbog mogućeg prisustva interferirajućih jedinjenja (kao što su šećeri, vitamin C, organske kiseline i neka druga jedinjenja) koja utiču na dobijanje viših vrednosti pri izračunavanju ukupnog sadržaja (Garcia-Salas i sar. 2010). Ipak u literaturi i dalje preovlađuju rezultati koji su dobijeni primenom ove metode, tako da je moguće uporediti rezultate dobijene u ovoj studiji sa rezultatima većeg broja već publikovanih istraživanja.

Takođe, poznato je da se jedinjenja iz klase biljnih fenola međusobno veoma razlikuju po polarnosti, tako da i količina fenolnih jedinjenja u ekstraktu koji se analizira u velikoj meri zavisi od tipa i polarnosti rastvarača (Lapornik i sar. 2005). U ovom radu ekstrakcija svih uzoraka plodova vršena je metanolom. Sadržaj ukupnih fenola u analiziranim ekstraktima kretao se od $20,15 \pm 1,46$ mg GAE/g SvT (*P. spinosa*) do $2,96 \pm 0,42$ GAE/g (*C. mas*) (Slika 35). Kod svih istraživanih vrsta postoje razlike u sadržaju ukupnih fenola u zavisnosti od lokaliteta sa kojih su uzimani uzorci za analizu.

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ukupnih fenola prikazani su slici 35. Opadajući redosled biljaka po prosečnom sadržaju ukupnih fenola u metanolnom ekstraktu ploda je: trnjina (18,82 mg GAE/g SvT), svib (10,5), beli glog (7,04), šipurak (5,7), dren (3,68). Najveće vrednosti ukupnih fenola zabeležene su u plodovima *P. spinosa* koji su uzorkovani na Zlatarskom jezeru ($20,15 \pm 1,46$ mg GAE/g SvT), neznatno niže vrednosti (1,8% manje) u plodovima sa Ozrena, a najniže (18% manje) u plodovima sa Avale. Relativno visokim sadržajem ukupnih fenola odlikuju se i plodovi *C. sanguinea* (najviše u uzorcima sa Zlatarskog jezera $11,86 \pm 1,53$, a najmanje u uzorcima sa Avale $8,94 \pm 0,98$ mg GAE/g). Plodovi belog gloga i šipurka imaju sličan sadržaj ukupnih fenola. Kod gloga vrednosti su bile u rasponu od $7,87 \pm 0,81$ (Zlatarsko jezero)

do $5,93 \pm 0,46$ (Avala), a kod šipurka od $6,11 \pm 0,83$ (Zlatarsko jezero) do $5,11 \pm 0,57$ mg GAE/g (Avala). Najniže vrednosti su zabeležene u uzorcima vrste *C. mas* (od $4,23 \pm 0,57$ u uzorcima sa Zlatarskog jezera do $2,96 \pm 0,42$ mg GAE/g u uzorcima sa Avale) (Slika 35).



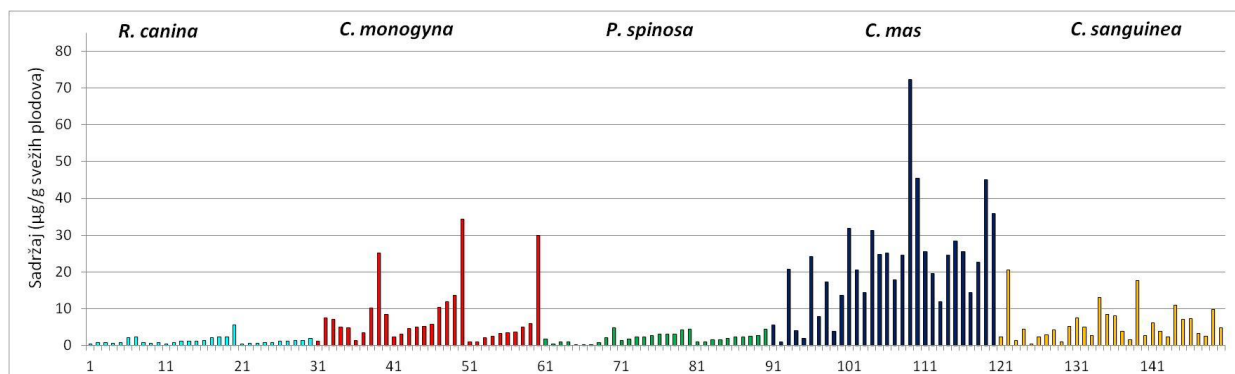
Slika 35. Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima plodova ispitivanih vrsta u odnosu na lokalitet sa kojeg su uzimani uzorci za analizu ($\bar{x} \pm SD$; $n=3$)

4.2. Kvalitativni i kvantitativni sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja

Kvalitativni i kvantitativni sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja u metanolnim ekstraktima svežih plodova pet vrsta samoniklog voća određivan je primenom LC-MS/MS tehnike. Fitohemijski skrining obuhvatio je kvalitativnu i kvantitativnu analizu neohlorogene kiseline i pet derivata kvercetina u 150 uzoraka (po 30 za svaku vrstu, označen kao ukupni uzorak vrste). Pojedinačni uzorak je reprezentovao jednu jedinku i činilo ga je pet zrelih plodova uzorkovanih sa iste individue.

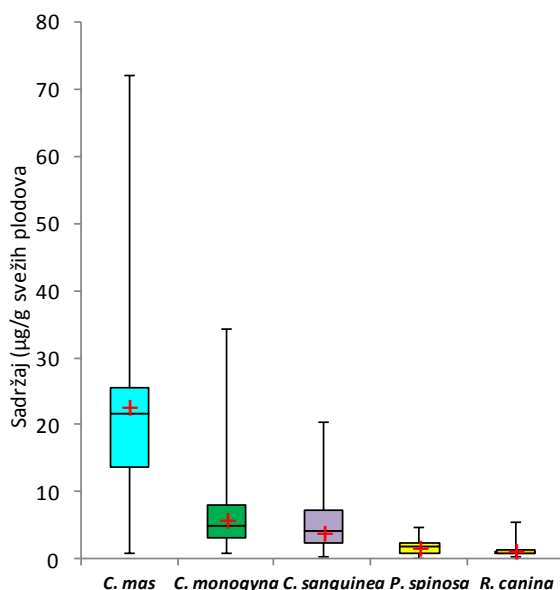
Ukupni sadržaj **neohlorogene kiseline** (5-*O*-CQ) u ispitivanim uzorcima prikazan je na slici 36. Ovo jedinjenje je detektovano u svim analiziranim uzorcima, a njegova količina značajno je varirala kako u odnosu na ispitivanu vrstu, tako i među uzorcima u okviru iste vrste. Najveća

količina (72,3 $\mu\text{g/g}$ svežih plodova) ovog jedinjenja detektovana je u uzorku *C. mas*, a najmanja u uzorku *P. spinosa* (0,1 $\mu\text{g/g}$ SvT).



Slika 36. Sadržaj (μg) neohlorogene kiseline u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*.

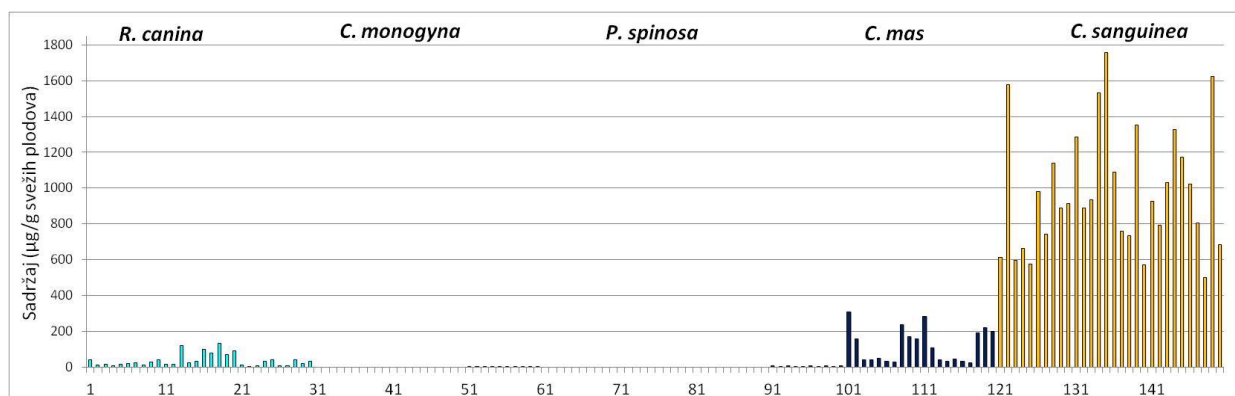
U odnosu na sve ispitivane vrste (Slika 37), najveća količina neohlorogene kiseline detektovana je u ekstraktima plodova *C. mas* (srednja vrednost ukupnog uzorka $22,05 \pm 14,85$ $\mu\text{g/g}$ SvT). Vrste *C. monogyna* ($7,58 \pm 8,27$ $\mu\text{g/g}$ SvT) i *C. sanguinea* ($5,86 \pm 4,92$ $\mu\text{g/g}$ SvT) karakterišu se višestruko nižim vrednostima sadržaja ovog jedinjenja. Najmanje vrednosti su zabeležene kod vrste *P. spinosa* ($2,02 \pm 1,29$ $\mu\text{g/g}$ SvT) i *R. canina* ($1,23 \pm 1$ $\mu\text{g/g}$ SvT).



Slika 37. Srednja vrednost (+), medijana (—), prva-treća kvartila (■), min-max opseg (⊥) sadržaja (μg) neohlorogene kiseline u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) ukupnog uzorka *C. mas*, *C. monogyna*, *C. sanguinea*, *P. spinosa* i *R. canina*

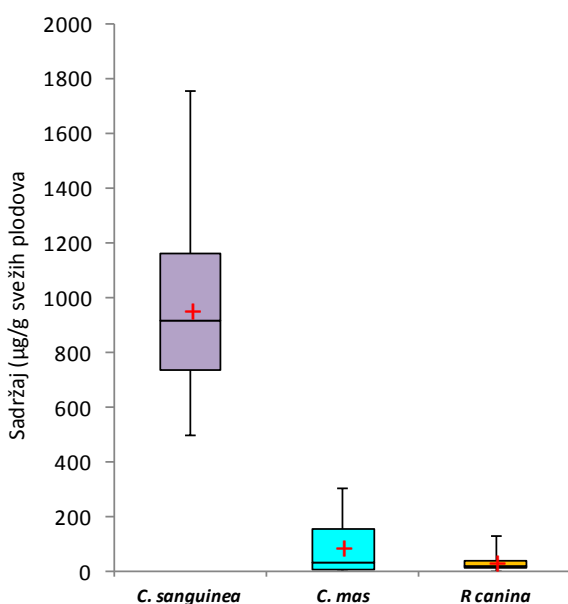
Najveća količina (1759,4 $\mu\text{g/g}$ SvT) **kvercetin-3-O-glukuronida** (Q-3-O-GlcA) detektovana je u uzorku *C. sanguinea* (Slika 38). Svi uzorci ove vrste se karakterišu značajno većom količinom

ovog jedinjenja u odnosu na ostale ispitivane vrste ($982,50 \pm 342,62 \mu\text{g/g SvT}$ u ukupnom uzorku). Najmanja količina zabeležena je u uzorku *C. mas* ($2,7 \mu\text{g/g SvT}$).



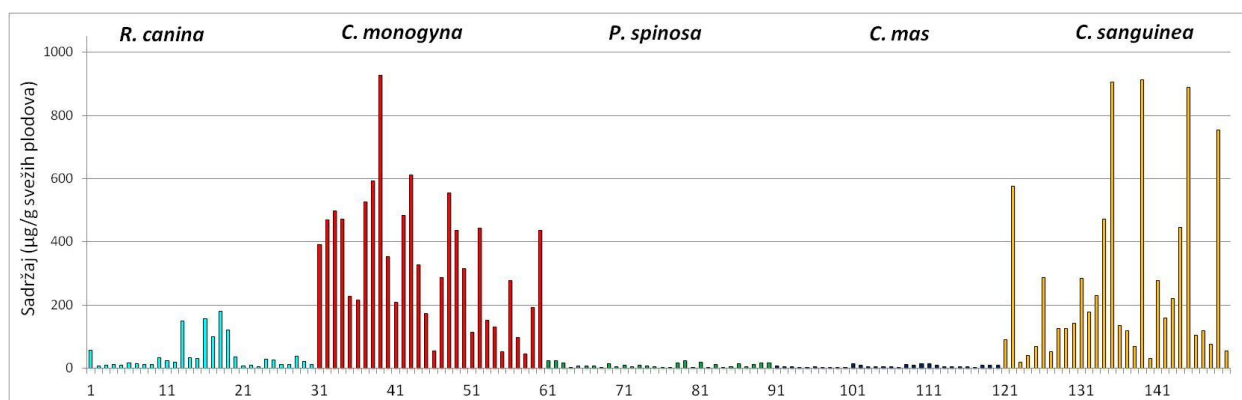
Slika 38. Sadržaj (μg) kvercetin-3-*O*-glukuronida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*.

Sadržaj ovog jedinjenja u pojedinačnim uzorcima dreva je pokazivao veliku varijabilnost ($81,14 \pm 94,95 \mu\text{g/g SvT}$). Takođe, velika varijabilnost sadržaja Q-3-*O*-GlcA zabeležena je i u pojedinačnim uzorcima šipurka ($36,15 \pm 34,42 \mu\text{g/g SvT}$). U uzorcima trnjine ovo jedinjenje nije detektovano, dok je izuzetno mala količina, nedovoljna za kvantifikaciju, detektovana u pojedinim uzorcima belog gloga (Slika 39).

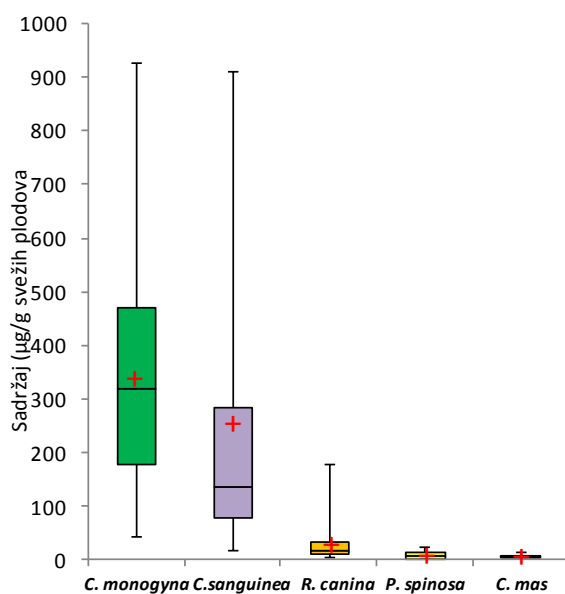


Slika 39. Srednja vrednost (+), medijana (—), prva-treća kvartila (▭), min-max opseg (⊥) sadržaja (μg) kvercetin-3-*O*-glukuronida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) ukupnog uzorka *C. sanguinea*, *C. mas* i *R. canina*.

Prisustvo **kvercetin-3-*O*-galaktozida** (Q-3-*O*-Gal) je detektovano u uzorcima svih analiziranih vrsta. Najveća količina (926,8 µg/g svežih plodova) detektovana je u uzorku vrste *C. monogyna*, dok je najmanja količina (0,3 µg/g SvT) detektovana u uzorku drena (Slika 40). Rezultati pokazuju da ekstrakti plodova belog gloga sadrže veću količinu ovog jedinjenja u odnosu na ostale ispitivane vrste ($335,41 \pm 204,95$ µg/g SvT u ukupnom uzorku). Visok sadržaj ovog jedinjenja, kao i veoma velika varijabilnost, zabeležena je i u uzorcima *C. sanguinea* ($264,77 \pm 275,02$ µg/g SvT). U plodovima šipurka detektovane su višestruko manje količine kvercetin-galaktozida ($39,44 \pm 48,55$ µg/g SvT), ali je primetna velika varijabilnost između pojedinačnih uzoraka. Kod plodova vrsta *P. spinosa* i *C. mas* zabeležene su značajno manje količine ovog jedinjenja ($9,61 \pm 7,02$ µg/g SvT, odnosno $5,67 \pm 4,09$ µg/g SvT) (Slika 41).

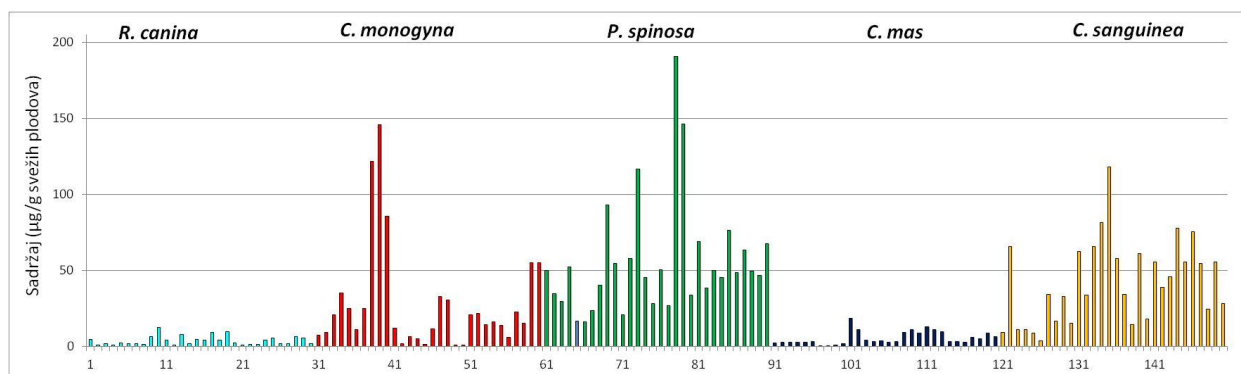


Slika 40. Sadržaj (µg) kvercetin-3-*O*-galaktozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*.

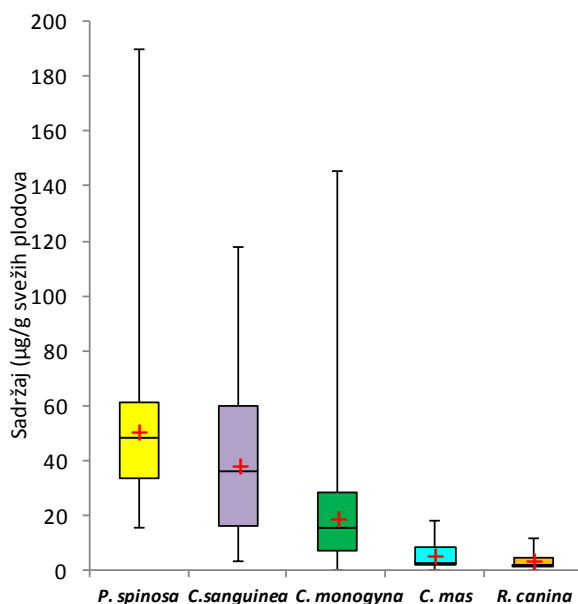


Slika 41. Srednja vrednost (+), medijana (—), prva-treća kvartila (■), min-max opseg (±) sadržaja (µg) kvercetin-3-*O*-galaktozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) ukupnog uzorka *C. monogyna*, *C. sanguinea*, *R. canina*, *P. spinosa* i *C. mas*

Kvercetin-3-*O*-rutinozid (Q-3-*O*-Rut) je prisutan kod svih ispitivanih vrsta. Najveća količina (190,4 µg/g SvT) ovog jedinjenja detektovana je u uzorku trnjne, a najmanja (0,3 µg/g) u uzorku drene (Slika 42). Dobijeni rezultati pokazuju da su najveće količine ovog jedinjenja prisutne u ekstraktima plodova vrste *P. spinosa* (55,92 ± 37,99 µg/g SvT). Niže vrednosti su detektovane u ekstraktima plodova *C. sanguinea* (42,12 ± 27,3 2µg/g SvT) i *C. monogyna* (27,54 ± 34,36 µg/g SvT). Kod sve tri ispitivane vrste konstatovana je velika varijabilnost u sadržaju ovog jedinjenja. Plodovi vrsta *C. mas* (5,33 ± 4,31 µg/g SvT) i *R. canina* (3,68 ± 2,95 µg/g SvT) odlikuju se višestruko manjim količinama kvercetin-3-*O*-rutinozida u odnosu na ostale ispitivane vrste (Slika 43).

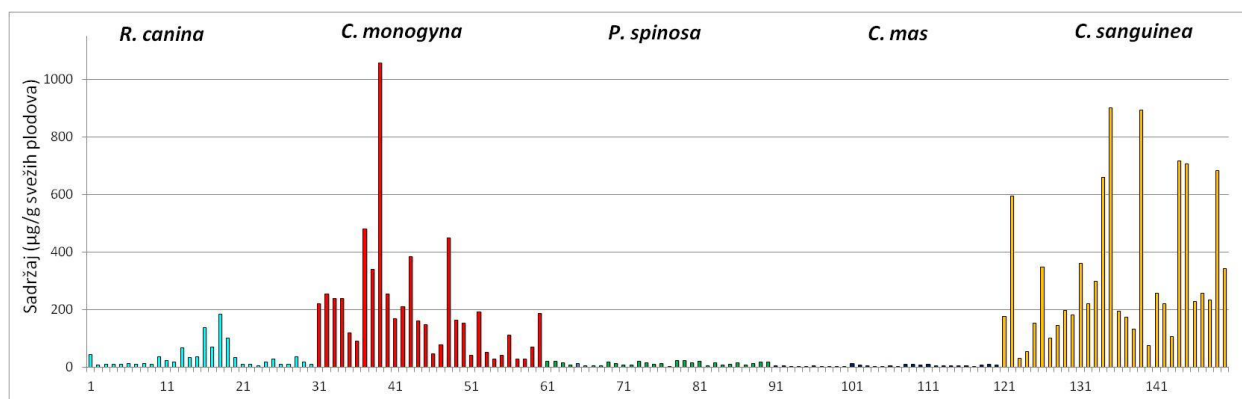


Slika 42. Sadržaj (µg) kvercetin-3-*O*-rutinozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*

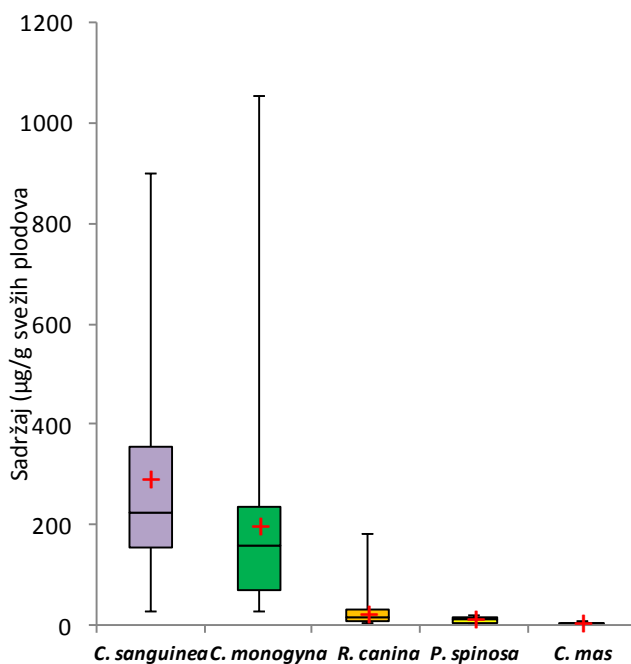


Slika 43. Srednja vrednost (+), medijana (—), prva-treća kvartila (■), min-max opseg (⊥) sadržaja (µg) kvercetin-3-*O*-rutinozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) ukupnog uzorka *P. spinosa*, *C. sanguinea*, *C. monogyna*, *C. mas* i *R. canina*

U uzorcima svih ispitivanih vrsta potvrđeno je prisustvo **kvercetin-3-*O*-glukozida (Q-3-*O*-Glc)**. Najveća količina (1055,9 $\mu\text{g/g}$ SvT) ovog jedinjenja detektovana je u uzorku belog gloga, a najmanja (0,2 $\mu\text{g/g}$ SvT) u uzorku drena (Slika 44).



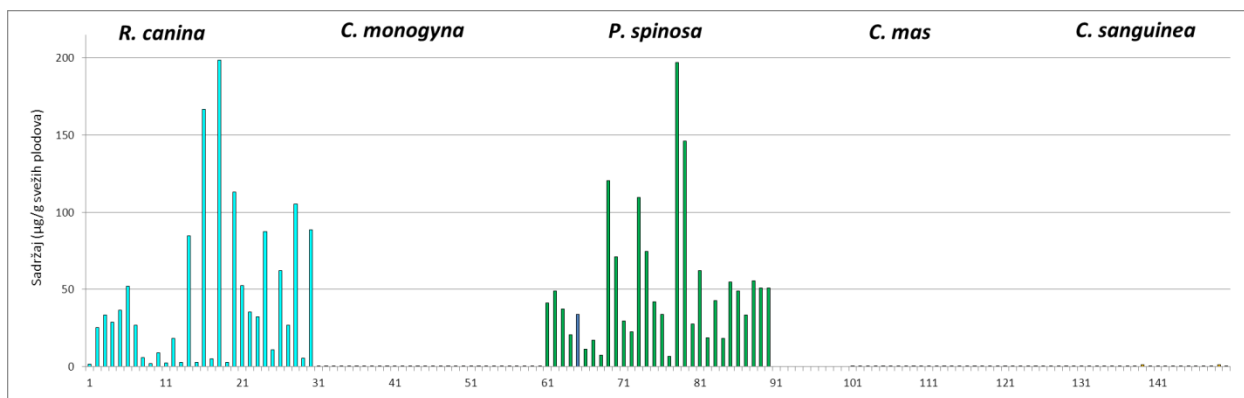
Slika 44. Sadržaj (μg) kvercetin-3-*O*-glukozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*.



Slika 45. Srednja vrednost (+), medijana (—), prva-treća kvartila (■), min-max opseg (⊥) sadržaja (μg) kvercetin-3-*O*-glukozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) ukupnog uzorka *C. sanguinea*, *C. monogyna*, *R. canina*, *P. spinosa*, i *C. mas*

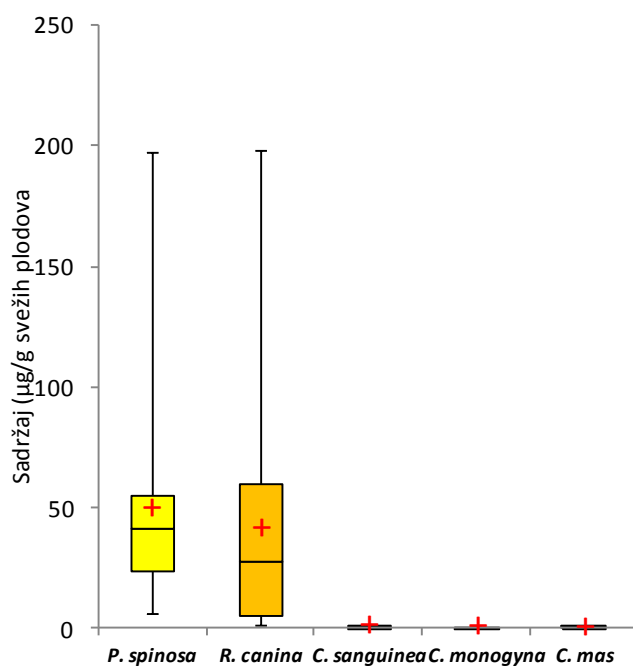
Uzorci *C. monogyna* ($320,81 \pm 251,43 \mu\text{g/g SvT}$) i *C. sanguinea* ($200,43 \pm 202,39 \mu\text{g/g SvT}$) karakterišu se većim vrednostima sadržaja, kao i velikom varijabilnošću, kvercetin-3-*O*-glukozida u odnosu na ostale ispitivane vrste (Slika 45). Niske vrednosti sadržaja ovog jedinjenja registrovane su u ekstraktima plodova vrste *R. canina* ($33,08 \pm 41,22 \mu\text{g/g SvT}$) i *P. spinosa* ($12,47 \pm 6,14 \mu\text{g/g SvT}$). Rezultati pokazuju da je najmanji sadržaj kvercetin-3-*O*-glukozida prisutan u plodovima *C. mas* ($4,29 \pm 3,03 \mu\text{g/g SvT}$).

Od pet analiziranih derivara kvercetina, **kvercetin-3-*O*-ramnozid** (Q-3-*O*-Rha) je bio najmanje zastupljen kod ispitivanih vrsta. Visok sadržaj ovog jedinjenja je detektovan je samo u uzorcima šipurka (najveća količina $198,5 \mu\text{g/g SvT}$) i trnjine ($197,1 \mu\text{g/g SvT}$). Kod ostalih analiziranih vrsta sadržaj ovog jedinjenje je izuzetno nizak. U deset uzoraka drena prisustvo ovog jedinjenja nije ni detektovano, dok u 12 uzoraka količine nisu bile dovoljne za kvantifikaciju. Takođe u 13 uzoraka belog gloga sadržaj ovog jedinjenja je bio nedovoljan za njegovo kvantitativno određivanje (Slika 46).

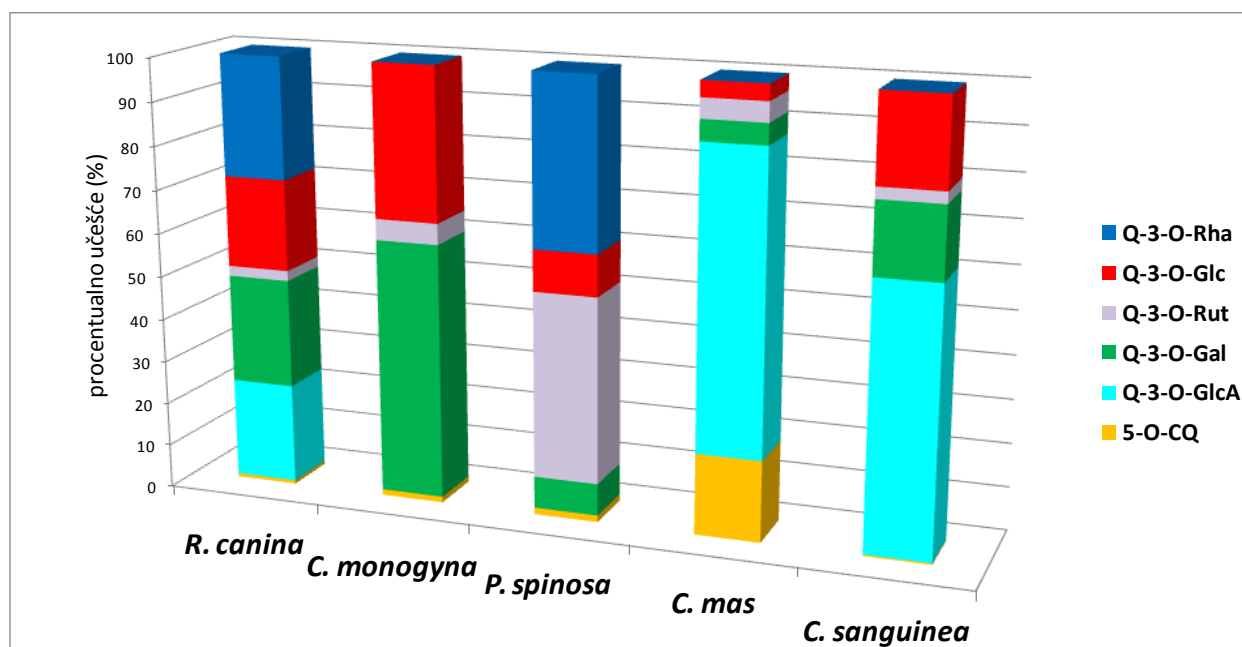


Slika 46. Sadržaj (μg) kvercetin-3-*O*-ramnozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*.

Poređujući dobijene rezultate za sve ispitivane vrste (Slika 47), uočljivo je da plodovi *P. spinosa* ($51,2 \pm 42,56 \mu\text{g/g SvT}$) i *R. canina* ($44,15 \pm 50,17 \mu\text{g/g SvT}$) sadrže velike količine kvercetin-3-*O*-ramnozida. U uzorcima belog gloga ($0,08 \pm 0,11 \mu\text{g/g SvT}$), drena ($0,05 \pm 0,11 \mu\text{g/g SvT}$) i sviba ($0,25 \pm 0,25 \mu\text{g/g SvT}$) sadržaj ovog jedinjenja je bio izrazito nizak (maksimalne vrednosti nisu prelazile vrednost od $0,5 \mu\text{g/g SvT}$).



Slika 47. Srednja vrednost (+), medijana (—), prva-treća kvartila (■), min-max (⊥) opseg sadržaja (μg) kvercetin-3-*O*-ramnozida u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) ukupnog uzorka *P. spinosa*, *R. canina*, *C. sanguinea*, *C. monogyna* i *C. mas*.



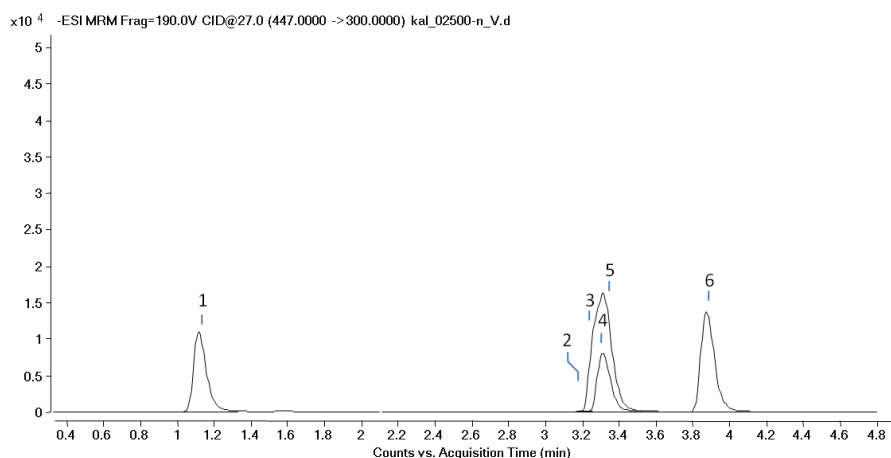
Slika 48. Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja šest fenolnih jedinjenja u ukupnom uzorku plodova analiziranih vrsta

Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja svih analiziranih jedinjenja u ukupnom uzorku pokazuje značajne razlike među analiziranim vrstama (Slika 48). Kod vrste *R. canina* procentualno učešće analiziranih jedinjenja je relativno ujednačeno (20-28%), sa izuzetkom kvercetin-rutinozida (2,3%) i neohlorogene kiseline (0,8%). Kod *C. monogyna* uočljiva je dominacija kvercetin-galktozida (59%) i glukozida (35%), a kod *P. spinosa* dominacija kvercetin-rutinozida (43%) i ramnozida (39%). Za vrste *C. mas* i *C. sanguinea* karakteristično je dominantno prisustvo kvercetin-glukuronida (68%, odnosno 61%).

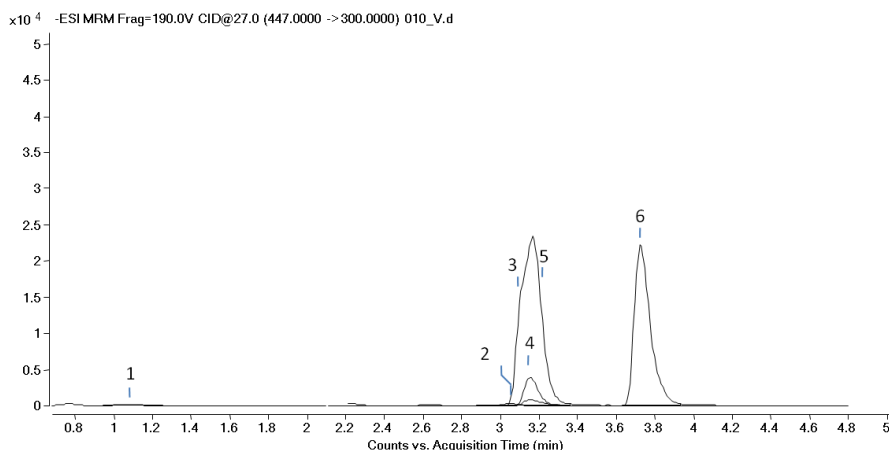
4.3. Kvalitativni i kvantitativni sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod analiziranih vrsta u odnosu na lokalitet

4.3.1. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *Rosa canina* u odnosu na lokalitet

Fitohemijski skrining usmeren na kvalitativnu analizu neohlorogene kiseline i pet derivata kvercetina primenom LC-MS/MS tehnike dokazao je prisustvo ovih jedinjenja u svim uzorcima vrste *R. canina*. Hromatograf za standardne rastvove i reprezentativni hromatogram metanolnih ekstrakta plodova *R. canina* prikazani su na slikama 49a i 49b.



Slika 49a. Hromatogram za standardne rastvove šest ispitivanih jedinjenja (u koncentraciji 2,5 µg/mL): (1) 5-*O*-CQ 1,12 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 3,2 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,26 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,31 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,33 min; (6) Q-3-*O*-Rha 3,87 min.



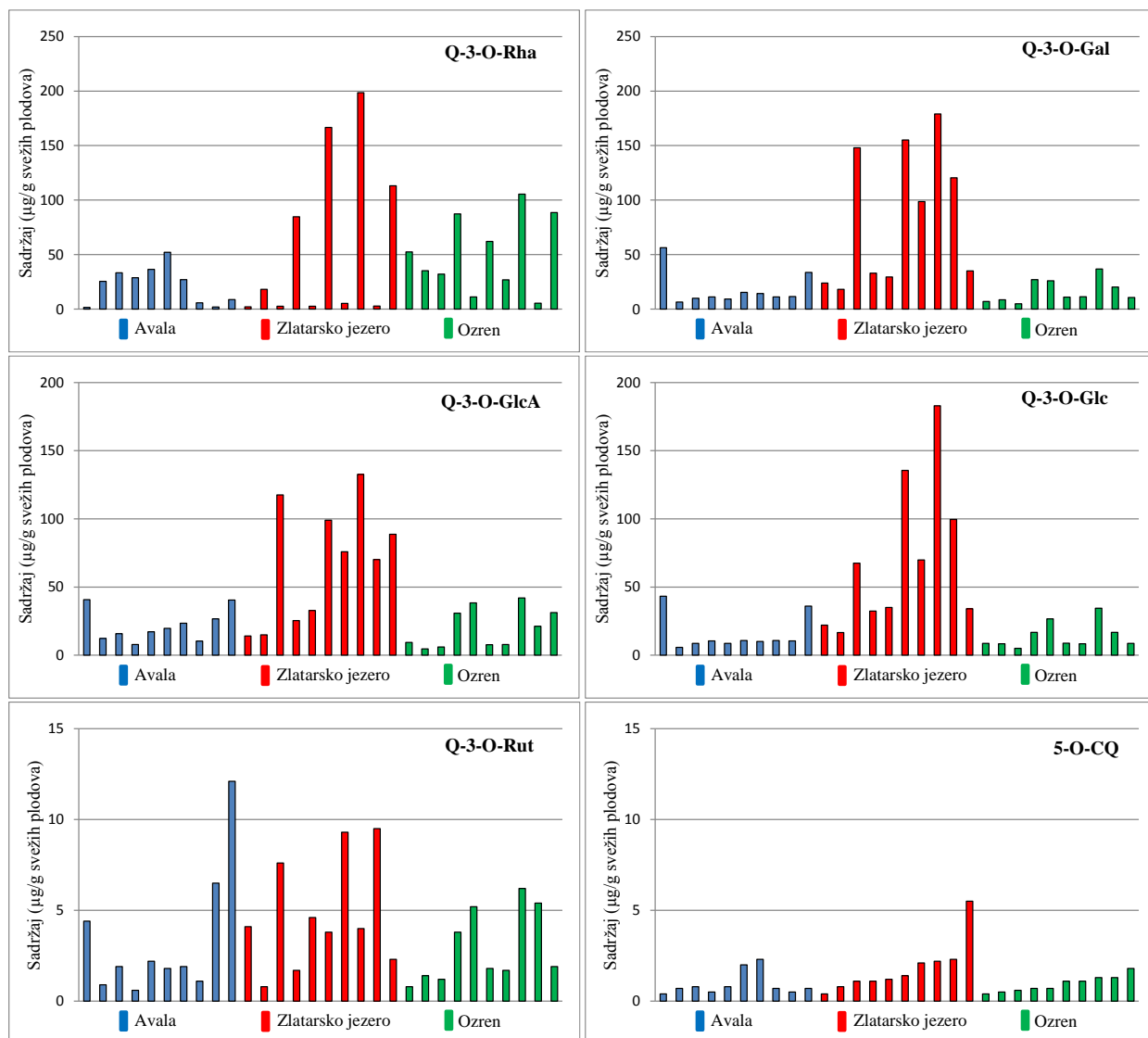
Slika 49b. Reprezentativni hromatogram ekstrakta plodova *R. canina* (uzorak br. 010; 99,9 mg svežeg uzorka/mL 70% MeOH): (1) 5-*O*-CQ 1,07 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 3,05 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,12 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,16 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,18 min; (6) Q-3-*O*-Rha 3,72 min.

Rezultati pokazuju da se od svih ispitivanih jedinjenja po količini jasno izdvaja kvercetin-ramnozid [Q-3-*O*-Rha] ($44,15 \pm 50,17 \mu\text{g/g SvT}$). Velika varijabilnost sadržaja ovog jedinjenja rezultat je razlika u sadržaju u odnosu na lokalitet sa koga su uzorci plodova šipurka sakupljeni, kao i razlika među individuama iz iste populacije (Slika 50). U ekstraktima plodova jedinki iz populacije sa Zlatarskog jezera detektovane su najveće vrednosti ($59,68 \pm 75,97 \mu\text{g/g SvT}$), a uočljiva je i velika varijabilnost unutar ove populacije. Takođe visoke vrednosti sadržaja ($50,65 \pm 34,43 \mu\text{g/g SvT}$), ali i manja varijabilnost, detektovane su u populaciji sa Ozrena. Najmanja količina je zabeležena u populaciji sa Avale ($22,11 \pm 16,95 \mu\text{g/g SvT}$).

Sledeće jedinjenje rangirano po količinama prisutnim u ekstraktima plodova šipurka je kvercetin-glukuronid [Q-3-*O*-GlcA] ($36,15 \pm 34,42 \mu\text{g/g SvT}$). Jedinke iz populacije sa Zlatarskog jezera sa kojih su uzorkovani plodovi sadrže najveću količinu ovog derivata kvercetina ($67,1 \pm 43,27 \mu\text{g/g SvT}$). Znatno niže vrednosti detektovane su u populaciji sa Avale ($21,44 \pm 11,58 \mu\text{g/g SvT}$) i sa Ozrena ($19,91 \pm 14,59 \mu\text{g/g SvT}$).

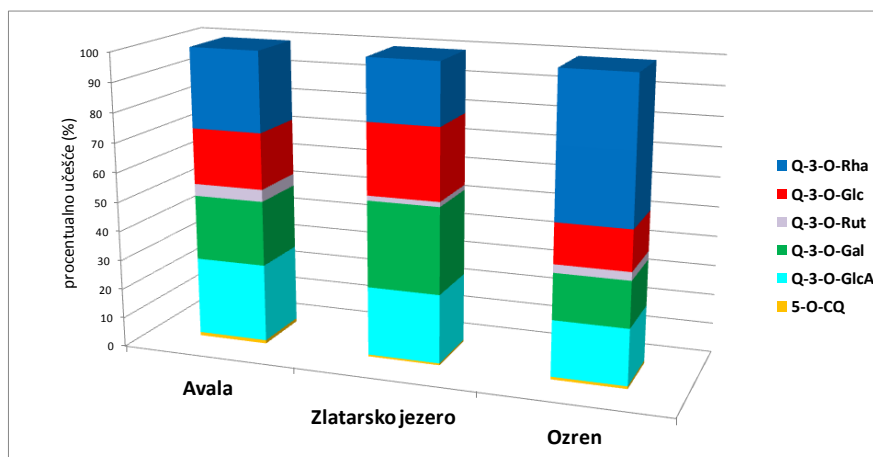
Među selektovanim jedinjenjima treće po količini je kvercetin-glukozid [Q-3-*O*-Glc] ($33,08 \pm 41,22 \mu\text{g/g SvT}$). I u pogledu sadržaja ovog jedinjenja jasno se izdvajaju jedinke iz populacije sa Zlatarskog jezera ($69,52 \pm 54,79 \mu\text{g/g SvT}$), u odnosu na populaciju sa Avale ($15,49 \pm 12,94 \mu\text{g/g SvT}$) i sa Ozrena ($14,24 \pm 9,56 \mu\text{g/g SvT}$). Niske vrednosti su detektovane za kvercetin-rutinozid [Q-3-*O*-Rut] ($3,68 \pm 2,95 \mu\text{g/g SvT}$) i neohlorevenu kiselinu [5-*O*-CQ] ($1,23 \pm 1 \mu\text{g/g SvT}$). I za

ova jedinjenja najveće vrednosti su zabeležene u populaciji sa Zlatarskog jezera ($4,77 \pm 3,06 \mu\text{g/g}$ SvT, odnosno $1,81 \pm 1,44 \mu\text{g/g}$ SvT). Količina ovih jedinjenja u ekstraktima plodova jedinki iz populacija sa Avale i Ozrena su međusobno slične (Q-3-O-Rut $3,34 \pm 1,44 \mu\text{g/g}$ SvT, odnosno $2,94 \pm 2,01 \mu\text{g/g}$ SvT; 5-O-CQ $0,94 \pm 0,66 \mu\text{g/g}$ SvT, odnosno $0,95 \pm 0,44 \mu\text{g/g}$ SvT).



Slika 50. Sadržaj (μg) kvercetin-3-O-ramnozida (Q-3-O-Rha), kvercetin-3-O-galaktozida (Q-3-O-Gal), kvercetin-3-O-glukuronida (Q-3-O-GlcA), kvercetin-3-O-glukozida (Q-3-O-Glc), kvercetin-3-O-rutinozida (Q-3-O-Rut) i neohlorogene kiseline (5-O-CQ) u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka *R. canina* sa Avale, Zlatarskog jezera i Ozrena

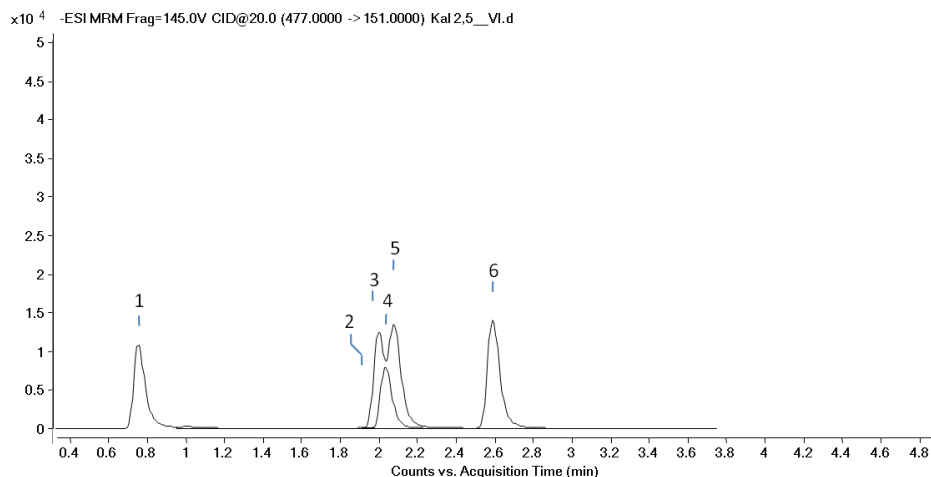
Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja svih analiziranih jedinjenja u plodovima *R. canina* pokazuje izvesne razlike među analiziranim populacijama (Slika 51). Uzorci iz populacija sa Avale i Zlatarskog jezera su međusobno sličniji, dok je kod uzoraka sa Ozrena uočljivo smanjenje procentualnog učešća kvercetin-galktozida i glukozida, a povećanje učešća ramnozida.



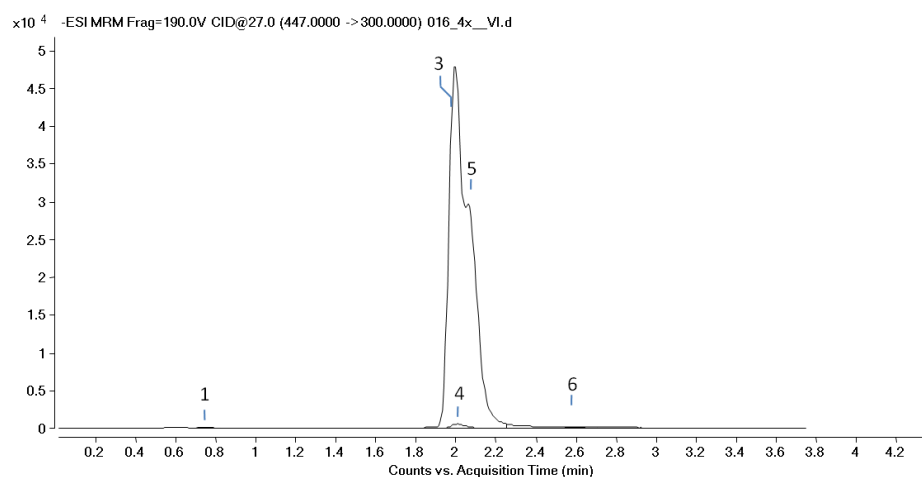
Slika 51. Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja šest fenolnih jedinjenja u uzorcima iz tri populacije *R. canina*

4.3.2. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *Craetegus monogyna* u odnosu na lokalitet

Kvalitativna analiza odabranih fenolnih jedinjenja dokazala je prisustvo pet jedinjenja u svim uzorcima vrste *C. monogyna*, dok je kvercetin-3-*O*-glukuronid detektovan u samo 10 (od ukupno 30) uzoraka. Hromatograf za standardne rastvore i reprezentativni hromatogram metanolnih ekstrakta plodova *C. monogyna* prikazani su na slikama 52a i 52b).



Slika 52a. Hromatogram za standardne rastvore šest ispitivanih jedinjenja (u koncentraciji 2,5 µg/mL): (1) 5-*O*-CQ 0,76 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 1,94 min; (3) Q-3-*O*-Gal 2,0 min; (4) Q-3-*O*-Rut 2,04 min; (5) Q-3-*O*-Glc 2,08 min; (6) Q-3-*O*-Rha 2,59 min.



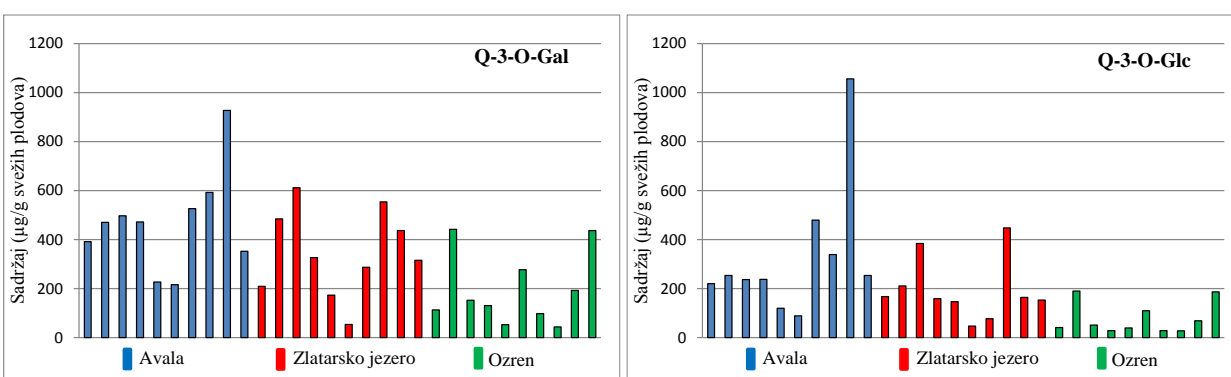
Slika 52b. Reprezentativni hromatogram ekstrakta plodova *C. monogyna* (uzorak br. 016; 100,7 mg svežeg uzorka/mL 70% MeOH, rastvoreno 4x u mobilnoj fazi (25,2 mg/mL)): (1) 5-*O*-CQ 0,75 min; (3) Q-3-*O*-Gal 1,99 min; (4) Q-3-*O*-Rut 2,01 min; Q-3-*O*-Glc 2,06 min; (6) Q-3-*O*-Rha 2,58 min.

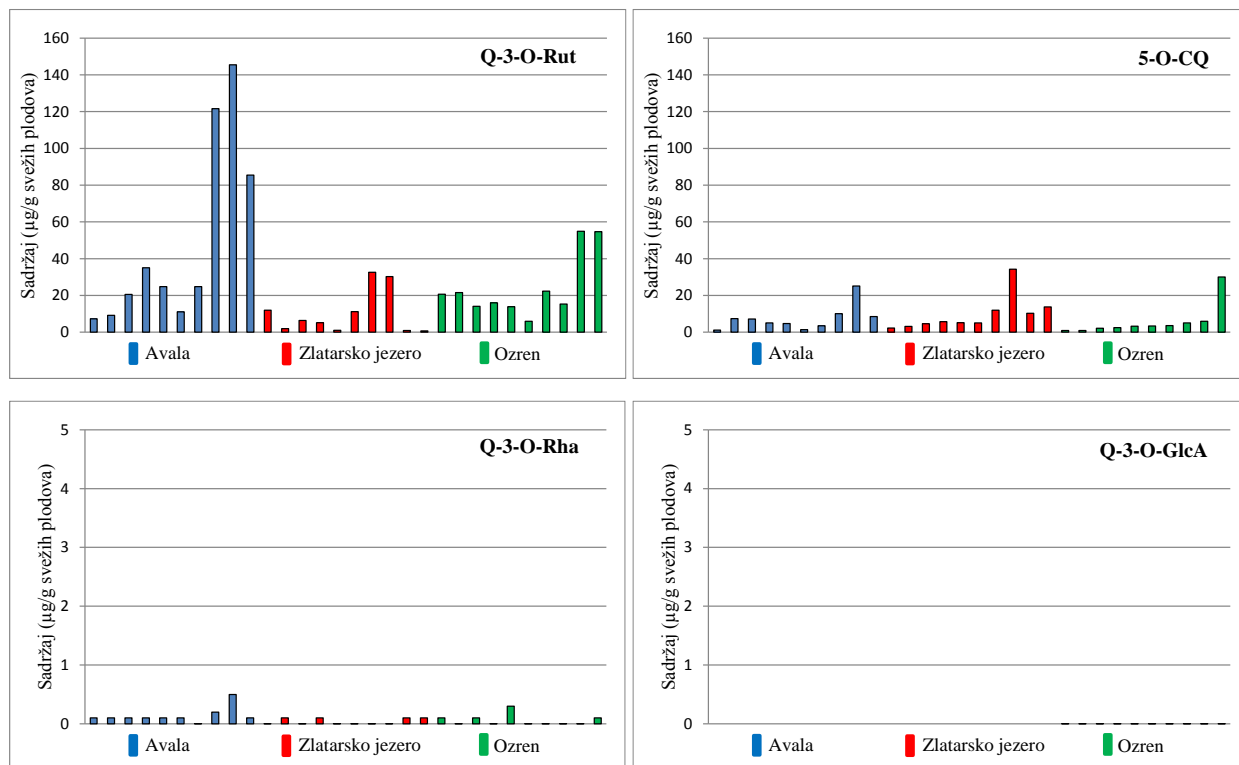
Kvantitativni skrining odabranih fenolnih komponenti ekstrakata ploda *C. monogyna* potvrdio je prisustvo pet jedinjenja u sledećem redosledu: Q-3-*O*-Gal (335,41 ± 204,95 µg/g SvT), Q-3-*O*-Glc (200,43 ± 202,39 µg/g SvT), Q-3-*O*-Rut (27,54 ± 34,36 µg/g SvT), 5-*O*-CQ (7,58 ± 8,27 µg/g SvT) i Q-3-*O*-Rha (0,08 ± 0,11 µg/g SvT), dok je Q-3-*O*-GlcA bio zabeležen samo u uzorcima sa lokaliteta Ozren, ali u količinama nedovoljnim za kvantifikaciju (Slika 53).

Najveća količina kvercetin-galaktozida je prisutna u ekstraktima plodova jedinki u populaciji sa Avale ($467,18 \pm 203,06 \mu\text{g/g SvT}$). Niže vrednosti su detektovane u populaciji sa Zlatarskog jezera ($345,23 \pm 176,51 \mu\text{g/g SvT}$), a najniže u populaciji sa Ozrena ($193,83 \pm 145,88 \mu\text{g/g SvT}$). Sledeće jedinjenje po kvantitativnom sadržaju, kvercetin-glukozid, najviše vrednosti ima u populaciji sa Avale ($345,23 \pm 176,51 \mu\text{g/g SvT}$). Relativno visoke vrednosti detektovane su i u populaciji sa Zlatarskog jezera ($195,56 \pm 125,93 \mu\text{g/g SvT}$), a najniže u populaciji sa Ozrena ($77,24 \pm 63,67 \mu\text{g/g SvT}$).

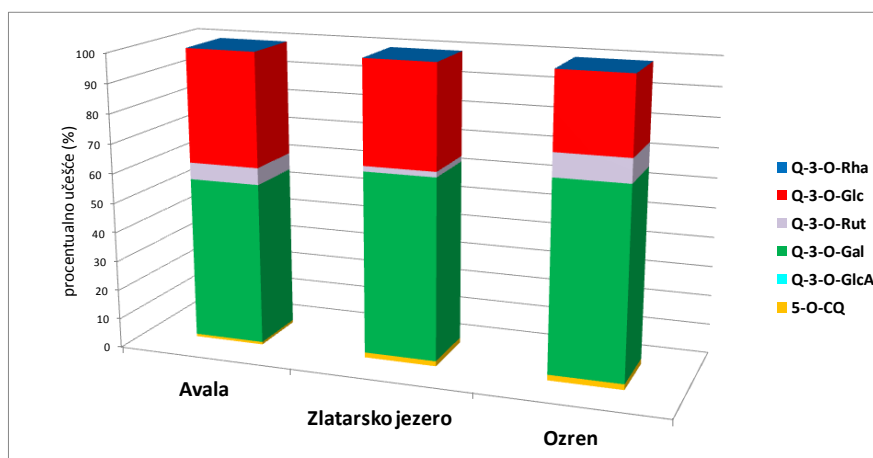
U odnosu na ova dva derivata kvercetina, sva ostala ispitivana jedinjenja se karakterišu znatno manjom količinom u uzorcima sa sva tri lokaliteta. Sadržaj kvercetin-rutinozida je najveći (mada i veoma varijabilan) u populaciji sa Avale ($48,52 \pm 50,38 \mu\text{g/g SvT}$), niži u populaciji sa Ozrena ($23,92 \pm 16,95 \mu\text{g/g SvT}$), a najniži u populaciji sa Zlatarskog jezera ($10,19 \pm 11,91 \mu\text{g/g SvT}$). Neohlorogena kiselina je najzastupljenija u ekstraktima plodova jedinki iz populacije sa Zlatarskog jezera ($9,6 \pm 9,48 \mu\text{g/g SvT}$), niže vrednosti su detektovane u populaciji sa Avale ($7,39 \pm 6,88 \mu\text{g/g SvT}$), a najniže u populaciji sa Ozrena ($5,76 \pm 8,66 \mu\text{g/g SvT}$).

Rezultati pokazuju da je kvercetin-rutinozid prisutan u vrlo malim količinama u sve tri ispitivane populacije, (Avala $0,14 \pm 0,13 \mu\text{g/g SvT}$; Ozren $0,06 \pm 0,1 \mu\text{g/g SvT}$; Zlatarsko jezero $0,04 \pm 0,05 \mu\text{g/g SvT}$), dok je kvercetin-glukuronid detektovan samo u uzorcima sa Ozrena, ali u količinama koje nisu dovoljne za kvantifikaciju.





Slika 53. Sadržaj (μg) kvercetin-3-*O*-galaktozida (Q-3-*O*-Gal), kvercetin-3-*O*-glukozida (Q-3-*O*-Glc), kvercetin-3-*O*-rutinozida (Q-3-*O*-Rut), neohlorogene kiseline (5-*O*-CQ), kvercetin-3-*O*-ramnozida (Q-3-*O*-Rha) i kvercetin-3-*O*-glukuronida (Q-3-*O*-GlcA) u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka belog gloga (*C. monogyna*) sa Avale, Zlatarskog jezera i Ozrena

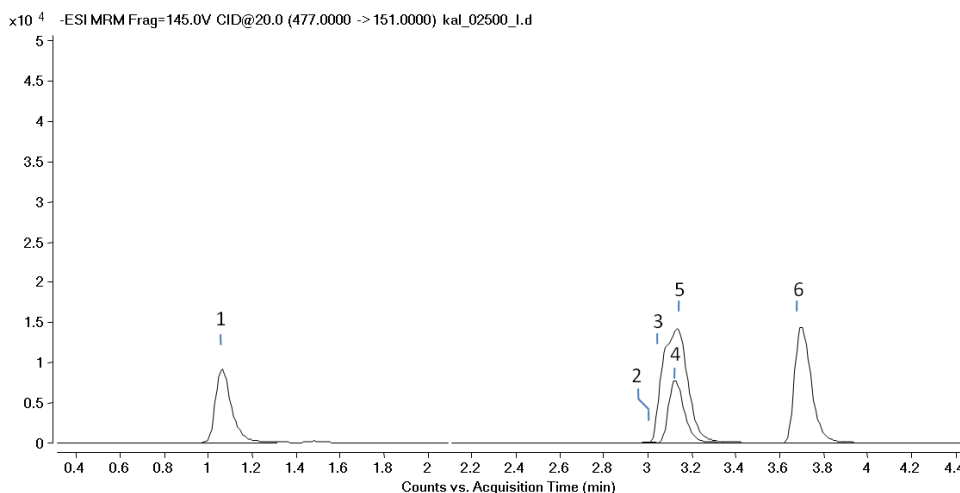


Slika 54. Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja šest fenolnih jedinjenja u uzorcima iz tri populacije *C. monogyna*

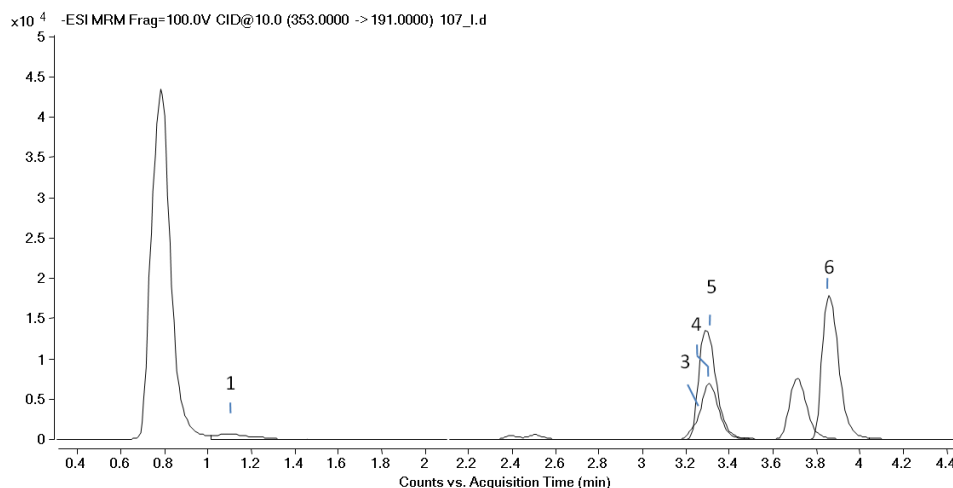
Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja svih analiziranih jedinjenja u plodovima *C. monogyna* je relativno sličan među analiziranim populacijama (Slika 54). Razlike koje se mogu uočiti između uzoraka iz populacija sa Avale i Ozrena su povećavanje procentualnog učešća kvercetin-galaktozida, a smanjenje procentualnog učešća glukozida, kao i značajno manje učešće kvercetin-rutinozida u uzorcima sa Zlatarskog jezera.

4.3.3. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *Prunus spinosa* u odnosu na lokalitet

Kvalitativna analiza odabranih fenolnih jedinjenja u uzorcima vrste *P. spinosa* pokazala je da samo kvercetin-3-*O*-glukuronid nije detektiovan, dok su sva ostala ispitivana jedinjenja prisutna. Hromatograf za standardne rastvore i reprezentativni hromatogram metanolnih ekstrakta plodova trnjine prikazani su na slikama 55a i 55b).



Slika 55a. Hromatogram za standardne rastvore šest ispitivanih jedinjenja (u koncentraciji 2,5 µg/mL): (1) 5-*O*- CQ 1,06 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 3,01 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,08 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,12 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,13 min; (6) Q-3-*O*-Rha 3,69 min.

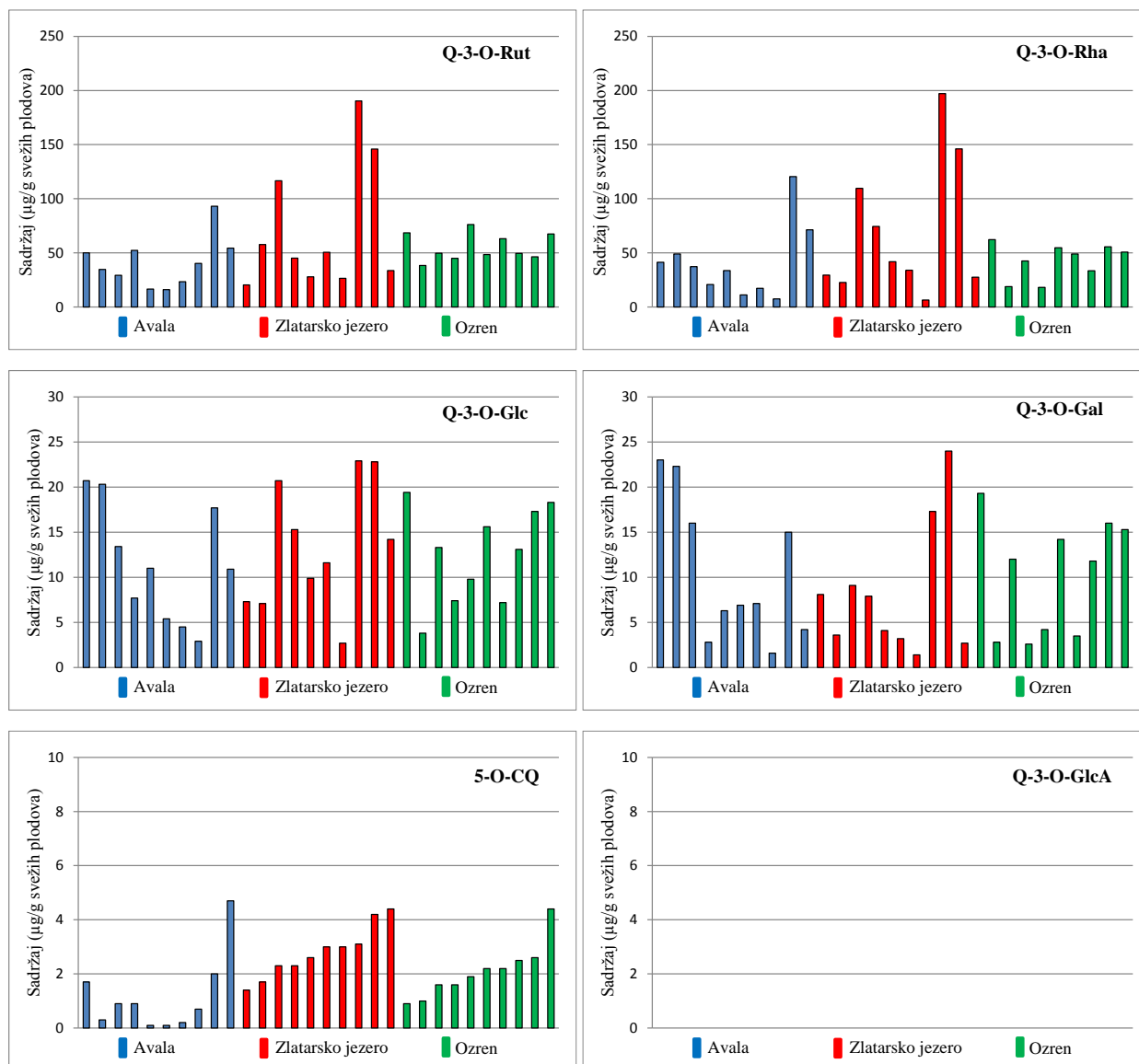


Slika 55b. Reprezentativni hromatogram ekstrakta plodova *P. spinosa* (uzorak br. 107; 100,8 mg svežeg uzorka/mL 70% MeOH): (1) 5-*O*- CQ 1,10 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,28 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,29 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,32 min; (6) Q-3-*O*-Rha 3,86 min.

Kvantitativna analiza ekstrakata plodova vrste *P. spinosa* (Slika 56) pokazuje da se od svih ispitivanih jedinjenja po količini izdvajaju kvercetin-rutinozid [Q-3-*O*-Rut] ($55,92 \pm 37,99 \mu\text{g/g SvT}$) i kvercetin-ramnozid [Q-3-*O*-Rha] ($51,20 \pm 42,56 \mu\text{g/g SvT}$). Najveće vrednosti kvercetin-rutinozida detektovane su u populaciji sa Zlatarskog jezera ($71,5 \pm 58,68 \mu\text{g/g SvT}$), za njima sledi populacija sa Ozrena ($55,25 \pm 12,49 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanje su u populaciji sa Avale ($41 \pm 23,12 \mu\text{g/g SvT}$). Najveća, istovremeno i najvarijabilnija, količina kvercetin-ramnozida u ekstraktima plodova trnjine detektovana je u populaciji sa Zlatarskog jezera ($68,96 \pm 62,65 \mu\text{g/g SvT}$), za njom sledi populacija sa Ozrena ($43,65 \pm 15,35 \mu\text{g/g SvT}$), a najniže vrednosti su u populaciji sa Avale ($40,99 \pm 33,88 \mu\text{g/g SvT}$).

Rezultati pokazuju da su slične količine detektovane za kvercetin-glukozid [Q-3-*O*-Glc] ($12,47 \pm 6,14 \mu\text{g/g SvT}$) i kvercetin-galaktozoid [Q-3-*O*-Gal] ($9,61 \pm 7,02 \mu\text{g/g SvT}$). Najveća količina kvercetin-glukozida detektovana je u populaciji sa Zlatarskog jezera ($13,45 \pm 7,02 \mu\text{g/g SvT}$), nešto manja u populaciji sa Ozrena ($12,52 \pm 5,29 \mu\text{g/g SvT}$) i najmanja u populaciji sa Avale ($11,45 \pm 6,49 \mu\text{g/g SvT}$). U pogledu kvercetin-galaktozida veoma slična količina detektovana je u populaciji sa Avale ($10,52 \pm 7,93 \mu\text{g/g SvT}$) i sa Ozrena ($10,17 \pm 6,3 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanja u populaciji sa Zlatarskog jezera ($8,14 \pm 7,25 \mu\text{g/g SvT}$). Detektovane količine neohlorogene kiseline su bile male u sve tri ispitivane populacije (Zlatarsko jezero $1,81 \pm 1,44 \mu\text{g/g SvT}$; Ozren

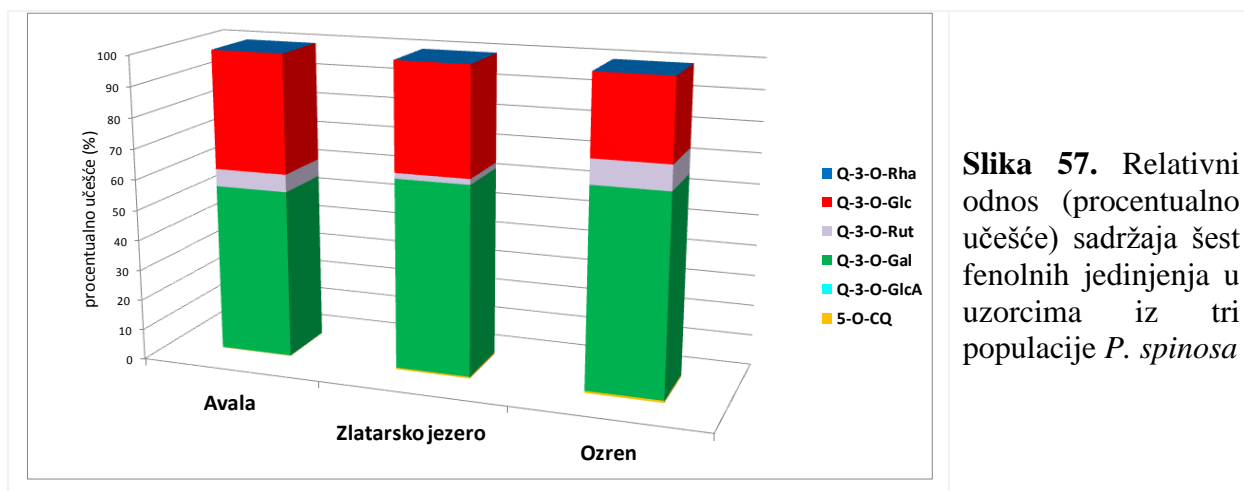
$0,95 \pm 0,44 \mu\text{g/g SvT}$; Avala $0,94 \pm 0,66 \mu\text{g/g SvT}$). Kvercetin-glukuronid nije detektovan u ekstraktima plodova trnjine.



Slika 56. Sadržaj (μg) kvercetin-3-*O*-rutinozida (Q-3-*O*-Rut), kvercetin-3-*O*-ramnozida (Q-3-*O*-Rha), kvercetin-3-*O*-glukozida (Q-3-*O*-Glc), kvercetin-3-*O*-galaktozida (Q-3-*O*-Gal), neohlorogene kiseline (5-*O*-CQ) i kvercetin-3-*O*-glukuronida (Q-3-*O*-GlcA) u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka trnjine (*P. spinosa*) sa Avale, Zlatarskog jezera i Ozrena

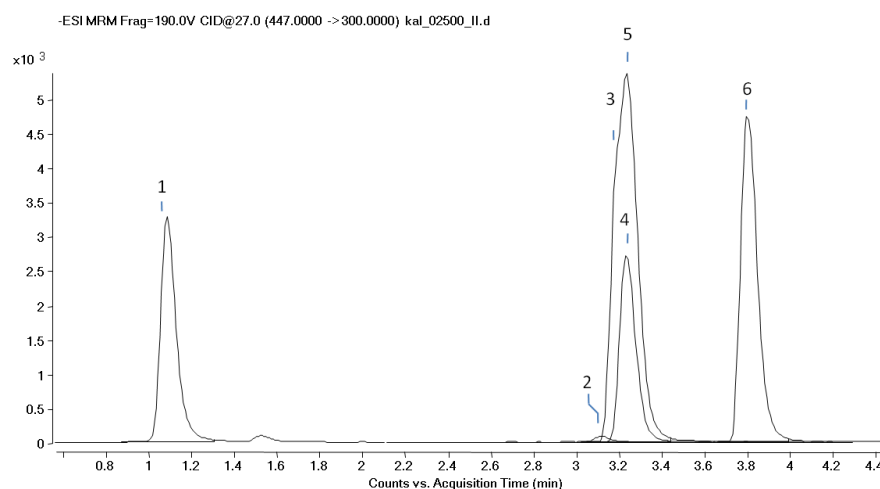
Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja svih analiziranih jedinjenja u plodovima *P. spinosa* je relativno sličan među analiziranim populacijama (Slika 57). Kao i kod vtste *C. monogyna*, razlike koje se mogu uočiti između uzoraka sa Avale i Ozrena su povećavanje procentalnog

učešća kvercetin- galaktozida, a smanjenje procentualnog učešća glukozida, kao i značajno manje učešće kvercetin-rutinozida u uzorcima sa Zlatarskog jezera.

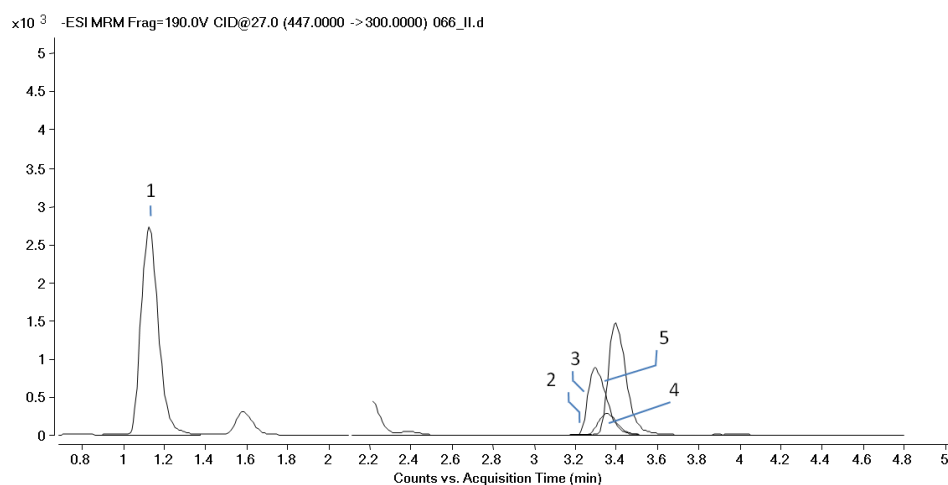


4.3.4. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *Cornus mas* u odnosu na lokalitet

Kvalitativna analiza odabranih fenolnih jedinjenja dokazala je prisustvo pet ispitivanih jedinjenja u svim uzorcima dreva, dok je kvercetin-3-*O*-ramnozid detektovan u 20 (od ukupno 30) uzoraka. Hromatograf za standardne rastvore i reprezentativni hromatogram metanolnih ekstrakta plodova *C. mas* prikazani su na slikama 58a i 58b.



Slika 58a. Hromatogram za standardne rastvore šest ispitivanih jedinjenja (u koncentraciji 2,5 µg/mL): (1) 5-*O*- CQ 1,08 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 3,12 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,19 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,23 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,25 min; (6) Q-3-*O*-Rha 3,80 min.



Slika 58b. Reprezentativni hromatogram ekstrakta plodova *C. mas* (uzorak br. 066; 100,1 mg svežeg uzorka/mL 70% MeOH): (1) 5-*O*- CQ 1,13 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 3,20 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,28 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,35 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,36 min.

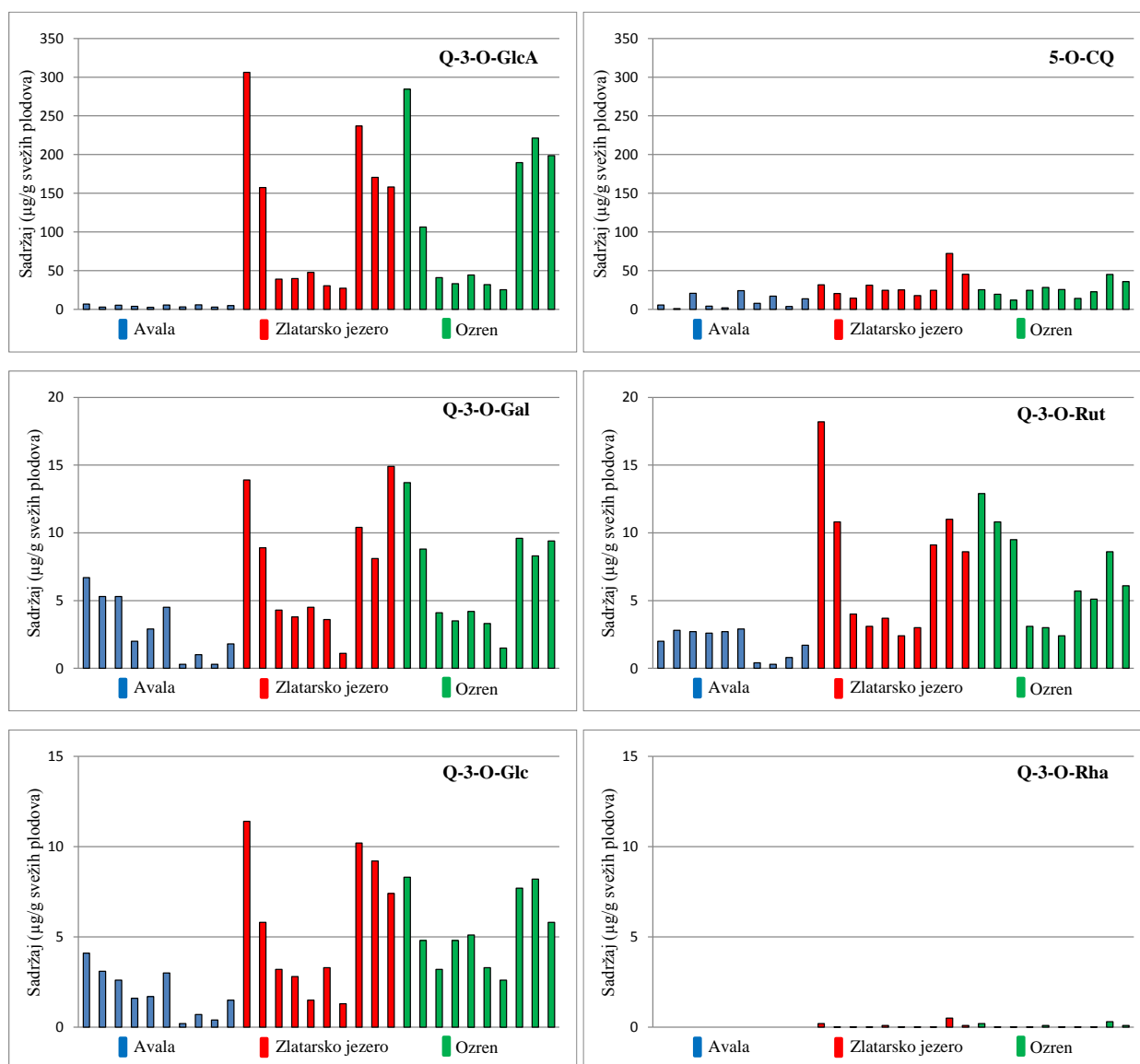
Kvantitativna analiza odabranih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova drena pokazala je da je kvercetin-galaktozid prisutan u najvećoj količini ($81,14 \pm 94,95 \mu\text{g/g SvT}$) (Slika 59). Velika varijabilnost u količini ovog jedinjenja rezultat je razlika koje postoje između istraživanih populacija, kao i unutar samih populacija. Najveće vrednosti kvercetin-glukuronida [Q-3-*O*-GlcA] detektovane su u plodovima jedinki koje pripadaju populaciji sa Zlatarskog jezera ($121,35 \pm 99,18 \mu\text{g/g SvT}$). Nešto manje vrednosti su zabeležene u populaciji sa Ozrena ($117,61 \pm 96,98 \mu\text{g/g SvT}$), dok su vrednosti u populaciji sa Avale višestruko manje ($4,45 \pm 1,5 \mu\text{g/g SvT}$).

Neohlorogena kiselina ($22,05 \pm 14,85 \mu\text{g/g SvT}$) detektovana je u svim analiziranim uzorcima. Količina i ovog jedinjenja je najveća je u uzorcima sa Zlatarskog jezera ($81,14 \pm 94,95 \mu\text{g/g SvT}$), za njom slede uzorci sa Ozrena ($25,34 \pm 9,73 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanja u uzorcima sa Avale ($9,98 \pm 8,33 \mu\text{g/g SvT}$).

Veoma slične vrednosti detektovane su za kvercetin-galaktozoid [Q-3-*O*-Gal] ($5,67 \pm 4,09 \mu\text{g/g SvT}$), kvercetin-rutinozid [Q-3-*O*-Rut] ($5,33 \pm 4,31 \mu\text{g/g SvT}$) i kvercetin-glukozid [Q-3-*O*-Glc] ($4,29 \pm 3,03 \mu\text{g/g SvT}$). Kvercetin-galaktozida ima najviše u uzorcima sa Zlatarskog jezera ($7,35 \pm 4,66 \mu\text{g/g SvT}$), slede uzorci sa Ozrena ($6,64 \pm 3,85 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanje u uzorcima sa Avale ($3,01 \pm 2,3 \mu\text{g/g SvT}$).) Utvrđene količine za kvercetin-rutinozid su veoma slične za sve tri ispitivana populacije (Zlatarsko jezero $7,39 \pm 5,09 \mu\text{g/g SvT}$; Ozren $6,72 \pm 3,59 \mu\text{g/g SvT}$; Avala

$5,33 \pm 4,31 \mu\text{g/g SvT}$). Količine kvercetin-glukozida su veoma slične u uzorcima sa Zlatarskog jezera ($5,61 \pm 3,73 \mu\text{g/g SvT}$) i Ozrena ($5,38 \pm 2,1 \mu\text{g/g SvT}$), dok su u uzorcima sa Avale detektovane manje količine ($1,89 \pm 1,28 \mu\text{g/g SvT}$).

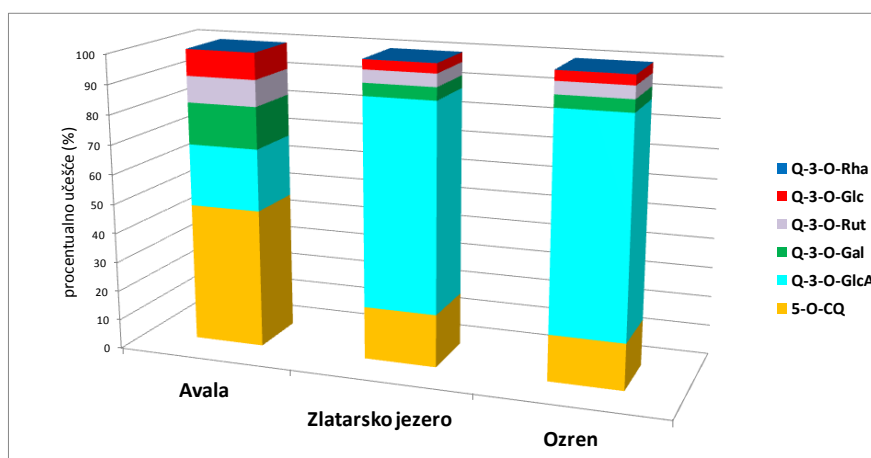
Kvantitativna analiza je pokazala da je kvercetin-ramnozid [Q-3-O-Rha] prisutan u ispitivanim uzorcima u veoma maloj količini ($0,05 \pm 0,11 \mu\text{g/g SvT}$). Ovo jedinjenje nije detektovano u uzorcima sa Avale, dok u nekim uzorcima sa Zlatarskog jezera i Ozrena njihova količina nije bila dovoljna za kvantifikaciju.



Slika 59. Sadržaj (μg) kvercetin-3-O-glukuronida (Q-3-O-GlcA), neohlorogene kiseline (5-O-CQ), kvercetin-3-O-galaktozida (Q-3-O-Gal), kvercetin-3-O-rutinozida (Q-3-O-Rut), kvercetin-3-

O-glukozida (Q-3-*O*-Glc) i kvercetin-3-*O*-ramnozida (Q-3-*O*-Rha) u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka dreva (*C. mas*) sa Avale, Zlatarskog jezera i Ozrena

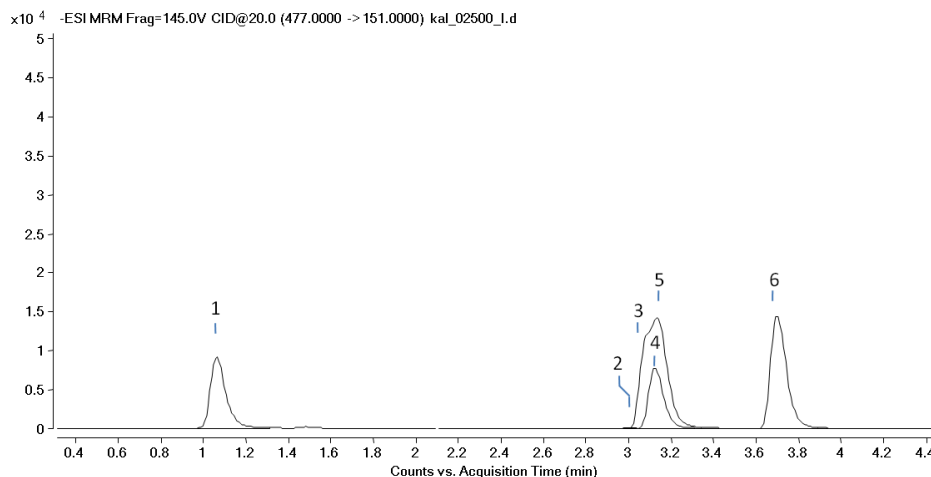
Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja svih analiziranih jedinjenja u plodovima *C. mas* pokazuje relativno velike razlike među analiziranim populacijama (Slika 60). Uzorci iz populacija sa Zlatarskog jezera i Ozrena su međusobno vrlo slični, dok je kod uzoraka sa Avale uočljivo povećanje procentalnog učešća neohlorogene kiseline i kvercetin-galaktozida, a značajno smanjenje učešća kvercetin-glukonorida.



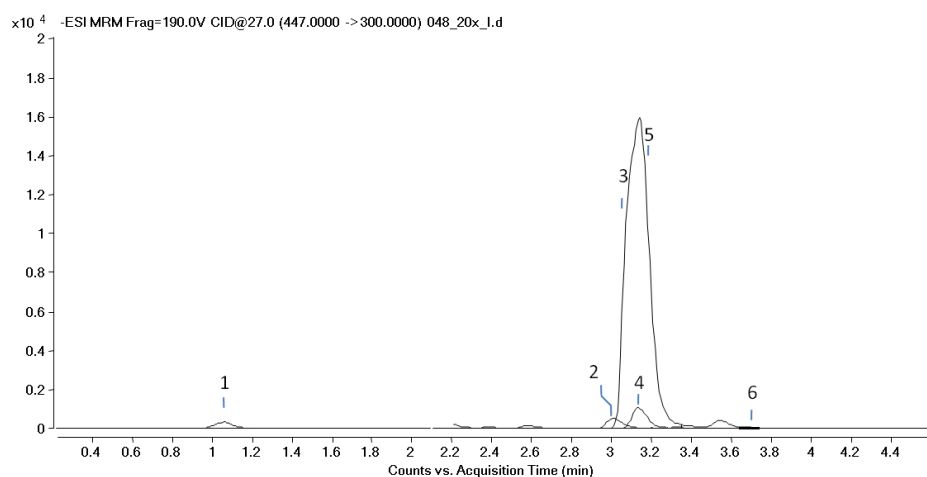
Slika 60. Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja šest fenolnih jedinjenja u uzorcima iz tri populacije *C. mas*

4.3.5. Sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *Cornus sanguinea* u odnosu na lokalitet

Kvalitativna analiza neohlorogene kiseline i pet derivata kvercetina dokazala je prisustvo ovih jedinjenja u svim uzorcima sviba. Hromatograf za standardne rastvore i reprezentativni hromatogram metanolnih ekstrakta plodova *C. sanguinea* prikazani su na slikama 61a i 61b.



Slika 61a. Hromatogram za standardne rastvore šest ispitivanih jedinjenja (u koncentraciji 2,5 µg/mL): (1) 5-*O*-CQ 1,06 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 3,01 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,08 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,12 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,13 min; (6) Q-3-*O*-Rha 3,69 min.

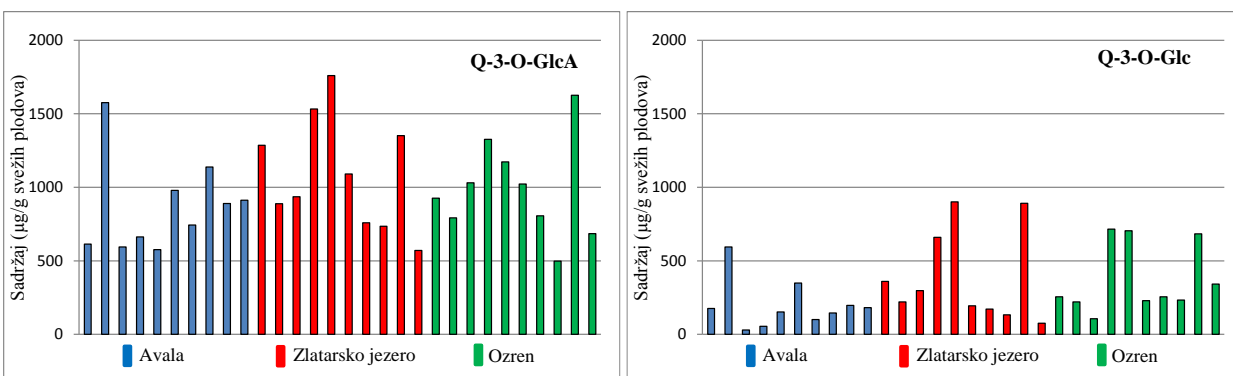


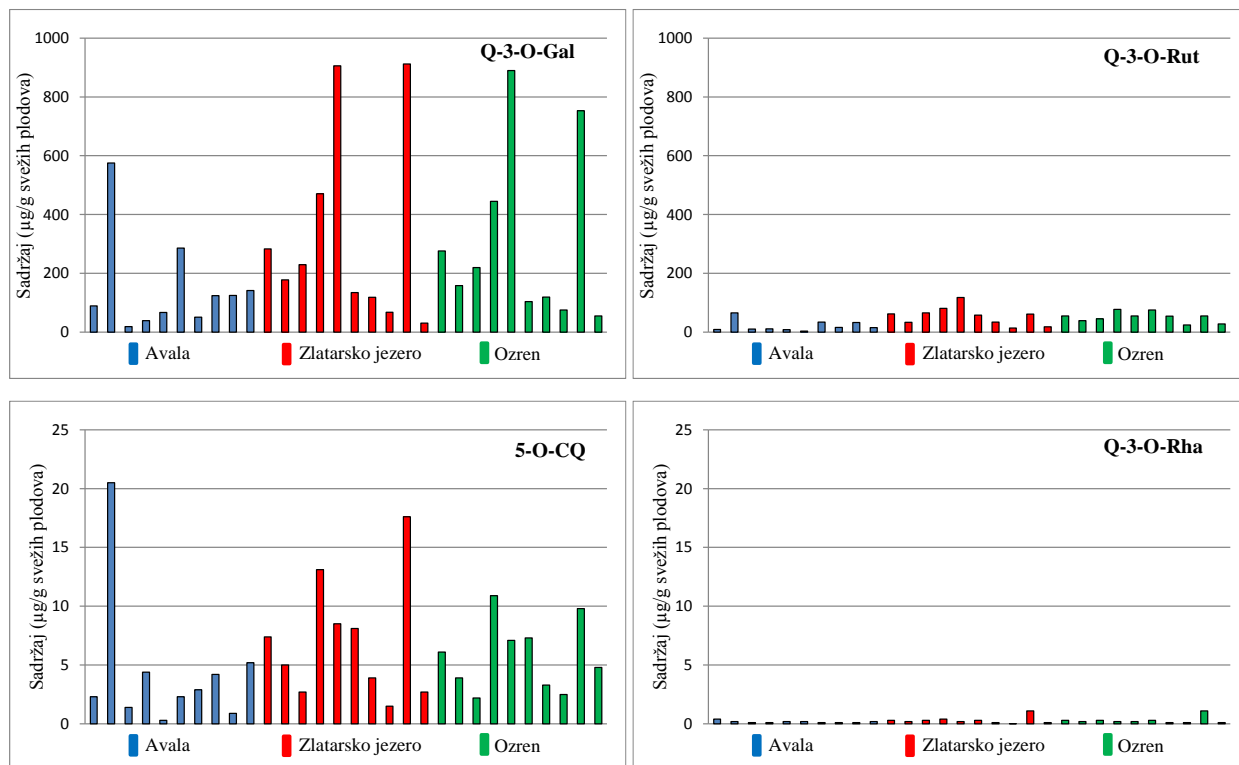
Slika 61b. Reprezentativni hromatogram ekstrakta plodova *C. sanguinea* (uzorak br. 048; 99,0 mg svežeg uzorka/mL 70% MeOH, rastvoreno 20x u mobilnoj fazi (5 mg/mL)): (1) 5-*O*-CQ 1,06 min; (2) Q-3-*O*-GlcA 3,01 min; (3) Q-3-*O*-Gal 3,11 min; (4) Q-3-*O*-Rut 3,13 min; (5) Q-3-*O*-Glc 3,17 min; (6) Q-3-*O*-Rha 3,71 min.

Kvantitativna analiza je pokazada da je u ekstraktima plodova sviba (Slika 62) kvercetin-glukuronid prisutan u najvećoj količini u odnosu na ostala istraživana fenolna jedinjenja ($989,5 \pm 342,62$ µg/g SvT). Visoke vrednosti kvercetin-glukuronida detektovane su u sve tri proučavane populacije (Zlatarsko jezero $1090,82 \pm 383,02$ µg/g SvT; Ozren $988,39 \pm 327,31$ µg/g SvT; Avala $868,29 \pm 311,21$ µg/g SvT).

U ispitivanim uzorcima utvrđene su slične količine kvercetin-glukozida ($320,81 \pm 251,43 \mu\text{g/g SvT}$) i kvercetin-galaktozida ($264,77 \pm 275,02 \mu\text{g/g SvT}$). Najveća količina kvercetin-glukozida detektovana je u plodovima jedinki iz populacije sa Zlatarskog jezera ($390,27 \pm 311,62 \mu\text{g/g SvT}$), nešto manja u populaciji sa Ozrena ($374,24 \pm 232,71 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanja u populaciji sa Avale ($197,91 \pm 164,7 \mu\text{g/g SvT}$). Najveća količina kvercetin-galaktozida detektovana je u plodovima jedinki iz populacije sa Zlatarskog jezera ($333,08 \pm 327,71 \mu\text{g/g SvT}$), nešto manja u populaciji sa Ozrena ($309,52 \pm 294,72 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanja u populaciji sa Avale ($151,71 \pm 166,87 \mu\text{g/g SvT}$).

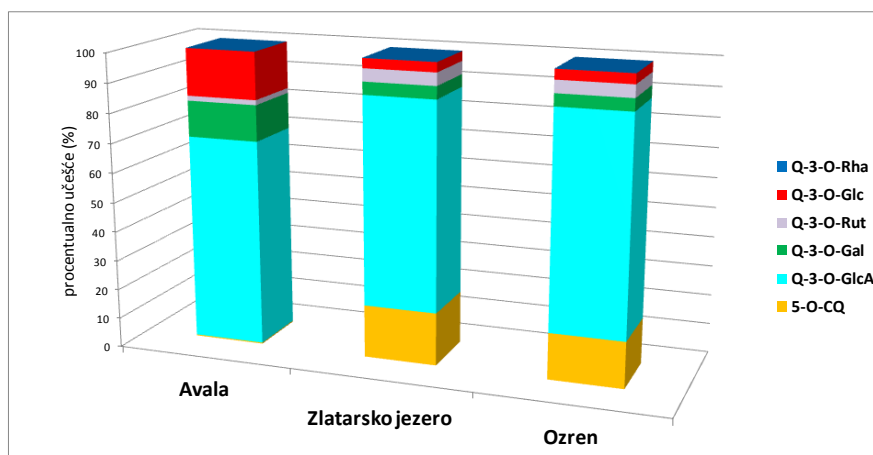
Količina kvercetin-rutinozida u ukupnom uzorku iznosila je $42,12 \pm 27,33 \mu\text{g/g SvT}$, pri čemu su najveće vrednosti detektovane u uzorcima sa Zlatarskog jezera ($54,56 \pm 31,25 \mu\text{g/g SvT}$), nešto manje u uzorcima sa Ozrena ($51,07 \pm 17,53 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanje u uzorcima na Avali ($20,72 \pm 18,77 \mu\text{g/g SvT}$). I neohlorogena kiselina ($5,76 \pm 4,76 \mu\text{g/g SvT}$) je prisutna u svim analiziranim uzorcima. Najviše vrednosti detektovane u uzorcima sa Zlatarskog jezera ($7,05 \pm 5,1 \mu\text{g/g SvT}$), nešto manje u uzorcima sa Ozrena ($5,79 \pm 3 \mu\text{g/g SvT}$), a najmanje u uzorcima na Avali ($4,44 \pm 5,86 \mu\text{g/g SvT}$). Kvercetin-ramnozid je bio najmanje zastupljen u zbirnom uzorku sviba ($0,25 \pm 0,25 \mu\text{g/g SvT}$). Male količine ovog jedinjenja detektovane su u sve tri proučavane populacije (Zlatarsko jezero $0,2 \pm 0,31 \mu\text{g/g SvT}$; Ozren $0,29 \pm 0,3 \mu\text{g/g SvT}$; Avala $0,17 \pm 0,09 \mu\text{g/g SvT}$).





Slika 62. Sadržaj (μg) kvercetin-3-*O*-glukuronida (Q-3-*O*-GlcA), kvercetin-3-*O*-glukozida (Q-3-*O*-Glc), kvercetin-3-*O*-galaktozida (Q-3-*O*-Gal), kvercetin-3-*O*-rutinozida (Q-3-*O*-Rut), neohlorogene kiseline (5-*O*-CQ) i kvercetin-3-*O*-ramnozida (Q-3-*O*-Rha) u metanolnim ekstraktima svežih plodova (g) pojedinačnih uzoraka sviba (*C. sanguinea*) sa Avale, Zlatarskog jezera i Ozrena

Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja svih analiziranih jedinjenja u plodovima *C. mas* pokazuje da je u sve tri populacije kvercetin-glukonorid dominantno prisutan, ali se mogu uočiti i izvesne razlike među analiziranim populacijama (Sika 63). Uzorci iz populacija sa Zlatarskog jezera i Ozrena su međusobno vrlo slični, dok je u odnosu na njih kod uzoraka sa Avale uočljivo povećanje procentualnog učešća i kvercetin-galaktozida i glukozida, a značajno smanjenje učešća neohlorogene kiseline.



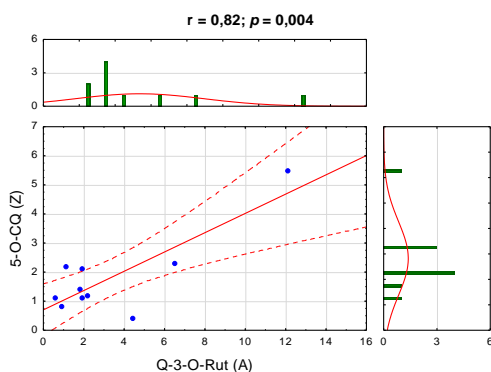
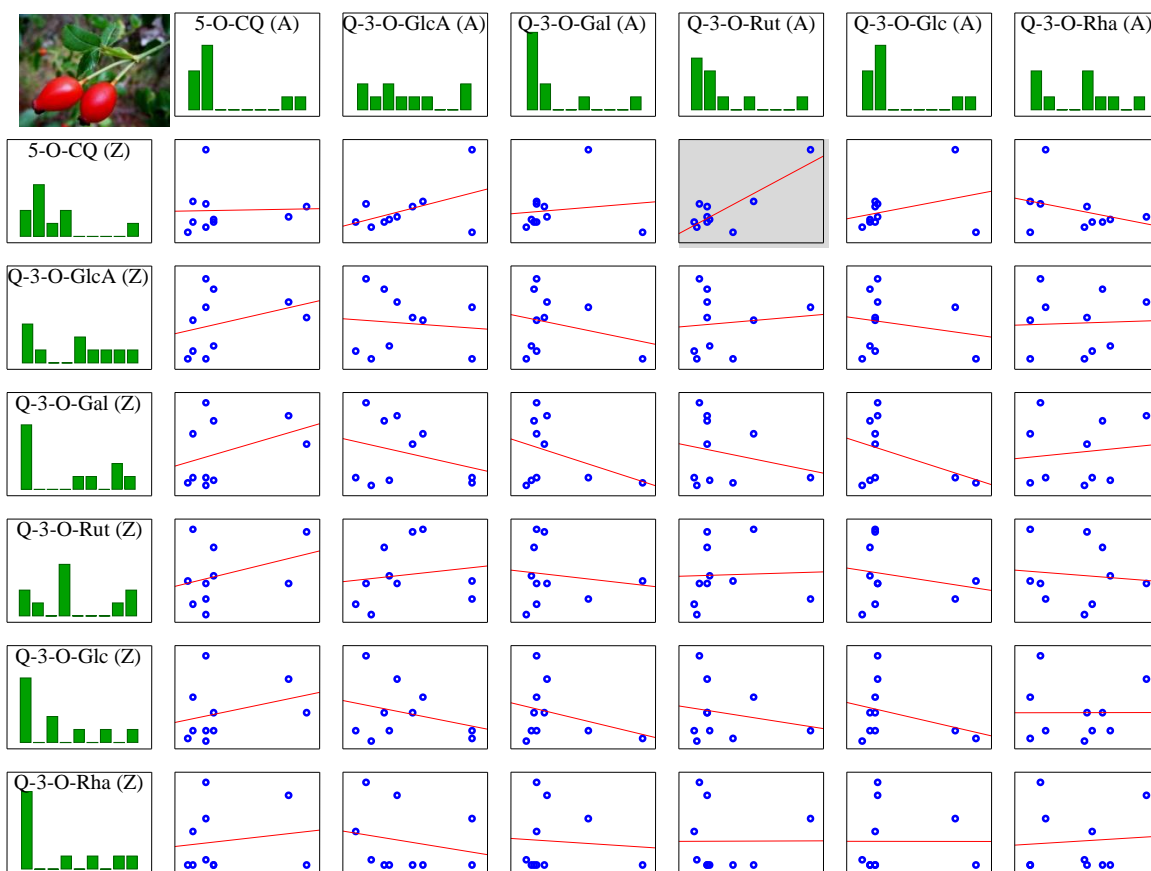
Slika 63. Relativni odnos (procentualno učešće) sadržaja šest fenolnih jedinjenja u uzorcima iz tri populacije *C. mas*

4.4. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

Sastav i sadržaj sekundarnih metabolita u jedinkama koje rastu i razvijaju se u okviru prirodnih populacija zavisi od brojnih faktora, donekle od unutrašnjih, ali pre svega od brojnih sredinskih faktora koji prostorno i vremenski mogu da variraju u velikom stepenu. Iako su jedinke sa kojih su uzimani uzorci za analizu pripadale geografski udaljenim populacijama, koristeći podatke o kvantitativnom sadržaju za sva analizirana jedinjenja napravljena je korelaciona matrica (izračunat Pearson-ov koeficijent linearne korelacije), kako bi se utvrdilo koja jedinjenja su najviše korelisana i da li postoje razlike u stepenu zavisnosti u odnosu na populaciju i vrstu.

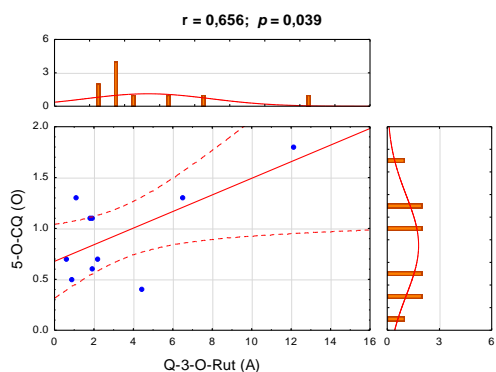
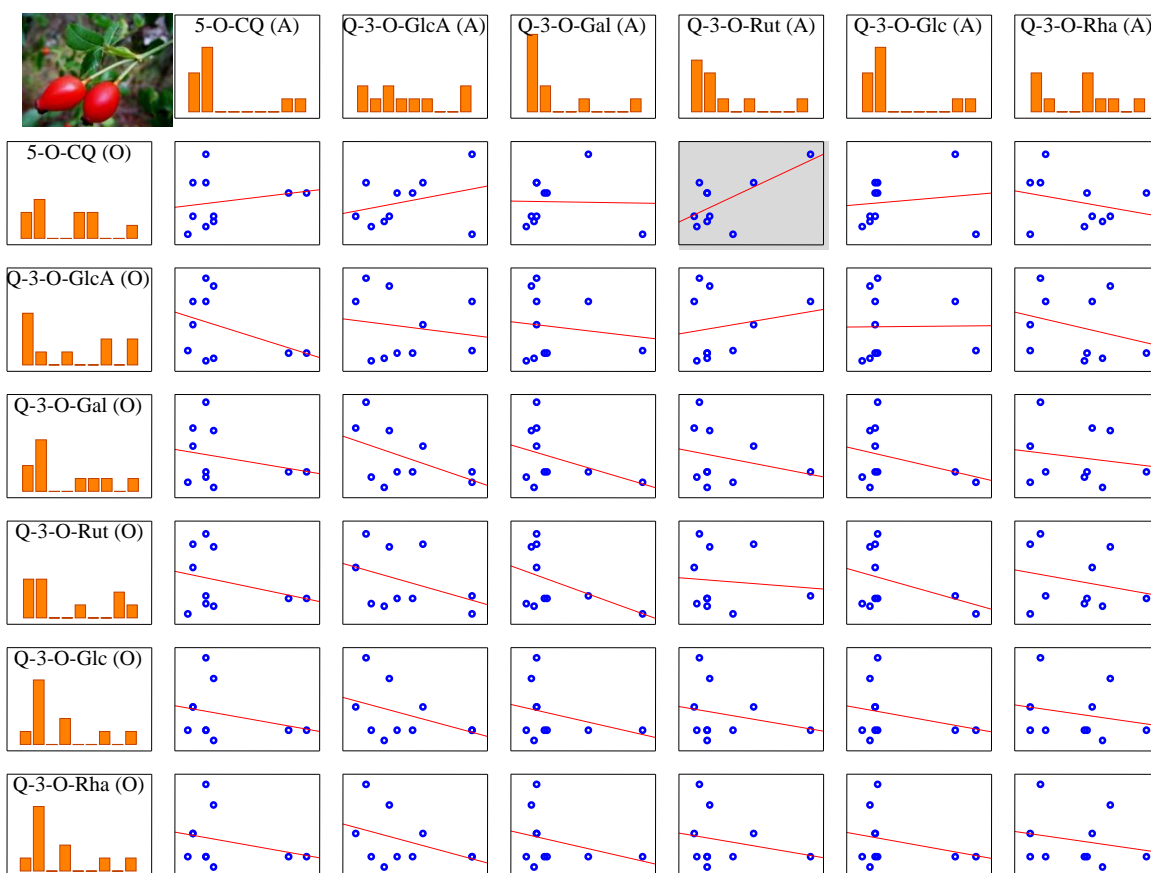
4.4.1. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *R. canina* u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci

Rezultati korelacione analize sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka sa Avale i Zlatarskog jezera pokazuju da statistički značajna korelacija ($r = 0,82$; $p < 0,05$) postoji samo između sadržaja kvercetin-3-*O*-rutinozida (Q-3-*O*-Rut) kod uzoraka sa Avale i neohlorogene kiseline (5-*O*-CQ) kod uzoraka sa Zlatarskog jezera (slika 64).



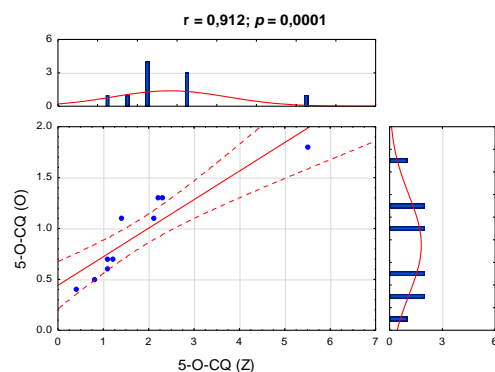
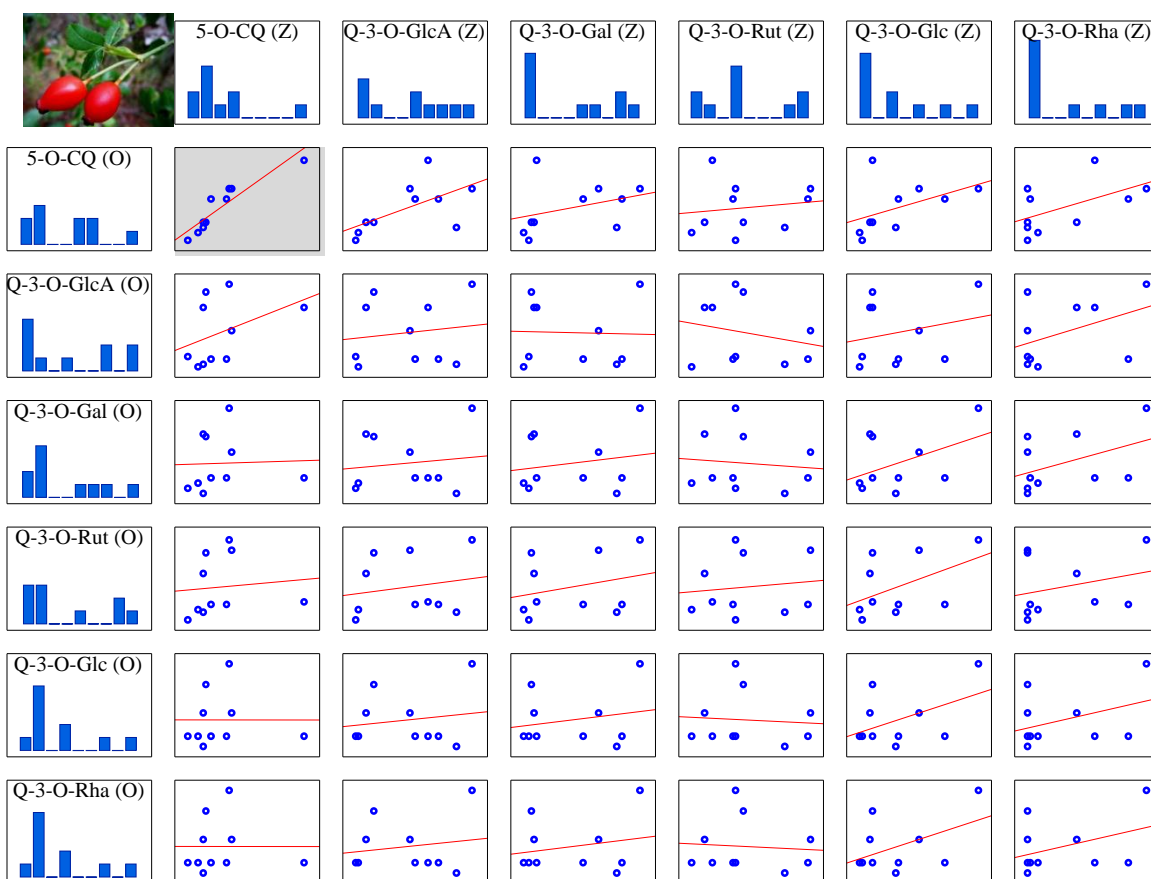
Slika 64. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *R. canina* sa Avale (A) i Zlatarskog jezera (Z); za *signifikantne korelacije* ($p < 0,05$) prikazan je *Pirsonov koeficijent linearne korelacije* (r)

Korelaciona analiza uzoraka sa Avale i Ozrena (slika 65) pokazuje da postoji statistički značajna korelacija ($r = 0,66$) između sadržaja Q-3-O-Rut (Avala) i 5-O-CQ (Ozren).



Slika 65. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *R. canina* sa Avale (A) i Ozrena (O); za signifikantne korelacije ($p < 0,05$) prikazan je Pirsonov koeficijent linearne korelacije (r)

Korelaciona analiza uzoraka sa Zlatarskog jezera i Ozrena (Slika 66) pokazuje da statistički značajna korelacija ($r = 0,91$) postoji samo za sadržaj neohlorogene kiseline (5-O-CQ) u plodovima jedinki iz obe populacije.

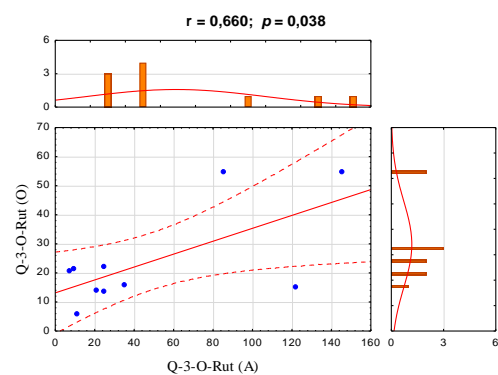
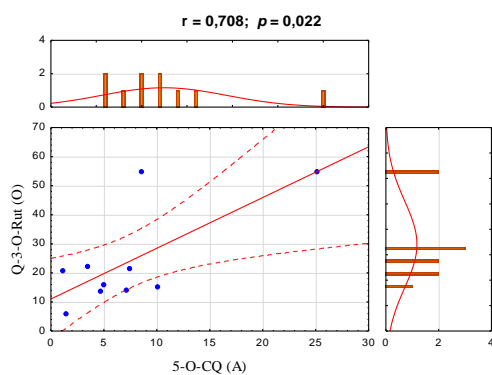
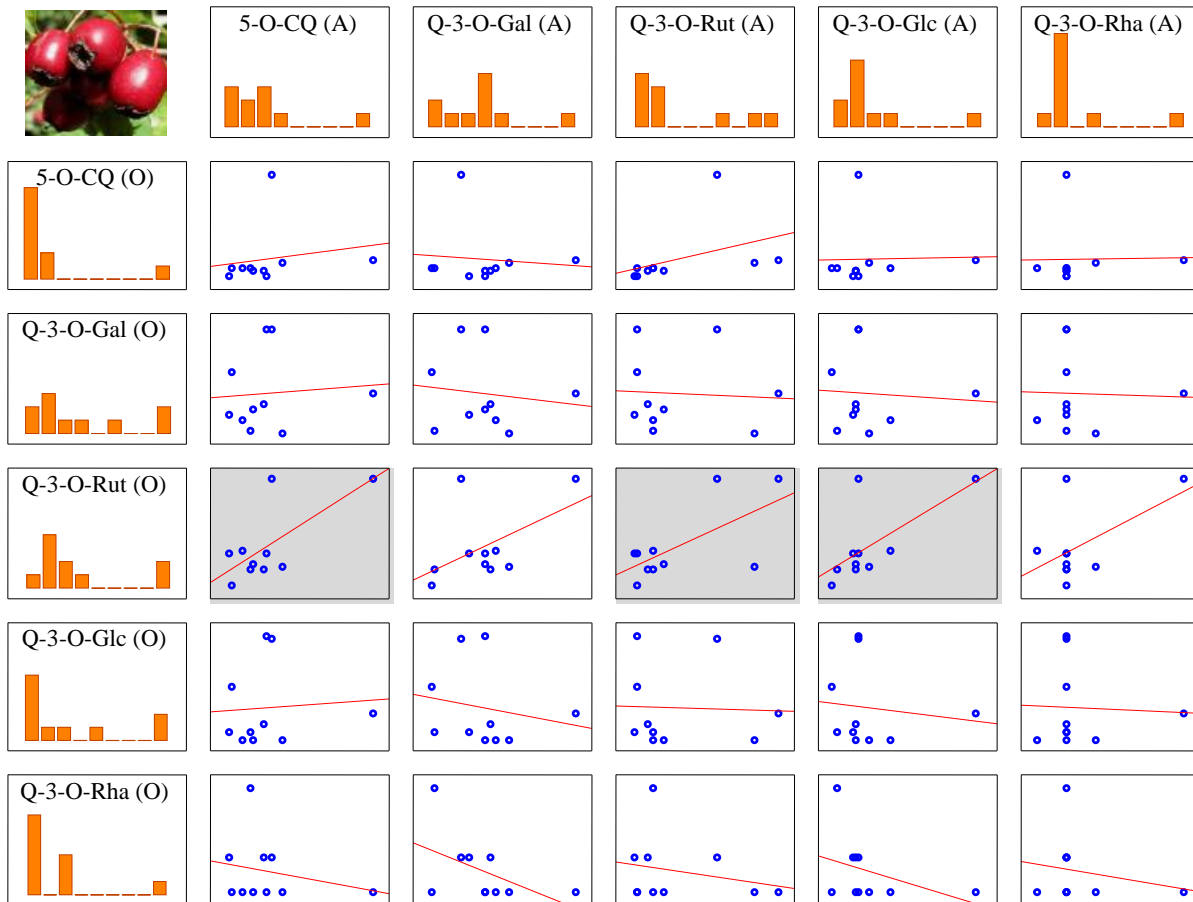


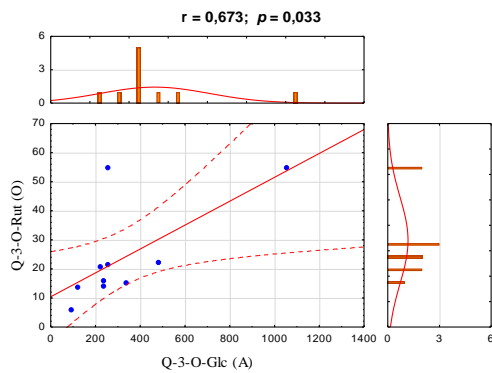
Slika 66. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *R. canina* sa Zlatarskog jezera (Z) i Ozrena (O); za *signifikantne* korelacije ($p < 0,05$) prikazan je *Pirsonov* koeficijent *linearne* korelacije (r)

4.4.2. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *C. monogyna* u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci

Rezultati korelacione analize sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka sa Avale i Zlatarskog jezera pokazuju da su koeficijenti korelacije prilično niski i da ne postoji statistički značajna korelacija između ispitivanih jedinjenja. Korelaciona analiza uzoraka sa Avale i Ozrena (Slika 67)

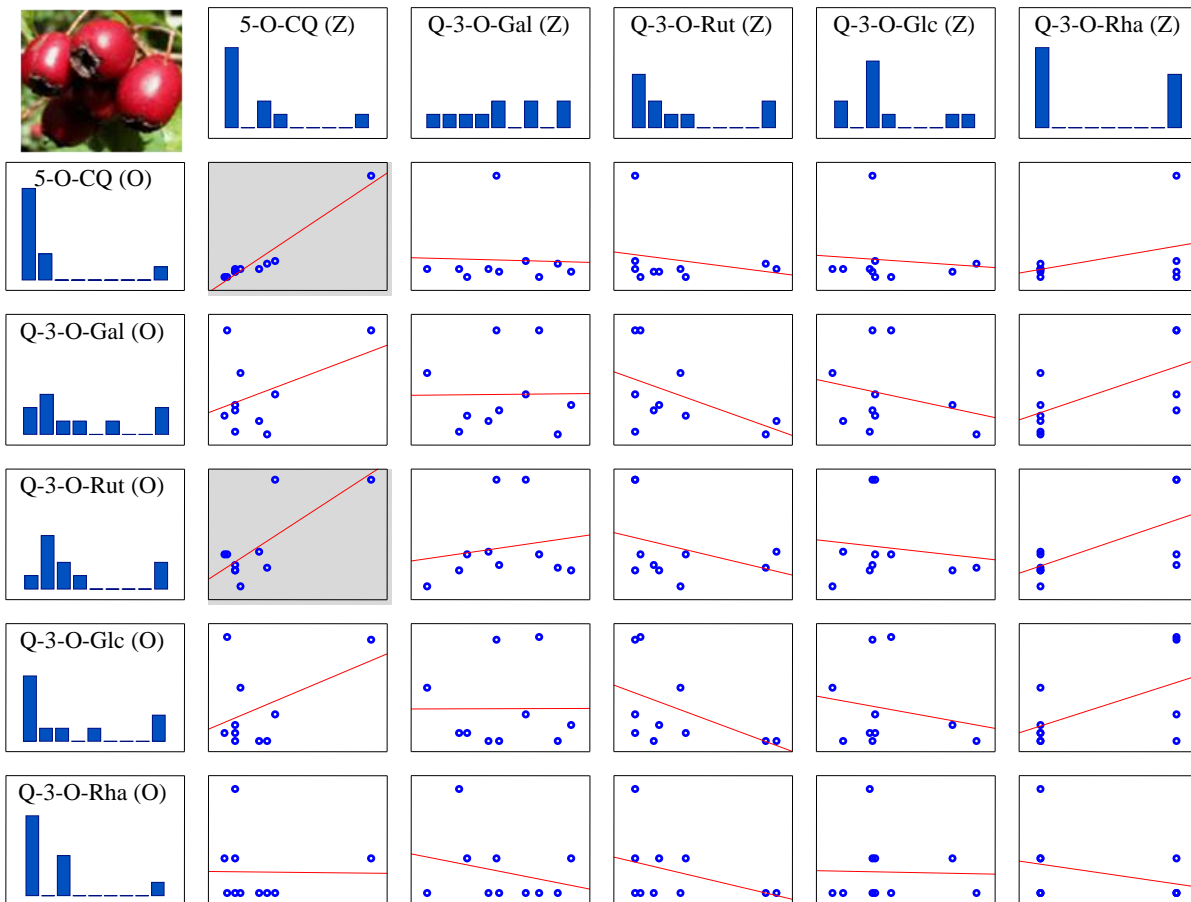
pokazuje da postoji više statistički značajnih korelacija: između sadržaja Q-3-O-Rut u uzorcima sa Ozrena i 5-O-CQ u uzorcima sa Avale ($r = 0,71$), Q-3-O-Rut u uzorcima iz obe populacije ($r = 0,66$), kao i Q-3-O-Rut (O) i Q-3-O-Glc (A) ($r = 0,67$).

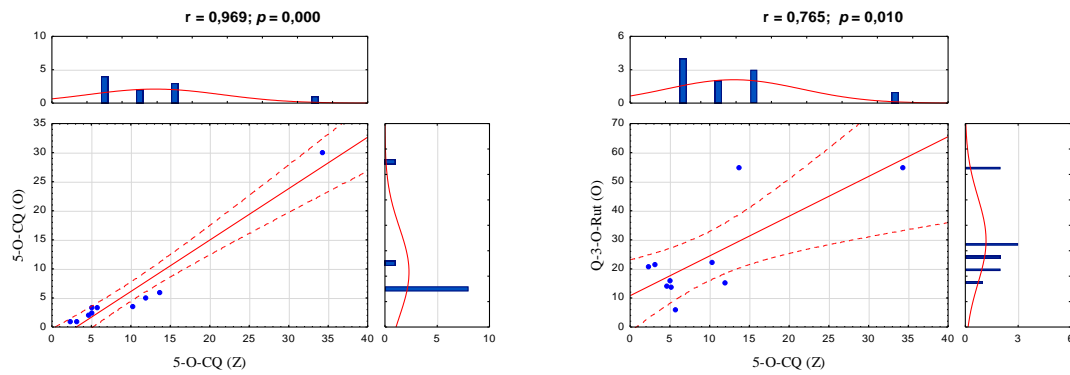




Slika 67. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *C. monogyna* sa Avale (A) i Ozrena (O); za *signifikantne korelacije* ($p < 0,05$) prikazan je *Pirsonov koeficijent linearne korelacije* (r)

Korelaciona analiza uzoraka sa Zlatarskog jezera i Ozrena (Slika 68) pokazuje da statistički značajna korelacija postoji za sadržaj 5-O-CQ u plodovima jedinki iz obe populacije ($r = 0,97$), kao i za 5-O-CQ u uzorcima sa Zlatarskog jezera i Q-3-O-Rut u uzorcima sa Ozrena ($r = 0,77$).

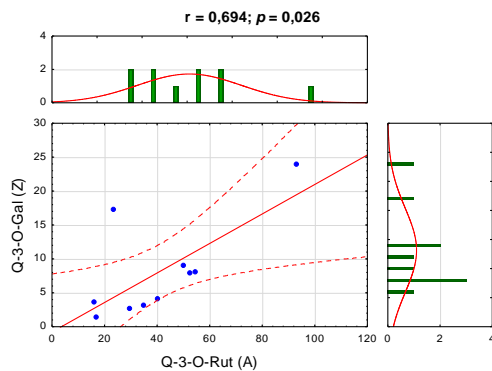




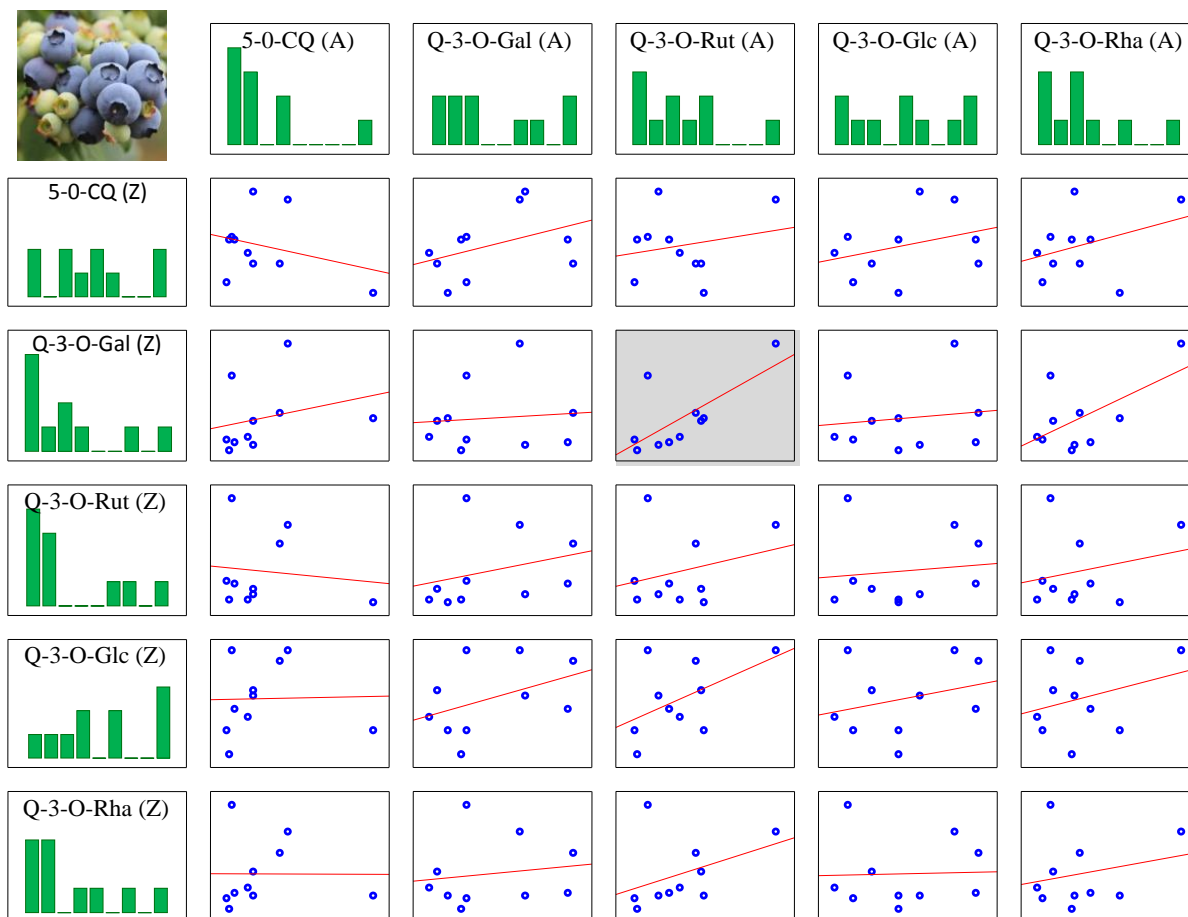
Slika 68. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *C. monogyna* sa Zlatarskog jezera (Z) i Ozrena (O); za *signifikantne korelacije* ($p < 0,05$) prikazan je *Pirsonov koeficijent linearne korelacije* (r)

4.4.3. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *P. spinosa* u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci

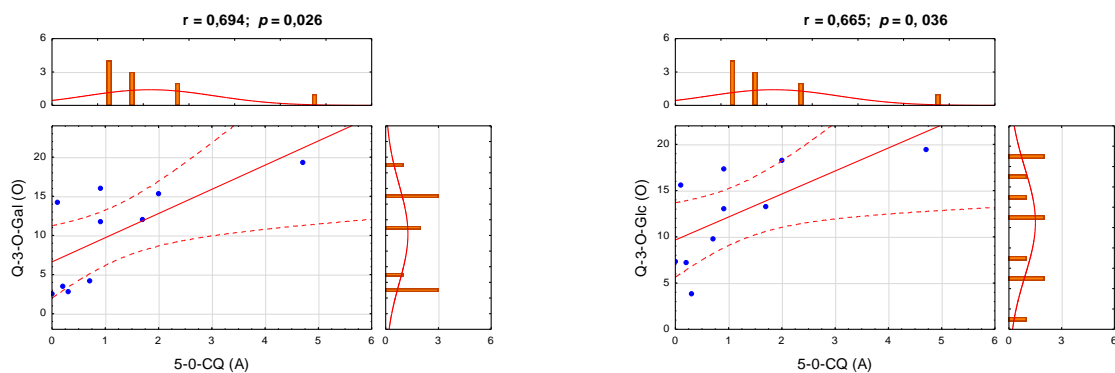
Rezultati korelacione analize uzoraka sa Avale i Zlatarskog jezera (Slika 69) pokazuju da statistički značajna korelacija ($r = 0,69$) postoji samo između sadržaja Q-3-O-Rut (A) i Q-3-O-Gal (Z).

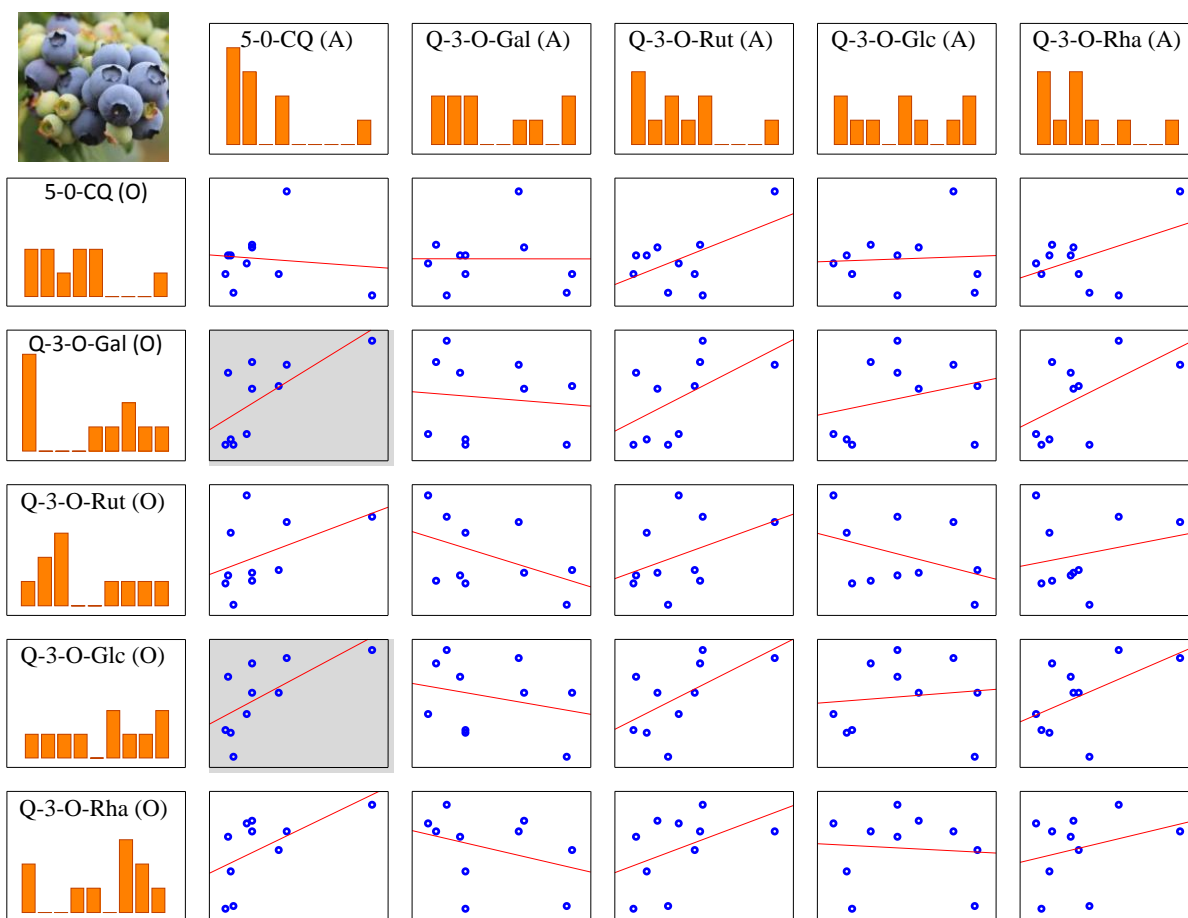


Slika 69. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *P. spinosa* sa Avale (A) i Zlatarskog jezera (Z); za *signifikantne korelacije* ($p < 0,05$) prikazan je *Pirsonov koeficijent linearne korelacije* (r)



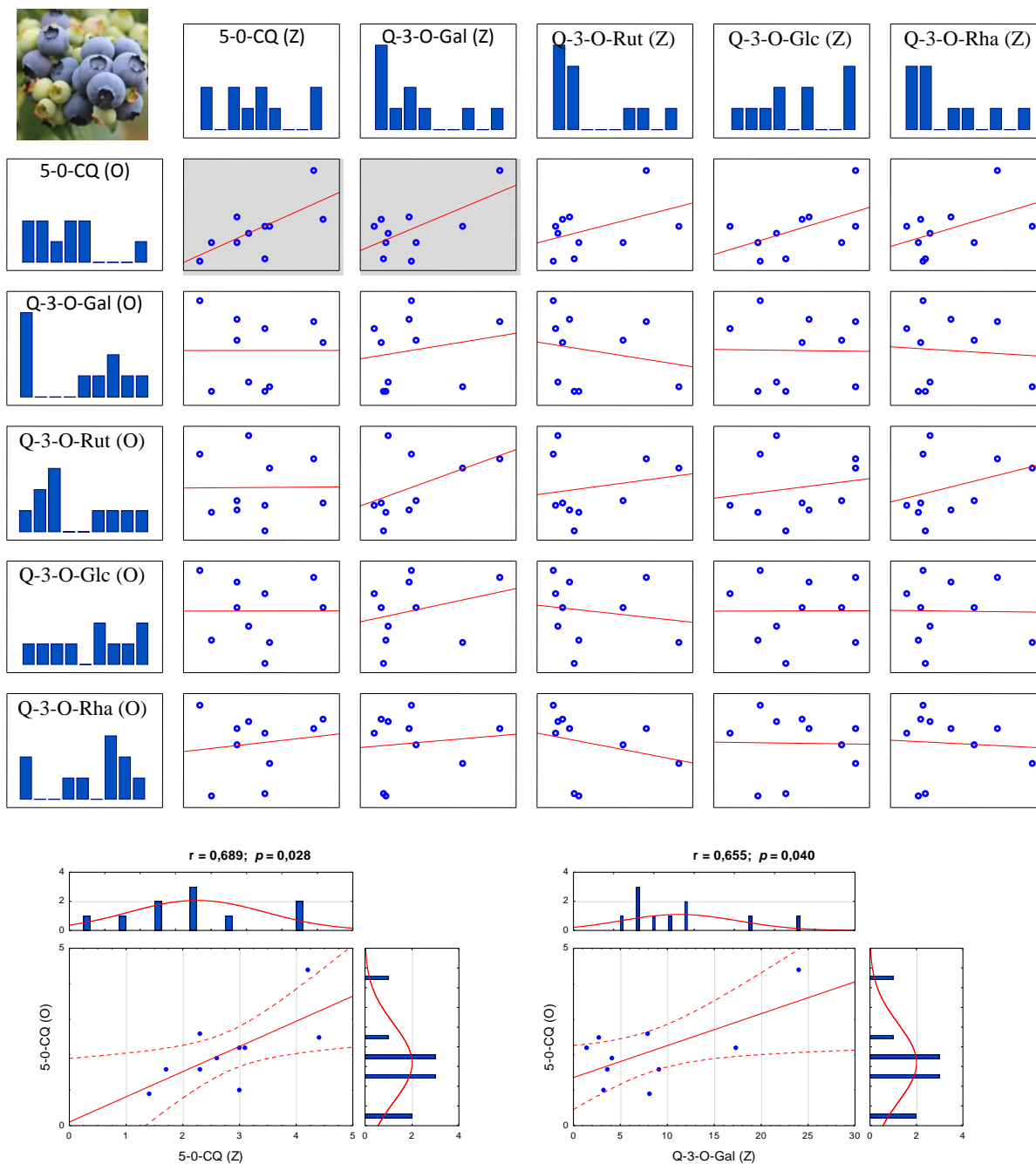
Korelaciona analiza uzoraka sa Avale i Ozrena (Slika 70) pokazuje da statistički značajna korelacija postoji između sadržaja 5-O-CQ (A) i Q-3-O-Gal (O) ($r = 0,69$), kao i između 5-O-CQ (A) i Q-3-O-Glc (O) ($r = 0,66$).





Slika 70. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *P. spinosa* sa Avale (A) i Ozrena (O); za signifikantne korelacije ($p < 0,05$) prikazan je Pirsonov koeficijent linearne korelacije (r)

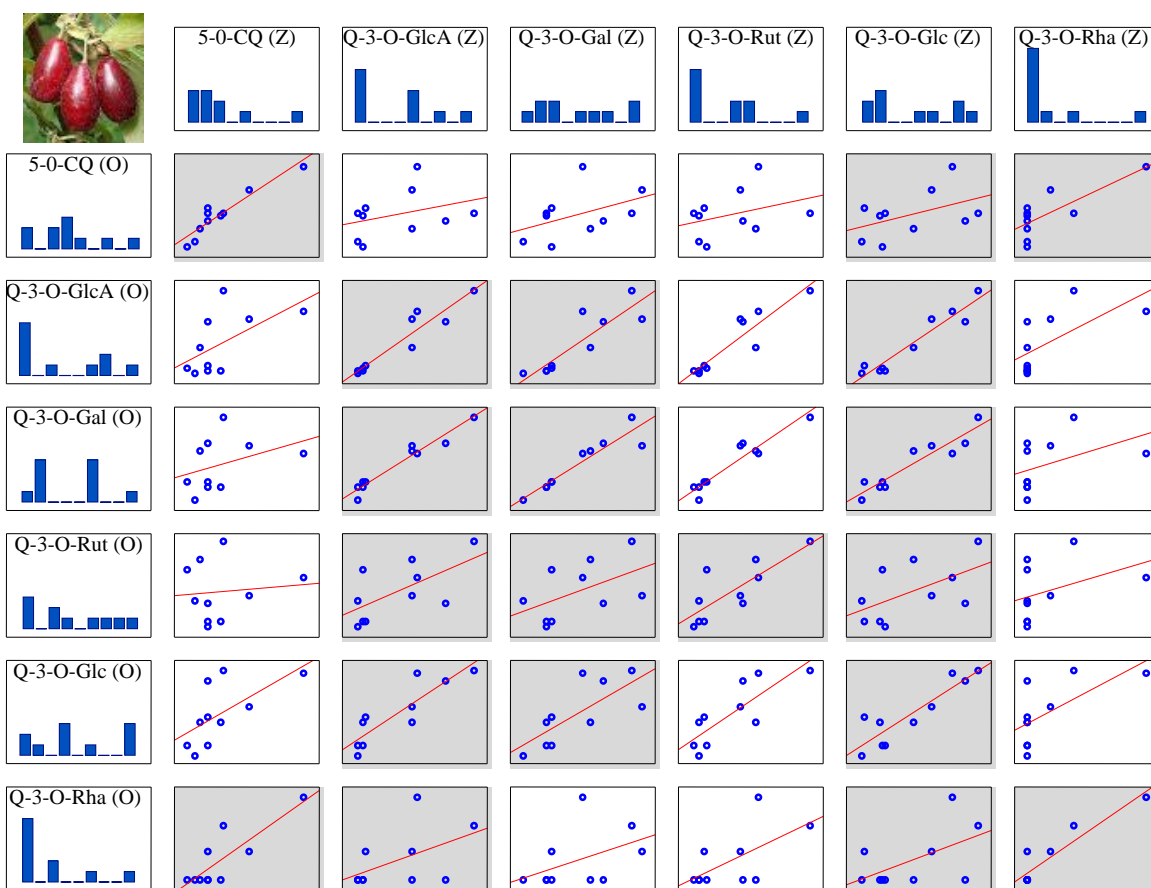
Rezultati korelacione analize sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka sa Zlatarskog jezera i Ozrena (Slika 71) pokazuju da statistički značajna korelacija postoji za sadržaj 5-*O*-CQ u jedinkama iz obe populacije ($r = 0,69$), kao i za sadržaj Q-3-*O*-Gal u uzorcima sa Zlatarskog jezera i 5-*O*-CQ u uzorcima sa Ozrena ($r = 0,65$).



Slika 71. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *P. spinosa* sa Zlatarskog jezera (Z) i Ozrena (O)

4.4.4. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *C. mas* u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci

Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka vrste *C. mas* sa Avale i Zlatarskog jezera, kao i sa Avale i Ozrena pokazuje da ne postoji statistički značajna korelacija između ispitivanih jedinjenja. Nasuprot tome, postoji 20 statistički značajnih korelacija (Pirson-ov koefijent korelacije se kretao u rasponu od 0,63 do 0,96; $p < 0,05$) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja između uzoraka sa Zlatarskog jezera i Ozrena (Slika 72). Posebno se izdvaja kvercetin glukozid u uzorcima sa Zlatarskog jezera čiji je sadržaj korelisan sa sadržajim svih šest ispitivanih jedinjenja u uzorcima sa Ozrena.

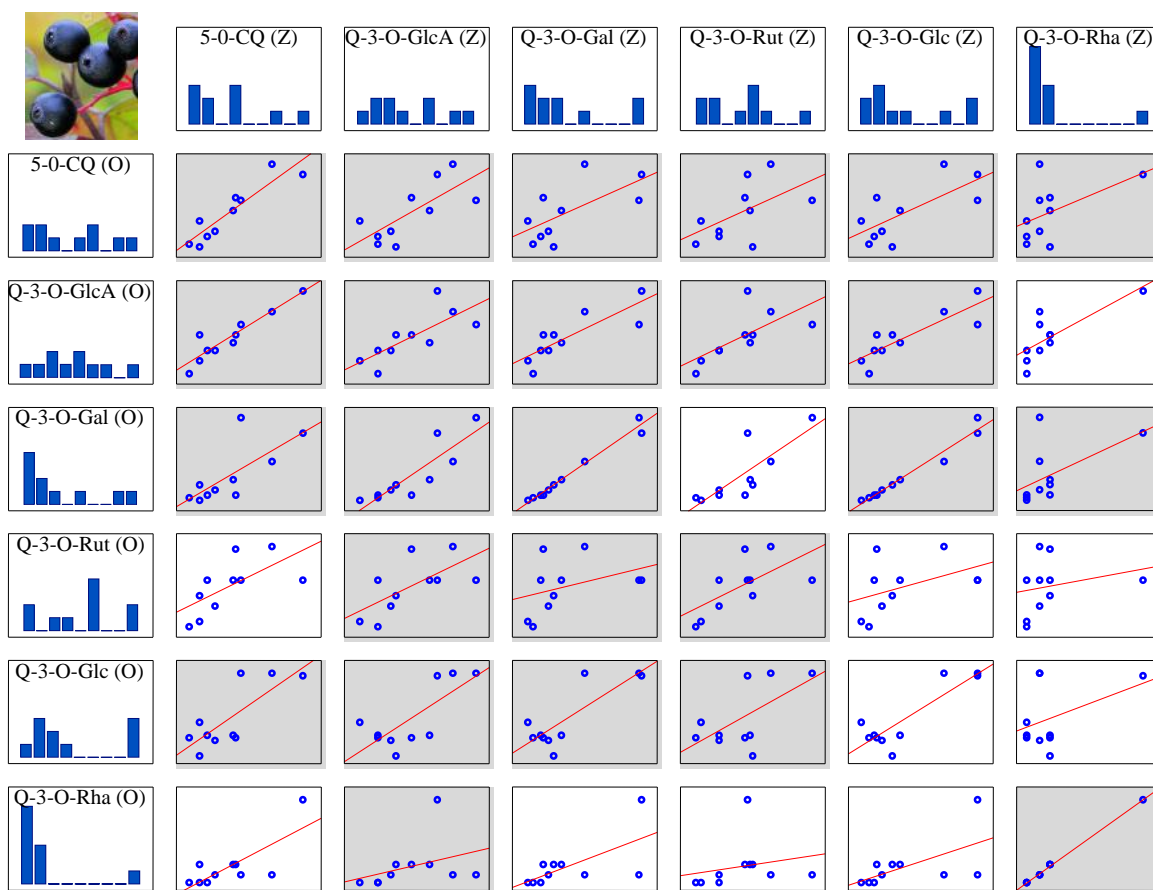


Slika 72. Korelaciona analiza* sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *C. mas* sa Zlatarskog jezera (Z) i Ozrena (O)

**(grafici su osenčeni za statistički značajne korelacije; $p < 0,05$)*

4.4.5. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod vrste *C. sanguinea* u odnosu na populaciju iz koje su uzimani uzorci

Isto kao i kod vrste *C. mas*, korelaciona analiza sadržaja analiziranih jedinjenja u uzorcima vrste *C. sanguinea* sa Avale i Zlatarskog jezera, kao i sa Avale i Ozrena pokazuju da ne postoji statistički značajna korelacija između sadržaja ispitivanih jedinjenja. Nasuprot tome, upoređujući uzorke sa Zlatarskog jezera i Ozrena, korelacija između sadržaja većine analiziranih jedinjenja je statistički značajna (Pirsonov koefijent korelacije se kretao od 0,64 do 0,98) (Slika 73). Stepenn korelacije je naizraženiji kod kvercetin-glukonorida u uzorcima sa Zlatarskog jezera (značajno je korelisan je sa svim analiziranim jedinjenjima u uzorcima sa Ozrena).

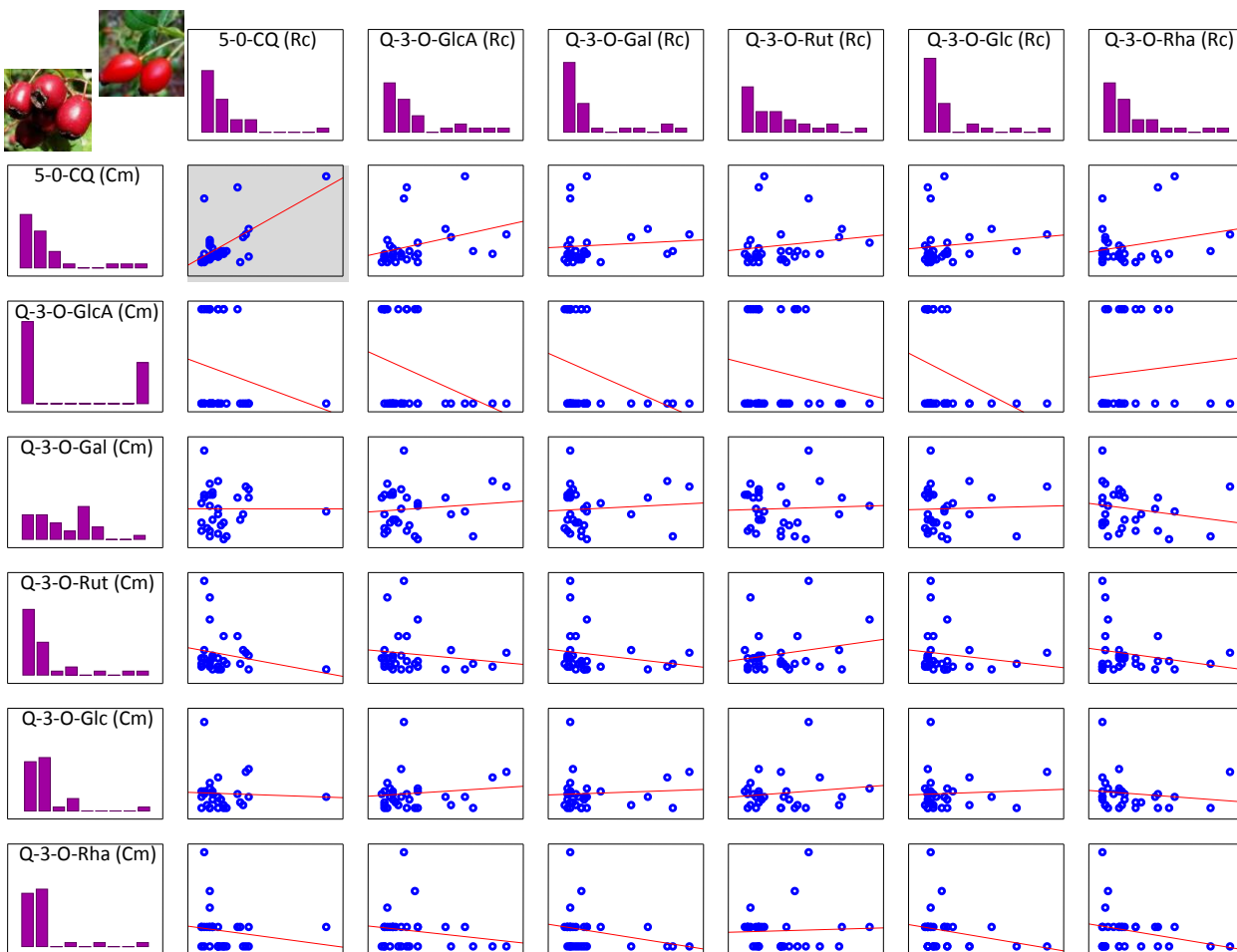


Slika 73. Korelaciona analiza* sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka *C. sanguinea* sa Zlatarskog jezera (Z) i Ozrena (O)

*(grafici su osenčeni za statistički značajne korelacije; $p < 0,05$)

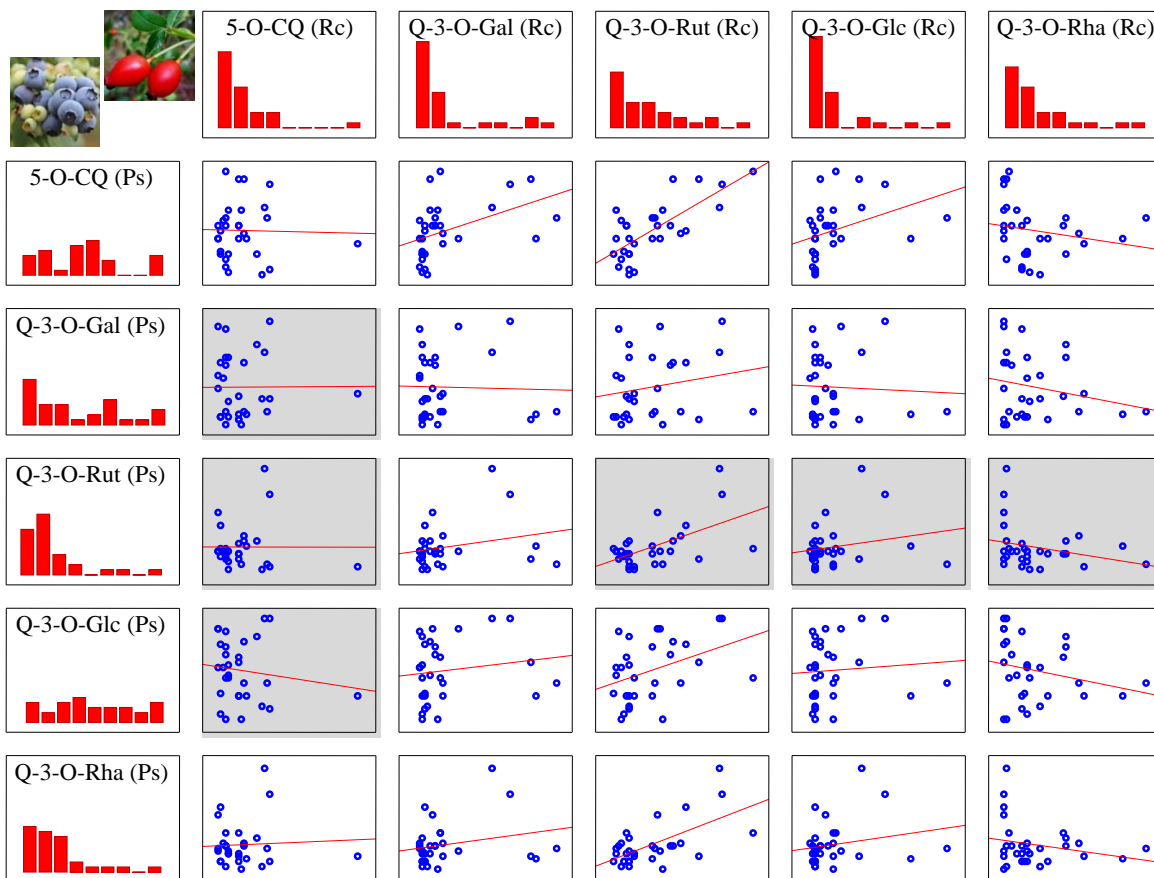
4.4.6. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u uzorcima *R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa* (fam. Rosaceae)

Rezultati korelacione analize sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja uzoraka *R. canina* (Rc) i *C. monogyna* (Cm) pokazuju da statistički značajna korelacija postoji za sadržaje 5-*O*-CQ u uzorcima od obe vrste ($r = 0,63$) (Slika 74).



Slika 74. Korelaciona analiza* sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka vrste *R. canina* (Rc) i *C. monogyna* (Cm) *(grafici su osenčeni za statistički značajne korelacije; $p < 0,05$)

Korelaciona analiza sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja uzoraka *R. canina* (Rc) i *P. spinosa* (Ps) pokazuju da je sadržaj 5-*O*-CQ (Rc) statistički značajno korelisan sa (Ps) sadržajem Q-3-*O*-Gal ($r=0,45$), Q-3-*O*-Rut ($r=0,73$) i Q-3-*O*-Glc ($r=0,37$). Takođe je utvrđeno da je (Ps) sadržaj Q-3-*O*-Rut korelisan sa (Rc) sadržajem Q-3-*O*-Rut ($r=0,56$), Q-3-*O*-Glc ($r=0,39$) i Q-3-*O*-Rha ($r = 0,61$) (Slika 75).

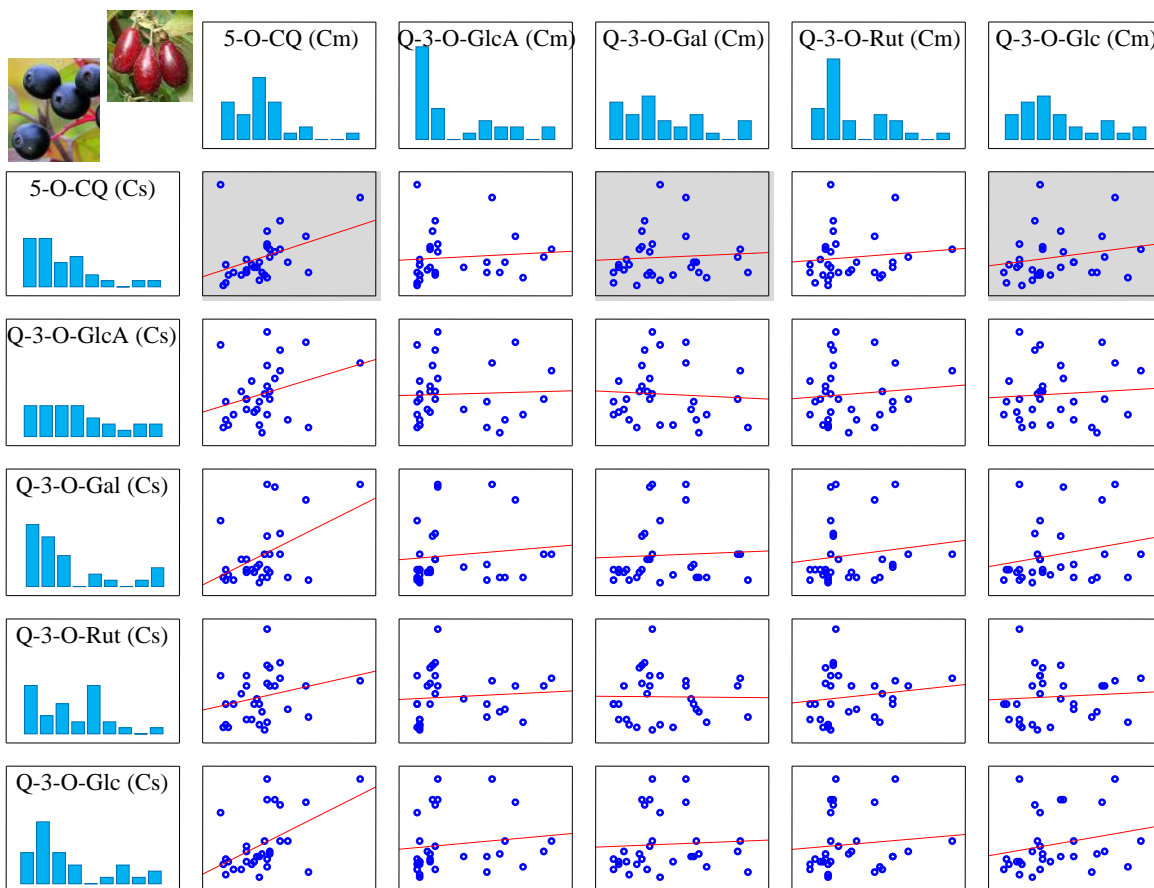


Slika 75. Korelaciona analiza* sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka vrste *R. canina* (Rc) i *P. spinosa* (Ps) *(grafici su osenčeni za statistički značajne korelacije; $p < 0,05$)

Korelaciona analiza sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja uzoraka *C. monogyna* i *P. spinosa* pokazuje da ne postoji statistički značajna korelacija između ispitivanih jedinjenja.

4.4.7. Korelaciona analiza sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u uzorcima *C. mas* i *C. sanguinea* (fam. Cornaceae)

Korelaciona analiza sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja uzoraka *C. mas* (Cm) i *C. sanguinea* (Cs) pokazuju da statistički značajna korelacija postoji za (Cs) sadržaj 5-*O*-CQ i (Cm) sadržaj 5-*O*-CQ ($r = 0,40$), Q-3-*O*-Gal ($r = 0,48$) i Q-3-*O*-Glc ($r = 0,50$) (Slika 76).



Slika 76. Korelaciona analiza* sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja uzoraka vrste *C. mas* (Cm) i *C. sanguinea* (Cs) *(grafici su osenčeni za statistički značajne korelacije; $p < 0,05$)

4.5. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod ispitivanih vrsta

Dobijeni rezultati pokazuju da je ukupna količina odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima ispitivanih vrsta, iako u apsolutnim iznosima mala, veoma varijabilna. Kvantifikacija određenih tipova sekundarnih metabolita kod različitih biljaka pruža mogućnost da se utvrdi hemijska distanca između različitih vrsta i populacija, da se proceni adaptivni odgovor ispitivanih biljnih vrsta u odnosu na određene ekološke faktore u različitim staništima i njihov adaptivni potencijal. Podaci dobijeni u kvantitativnoj analizi sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod pet ispitivanih drvenastih vrsta šumskog samoniklog voća korišćeni su u obradi koja obuhvata upotrebu statističkih procedura i multivarijantnih statističkih analiza kojima se razdvajaju grupe, utvrđuje stepen varijabilnosti i procenjuje uticaj pojedinih komponenti na distinkciju (stepen različitosti) između njih. Iako, teoretski, u fitohemijskim studijama svaki od analiziranih metabolita može biti korišćen za diskriminaciju između različitih grupa (ispitivanih vrsta i njihovih populacija), oni svakako nisu podjednako relevantni, tako da je multivarijantna statistička analiza korišćena da bi se za svaku ispitivanu vrstu odredila najrelevantnija varijabla, odnosno dominantni faktor razdvajanja grupa kao mogući indikator za različite adaptivne strategije.

4.5.1. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima *R. canina*

Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartalne razlike, minimalne i maksimalne vrednosti) sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja (označenih kao svojstvo) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *R. canina* prikazani su u Tabeli 3. Analizom podataka utvrđeno je da 13 od ukupno 180 dobijenih rezultata za vrstu *R. canina* (7,2%) predstavlja autlajere koji su u daljoj analizi glavnih komponenti (PCA) tretirani kao suplementi.

Tabela 3. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartilne razlike i min-max opseg) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *R. canina*

| lokalitet | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-Gal (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|------------------------|--|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|--|---------------------------------|
| Avala | ^A 0,94 (0,65) | 21,44 (11,58) ^b | 17,92 (15,44) ^b | 3,34 (3,56) | 15,49 (12,94) | 22,11 (16,95) |
| | ^B 2,4 (1,4-4,4) [0,3-20,5] | 18,4 (12,3-26,7) [7,8-40,7] | 11,35 (9,9-15,4) [6,5-56,3] | 1,9 (1,1-4,4) [0,6-12,1] | 10,5 (8,7-10,8) [5,7-43,3] ^b | 26,2 (5,7-33,3) [1,6-52,1] |
| Zlatarsko jezero | 1,81 (1,44) | 67,10 (43,27) ^a | 84,06 (62,91) ^a | 4,77 (3,06) | 69,52 (54,79) | 50,65 (34,43) |
| | 6,2 (2,7-8,5) [1,5-17,6] | 73,0 (25,4-99,0) [14,1-132,6] | 66,85 (29,4-147,9) [18,2-179] | 4,05 (2,3-7,6) [0,8-9,5] | 51,25 (32,3-99,6) [16,6-182,9] ^a | 11,7 (2,6-113,2) [2,2-198,5] |
| Ozren | 0,95 (0,44) | 19,91 (14,60) ^b | 16,35 (10,58) ^b | 2,94 (2,01) | 14,29 (9,56) | 59,68 (75,97) |
| | 5,44 (3,3-7,3) [2,2-10,9] | 15,25 (7,7-31,3) [4,6-42,0] | 11,15 (8,6-26,0) [4,9-36,8] | 1,85 (1,4-5,2) [0,8-6,2] | 8,7 (8,4-16,8) [5,0-34,5] ^b | 43,8 (26,8-87,4) [5,5-105,4] |
| poređenja | ns | ^C $F_{2,27} = 9,72^*$ | $F_{2,27} = 10,40^*$ | ns | ^D $H_{2,30} = 13,35^*$ | ns |
| tri lokaliteta zajedno | 1,23 (0,65) | 36,15 (24,45) | 39,44 (19,20) | 3,68 (2,95) | 33,08 (41,22) | 44,15 (50,14) |
| | 4,3 (2,5-7,4) [0,3-20,5] | 24,45 (12,3-40,7) [4,6-132,6] | 19,2 (11,0-35,1) [4,9-179,0] | 2,25 (1,7-5,2) [0,6-12,1] | 16,65 (8,7-35,0) [5,0-182,9] | 27,9 (5,5-62,1) [1,6-198,5] |

Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=30$ (1 vrsta x 3 lokaliteta x 10 individua = 30), ukupno numeričkih podataka= 180 ($n=30 \times 6$ svojstava = 180)

^A = srednja vrednost (standardna devijacija)

^B = medijana (interkvartilna razlika-IQR) [min-max]

^C = F -pokazatelj (ANOVA) sa brojevima stepeni slobode

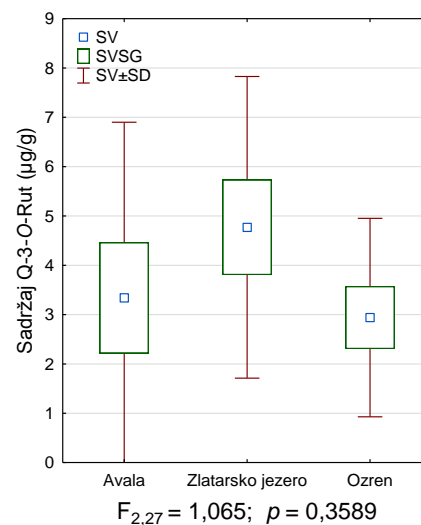
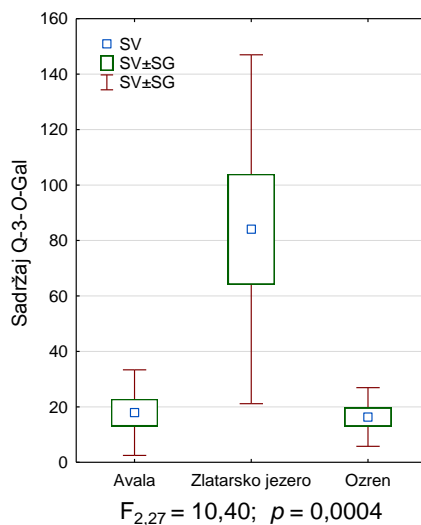
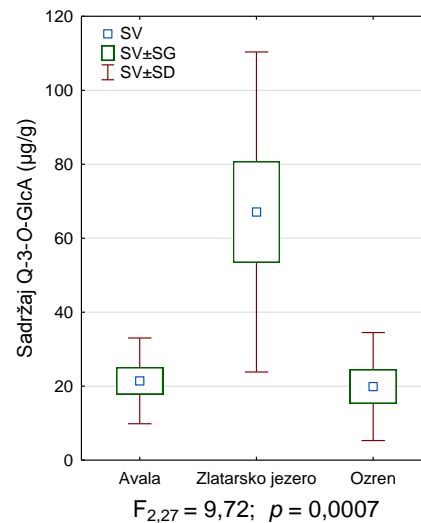
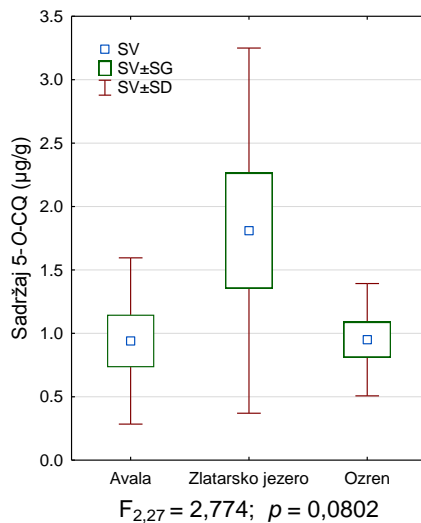
^D = H -pokazatelj (Kruskal-Wallis test) sa brojevima stepeni slobode

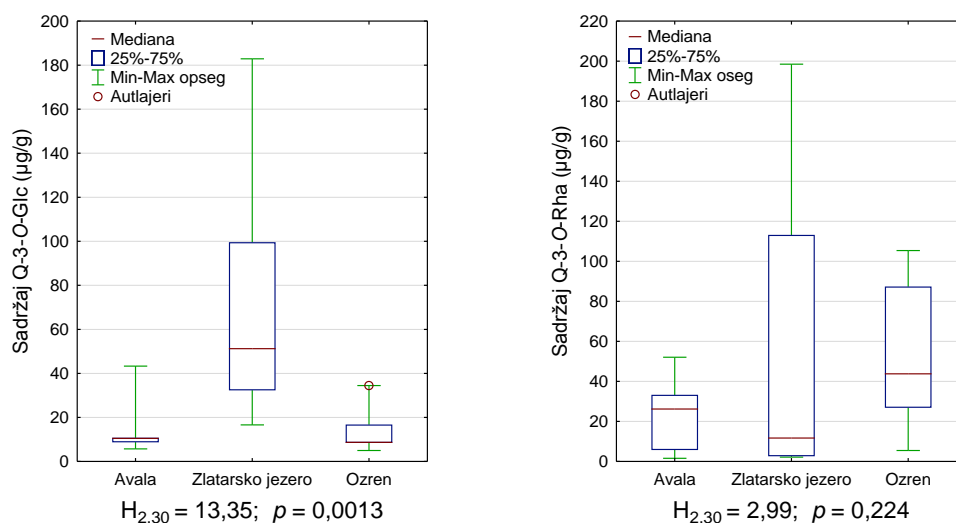
ns = nesignifikantna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p > 0,05$)

* = statistički značajna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p \leq 0,05$)

^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među lokalitetima

Međusobno poređenje analiziranih populacija za pojedino svojstvo vršeno je poređenjem njihovih srednjih vrednosti (parametarskim ANOVA testom) ili medijana (neparametarskim Kruskal-Wallis testom), zavisno od toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenosti varijansi (primenjeni su hi-kvadrat i Leven-ov test) (Tab 3). Utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike između populacija za sledeća svojstva: s2, kvantitativni sadržaj kvercetin-glukuronida u analiziranim uzorcima plodova šipurka ($F_{2,27} = 9,72; p < 0,05$) i s3, sadržaj kvercetin-galaktozida ($F_{2,27} = 10,4; p < 0,05$); kao i između njihovih medijana za svojstvo s5, sadržaj kvercetin-glukozida ($H_{2,30} = 13,35; p < 0,05$) (Slika 77). Za tri navedena svojstva najveće vrednosti zabeležene su među individuaama koje pripadaju populaciji sa Zlatarskog jezera, a najmanje u populaciji na Ozrenu.

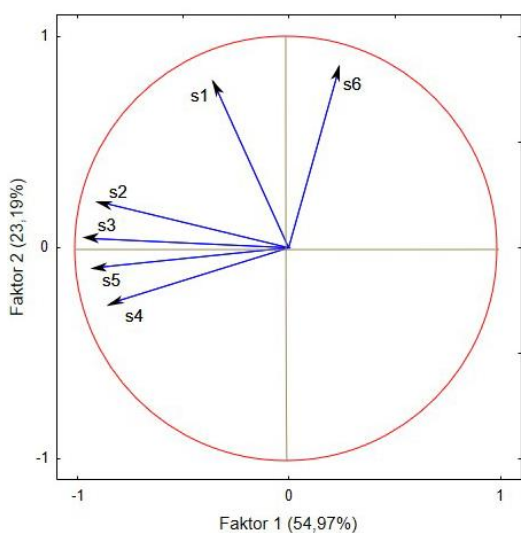




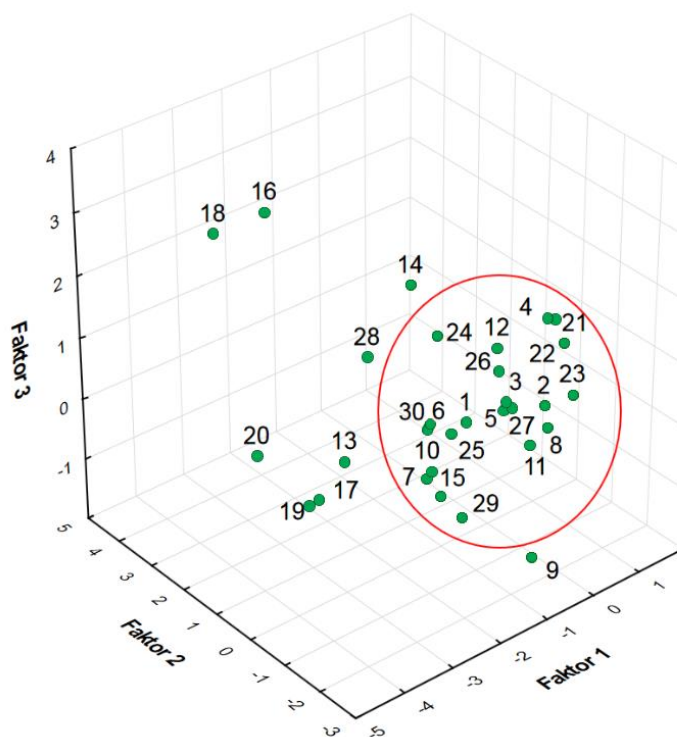
Slika 77. Uporedna analiza populacija *R. canina* na osnovu srednjih vrednosti (ANOVA) ili medijana (Kruskal-Wallis test) sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja, zavisno od toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenosti varijansi (*SV* - srednja vrednost; *SG* - standardna greška srednje vrednosti; *SD* - standardna devijacija)

Analiza glavnih komponenti je urađena na transformisanim [$y' = \log_{10}(y + 1)$] i standardizovanim podacima tako što su glavne komponente izračunate preko korelacione matrice (matrica kovarijansi za standardizovane vrednosti). Kumulativna varijabilnost sadržana u prve tri PC-ose iznosi 89,51%, sa očekivanim najvećim udelom prve ose, koja objašnjava više od polovine ukupne varijabilnosti (54,9%). Druga (23,19%) i treća (11,35%) osa značajno manje doprinose objašnjavanju grupisanja ispitivanih svojstava individua. Prve dve ose objašnjavaju ukupno 78,16% ukupne varijabilnosti (karakteristične vrednosti korelacione matrice, tj. ajgenvrednosti >1). Rezultati pokazuju da su najbolje predstavljena svojstva s3, s5 i s2 (sadržaj kvercetin-galaktozida, -glukozida i -glukuronida u analiziranim uzorcima plodova šipurka), odnosno da ova svojstva imaju najvažniju ulogu u ukupnoj varijabilnosti polaznog skupa podataka. Na formiranje prve ose (PC1 ili Faktor 1) najviše utiču s3 (sadržaj kvercetin-galaktozida) i s5 (sadržaj kvercetin-glukozida). Na formiranje druge ose (PC2 ili Faktor 2) najviše utiče s6 (sadržaj kvercetin-ramnozida). Struktura svojstava i njihovi odnosi vidljivi su u grafičkoj prezentaciji analize glavnih komponenti (grafici opterećenja na prve dve glavne komponente, „loading plots“, Slika 78). Dobijeni rezultati pokazuju da postoji izražena pozitivna korelacija između s2, s3, s4 i s5, kao i da su ova svojstva negativno korelisana sa s6. Tendencije među individua, njihova grupisanja

(odnosno razdvajanja) mogu se odrediti su na osnovu njihove pozicije u prostoru prve tri PC ose. Od ukupno 30 analiziranih, 9 jedinki (7 iz populacije sa Zlatarskog jezera i po jedna iz poluacije sa Avale i Ozrena) jasno se izdvajaju od ostalih koje su grupisane u prostoru prve tri PC ose (Slika 79).

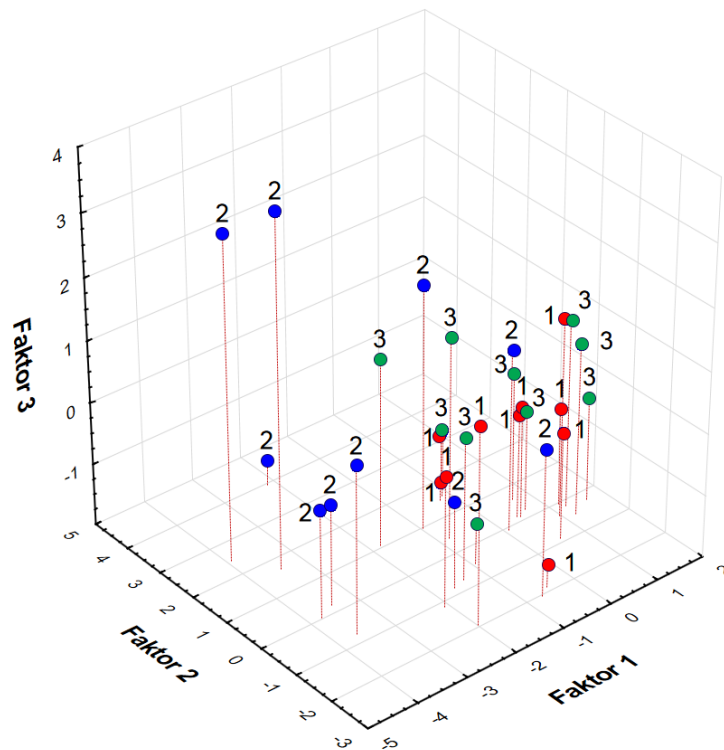


Slika 78. Struktura svojstava (“loading plot”) određena pomoću analize glavnih komponenti (PCA, faktor 1-2) kod jedinki vrste *R. canina* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)



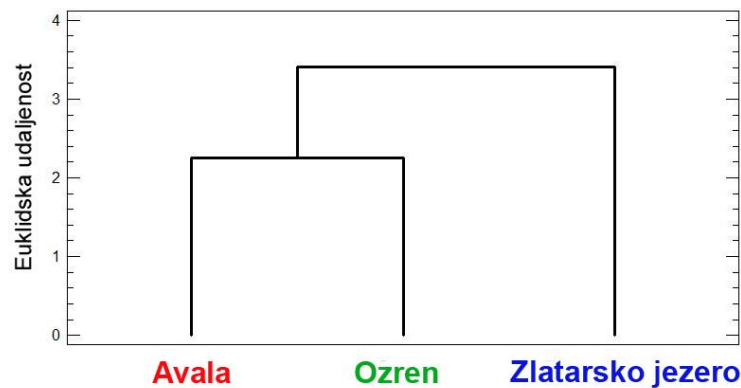
Slika 79. Položaj (“score plot”) u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih individua *R. canina* (1-30) određen na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

Razdvajanje jedinki koje pripadaju različitim populacijama u prostoru prve tri PC ose je prikazano na slici 80. Grupa od 16 jedinki (među kojima polovinu čine jedinke sa Avale) nalazi se u prostoru u kome se preklapaju sve tri populacije. Jedinke koje pripadaju populacijama sa Avale i Ozrena međusobno su mnogo sličnije nego jedinke koje pripadaju populaciji sa Zlatarskog jezera, koja je najvarijabilnija.



Slika 80. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) populacija *R. canina* (1: individue iz populacije sa Avale, 2: populacije sa Zlatarskog jezera, 3: populacije sa Ozrena) na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

U hijerarhijskoj klaster analizi istraživanih populacija (metoda najbližeg suseda) za određivanje sličnosti korišćena je standardna euklidska udaljenost. Dobijeni rezultati pokazuju jasno izdvajanje populacije sa Zlatarskog jezera, što je predstavljeno na dendrogramu (Slika 81).



Slika 81. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za tri populacije vrste *R. canina*

4.5.2. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima *C. monogyna*

Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartalne razlike, minimalne i maksimalne vrednosti) sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja (označenih kao svojstvo) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *C. monogyna* prikazani su u Tabeli 4. Ispitivanjem podataka detektovano je 5% autlajera (9 od 180 podataka) koji su u naknadnoj PCA tretirani kao suplementi.

Međusobno poređenje populacija za svaku pojedinačnu varijablu vršeno je parametarskim i neparametarskim testovima, zavisno od toga da li vrednosti svojstva ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenosti varijansi. Utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike među populacijama za svojstvo s3, sadržaj kvercetin-galaktozida ($F_{2,27} = 6,01$; $p < 0,05$), svojstvo s4, kvercetin-rutinozida ($F_{2,27} = 3,81$; $p < 0,05$), kao i za svojstvo s5, kvercetin-glukozida ($H_{2,30} = 13,57$; $p < 0,05$) i svojstvo s6, kvercetin-3-*O*-ramnozida ($H_{2,30} = 6,83$; $p < 0,05$) (Slika 82). Za sva četiri navedena fenolna jedinjenja najveće vrednosti zabeležene su u plodovima jedinki koji pripadaju populaciji sa Avale.

Analiza glavnih komponenti (PCA) korišćena je da bi se utvrdila i grafički predstavila struktura istraživanih svojstava i odredio njihov uticaj na ukupnu varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima jedinki iz tri istraživane populacije belog gloğa. Takođe, ovom analizom utvrđivana je i struktura elemenata, odnosno pojedinačnih individua, kako bi grafički u trodimenzionalnom prostoru predstavili njihovo grupisanje i međusobne sličnosti i razlike. Rezultati PCA su pokazali da prva osa objašnjava 45,13%, druga 19,54%, a treća 16,29% način grupisanja ispitivanih svojstava. Prve dve ose objašnjavaju ukupno 64,67% ukupne varijabilnosti, sa ajgenvrednostima > 1 . Najbolje je reprezentovano svojstvo s5 (sadržaj kvercetin-glukozida), tako da se može reći da sadržaj ovog jedinjenja ima najvažniju ulogu u varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u ukupnom uzorku belog gloğa. Dobro su prezentovana svojstva s3 (sadržaj kvercetin-galaktozida), i s6 (-ramnozida). Svojstvo s1 (sadržaj neohlorogene kiseline) je osrednje prezentovano, dok je svojstvo s4 (-rutinozid) slabo prezentovano. Na formiranje prve ose najviše utiču svojstva s5 i s3 (sadržaj kvercetin-glukozida i -galaktozida). Na formiranje druge ose najviše utiče svojstvo s6 (sadržaj kvercetin-ramnozida). Struktura svojstava i njihovi odnosi prikazani su na slici 83.

Tabela 4. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartilne razlike i min-max opseg) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *C. monogyna*

| lokalitet | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-Gal (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|------------------------|---|--------------------|--------------------------------------|---------------------------------|---|---|
| Avala | ^A 7,39 (6,88) | - | 467,18 (203,06) ^a | 48,52 (50,38) ^a | 328,50 (277,43) | 0,14 (0,13) |
| | ^B 6,05 (3,5-8,5) [1,1-25,1] | - | 471,2 (352,5-526,2) [215,7-926,8] | 24,8 (11,1-85,4) [7,3-145,5] | 245,5 (219,8-339) [89,1-1056]a | 0,1 (0,1-0,1) [0,0-0,5]a |
| Zlatarsko jezero | 9,60 (9,49) | - | 345,23 (176,51) ^{ab} | 10,19 (11,91) ^b | 77,24 (63,67) | 0,06 (0,10) |
| | 5,4 (4,6-11,9) [2,3-34,3] | - | 321 (209,1-484,4) [53,6-612] | 5,75 (1,0-11,9) [0,7-32,6] | 161,35 (146,7-210,6) [46,6-447,3] ^b | 0,001 (0,001-0,1) [0,001-0,1] ^b |
| Ozren | 5,76 (8,66) | tragovi | 193,83 (145,88) ^b | 23,92 (16,95) ^a | 195,56 (125,93) | 0,04 (0,05) |
| | 3,35 (2,1-5,0) [0,9-30,0] | tragovi | 141,5 (97,6-277) [43,7-442] | 18,3 (14,1-22,3) [5,9-54,9] | 46,35 (28,6-109,6) [28-190,4]c | 0,001 (0,001-0,1) [0,001-0,3]b |
| poređenja | ns | - | ^C $F_{2,27} = 6,01^*$ | $F_{2,27} = 3,81^{**}$ | ^D $H_{2,30} = 13,57^*$ | $H_{2,30} = 6,83^*$ |
| tri lokaliteta zajedno | 7,58 (8,29) | - | 335,41 (204,95) | 27,54 (34,37) | 200,43 (202,39) | 0,08 (0,11) |
| | 5,0 (3,1-8,5) [0,9-34,3] | - | 321 (173-472) [43,7-926,8] | 15,7 (7,3-30,2) [0,7-145,5] | 161,3 (68,7-237,8) [28-1056] | 0,001 (0,001-0,1) [0,001-0,5] |

Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=30$ (1 vrsta x 3 lokaliteta x 10 individua = 30), ukupno numeričkih podataka= 180 ($n=30 \times 6$ svojstava = 180)

^A = srednja vrednost (standardna devijacija)

^B = medijana (interkvartilna razlika-IQR) [min-max]

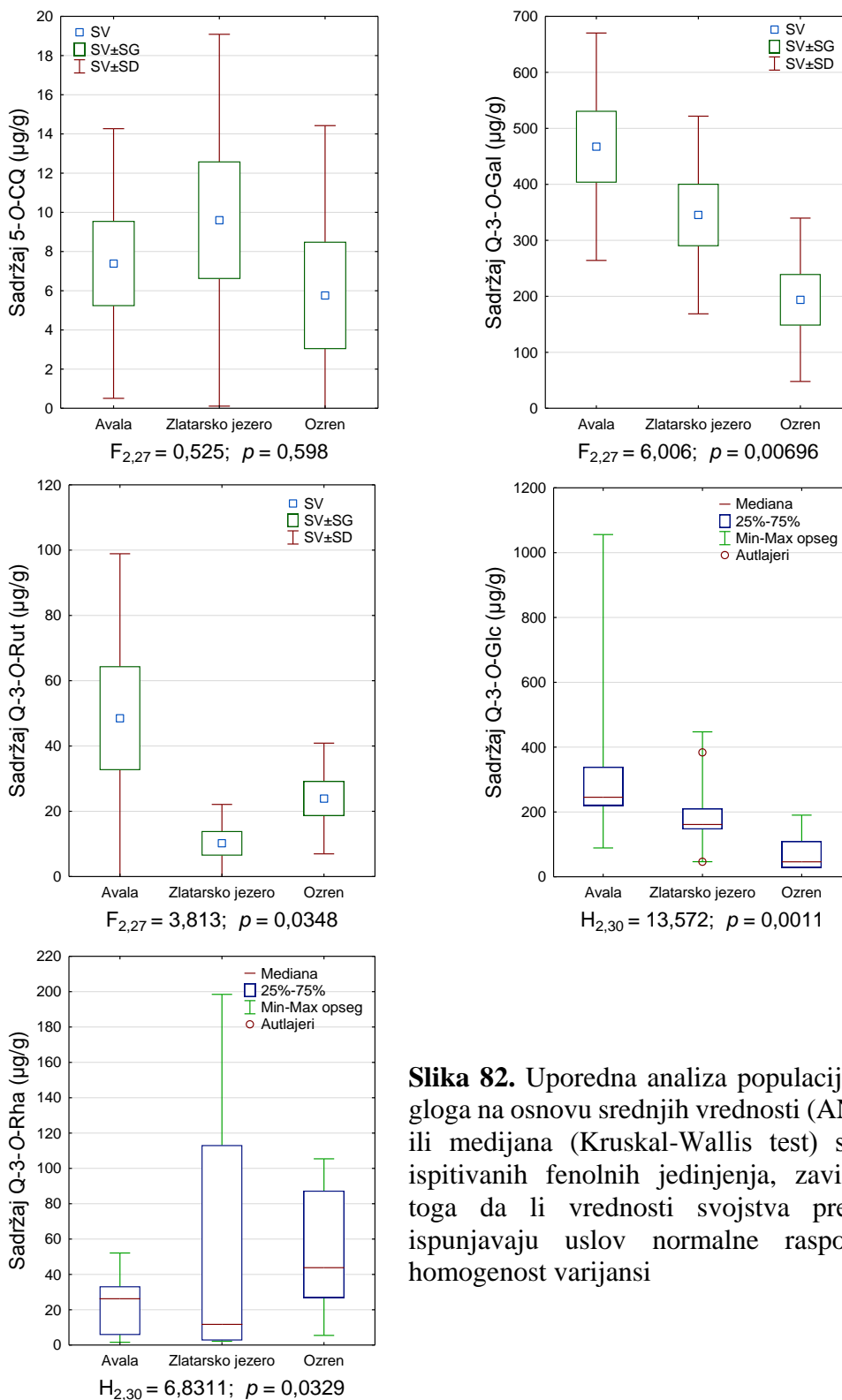
^C = F -pokazatelj (ANOVA) sa brojevima stepeni slobode

^D = H -pokazatelj (Kruskal-Wallis test) sa brojevima stepeni slobode

ns = nesignifikantna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p > 0,05$)

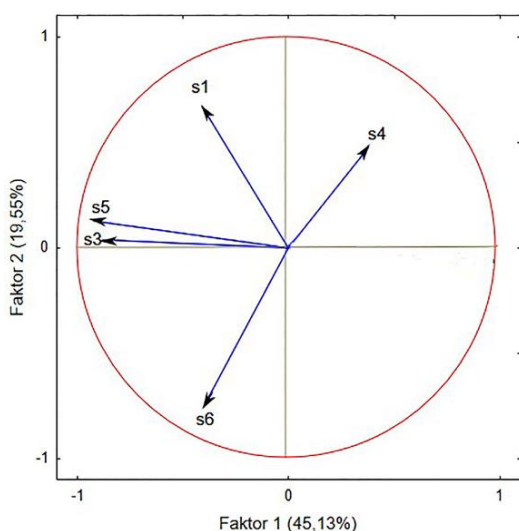
* = statistički značajna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p \leq 0,05$)

^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među lokalitetima

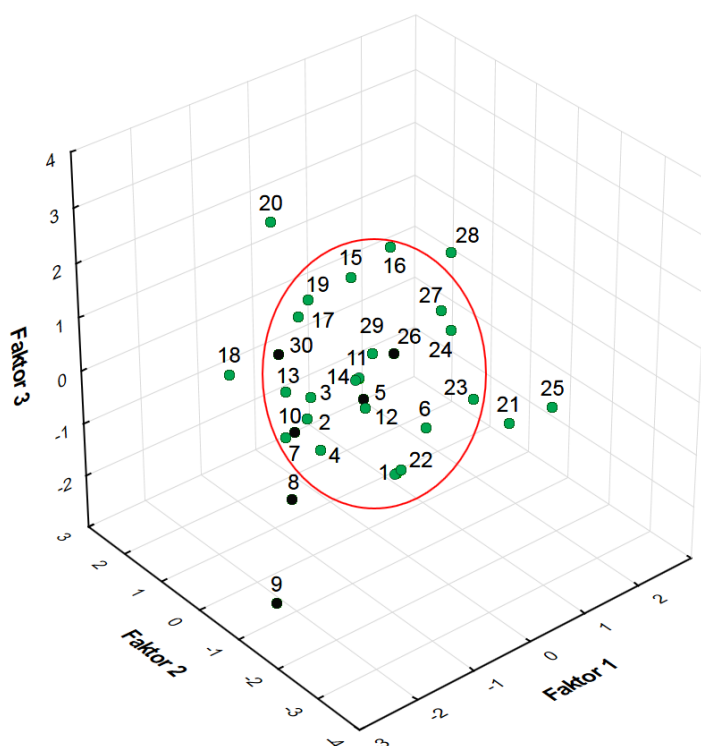


Slika 82. Upporedna analiza populacija belog gloga na osnovu srednjih vrednosti (ANOVA) ili medijana (Kruskal-Wallis test) sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja, zavisno od toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenost varijansi

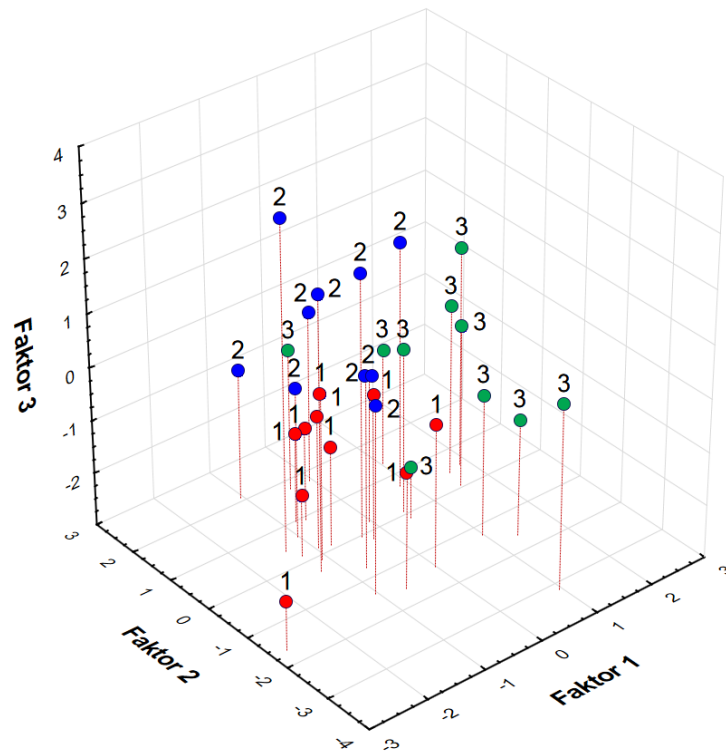
Iz grafičkog prikaza (prve dve ose) može se uočiti da su kvercetin-glukozid i -galaktozid (s3 i s5) međusobno visoko pozitivno korelisani, dok su kvercetin-ramnozid i -rutinizid (s6 i s4) međusobno visoko negativno korelisani. Tendencije među individuumima, njihova grupisanja i razdvajanja vidljiva su u prostoru prve tri PC ose (Slika 84). Loše je predstavljeno 6 jedinki: 5, 8, 9, 10, 26 i 30 (suma \cos^2 za prve tri ose $< 0,5$). Može se uočiti relativno homogena grupa od 23 individue, dok je 7 individua rasuto u trodimenzionalnom prostoru oko njih. Razdvajanje jedinki koje pripadaju različitim populacijama u prostoru prve tri PC ose je prikazano na slici 85.



Slika 83. Struktura svojstava (“loading plot”) određena pomoću analize glavnih komponenti (PCA, faktor 1-2) kod jedinki vrste *C. monogyna* (s1, 5-O-CQ; s2, Q-3-O-GlcA; s3, Q-3-O-Gal; s4, Q-3-O-Rut; s5, Q-3-O-Glc; s6, Q-3-O-Rha)

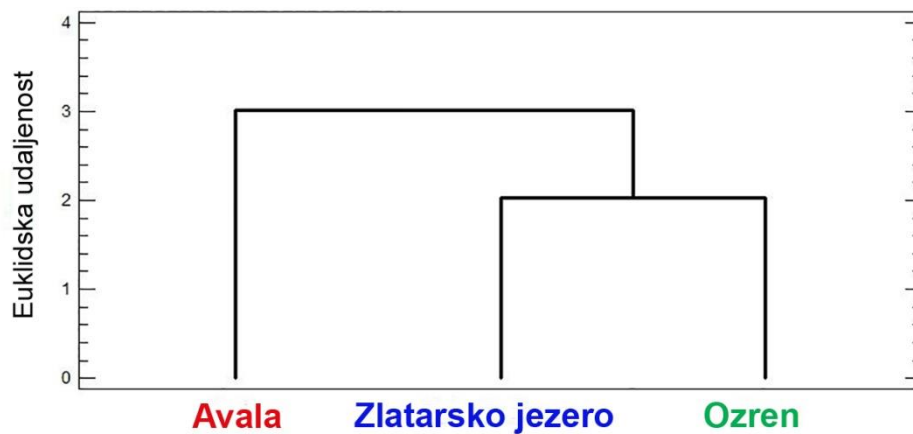


Slika 84. Položaj (“score plot”) u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih individua *C. monogyna* (1-30) određen na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (crni krugovi predstavljaju loše predstavljene jedinice)



Slika 85. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) populacija *C. monogyna* (1: individue iz populacije sa Avale, 2: populacije sa Zlatarskog jezera, 3: populacije sa Ozrena) na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

Hijerarhijska klaster analiza je pokazala da su populacije međusobno slične, sa tendencijom izdvajanja populacije sa Ozrena koja je više izdvojena na dendrogramu (Slika 86).



Slika 86. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za tri populacije vrste *C. monogyna*

4.5.3. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima *P. spinosa*

Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja (označenih kao svojstvo) u analiziranim plodovima jedinki iz tri populacije *P. spinosa* prikazani su u Tabeli 5. Ispitivanjem podataka detektovano je 3,9% autlajera (7 od 180 podataka) koji su u naknadnoj PCA tretirani kao suplementi.

Za međusobno poređenje populacija korišćeni su parametarski (ANOVA) i neparametarski (Kruskal-Wallis) testovi, zavisno od toga da li vrednosti varijabli prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenost varijansi. Utvrđeno je da statistički značajne razlike među populacijama postoje samo za svojstvo s1, sadržaj neohlorogene kiseline ($H_{(2,30)} = 10,50, p < 0,05$) (Slika 87). Sadržaj ovoj jedinjenja u analiziranim plodovima trnjine je najveći kod jedinki iz populacije sa Zlatarskog jezera, manji kod jedinki iz populacije sa Ozrena (prosečna vrednost je 74,6% u odnosu na vrednosti sa Zlatarskog jezera), a najmanji u populaciji sa Avale (prosečna vrednost je 41,2% u odnosu na vrednosti sa Zlatarskog jezera).

PCA je predstavljala sledeći korak u statističkoj obradi i grafičkoj prezentaciji dobijenih rezultata za tri analizirane populacije trnjine. Rezultati analize glavnih komponenti su pokazali da prva osa objašnjava 56,05%, druga 28,32%, a treća 9,41% ukupne varijabilnosti sadržaja fenolnih jedinjenja. Prve dve ose objašnjavaju ukupno 84,37% ukupne varijabilnosti, sa ajgenvrednostima > 1 . Najbolje reprezentovana svojstva koja imaju i najveću ulogu u ukupnoj varijabilnosti su: s5 (sadržaj kvercetin-glukozida), s3 (-galaktozida), s6 (-ramnozida) i s1 (neohlorogene kiseline), što je utvrđeno na osnovu sume kvadriranih korelacija u planu 1-2 (suma $r^2 > 0,8$). Dobijeni rezultati pokazuju da je dobro prezentovano i svojstvo s4, sadržaj kvercetin-rutinozida ($0,6 < \text{suma } r^2 < 0,8$). U ekstraktima plodovima analiziranih jedinki prisustvo kvercetin-glukuronida nije utvrđeno.

Tabela 5. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartilne razlike i min-max) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *P. spinosa*

| lokalitet | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-Gal (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|------------------------------|---|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Avala | ^A 1,16 (1,41) ^b | 0,0 (0,0) | 10,52 (7,93) | 41,00 (23,12) | 11,45 (6,49) | 40,99 (33,88) |
| | ^B 0,8 (0,2-1,7) [0,1-4,7] | 0,0 (0,0-0,0) [0,0-0,0] | 7,0 (4,2-16,0) [1,6-23,0] | 37,45 (23,4-52,3) [16,0-93,1] | 10,95 (5,4-17,7) [2,9-20,7] | 35,5 (17,3-49,0) [7,5-120,4] |
| Zlatarsko jezero | 2,80 (0,97) ^a | 0,0 (0,0) | 8,14 (7,25) | 71,50 (58,68) | 13,45 (7,01) | 68,96 (62,65) |
| | 2,8 (2,3-3,1) [1,4-4,4] | 0,0 (0,0-0,0) [0,0-0,0] | 6,0 (3,2-9,1) [1,4-24,0] | 47,8 (27,9-116,7) [20,5-190,4] | 12,9 (7,3-20,7) [2,7-22,9] | 37,9 (27,6-109,7) [6,5-197,1] |
| Ozren | 2,09 (0,94) ^{ab} | 0,0 (0,0) | 10,17 (6,30) | 55,25 (12,49) | 12,52 (5,29) | 43,6 (15,35) |
| | 2,05 (1,6-2,5) [0,9-4,4] | 0,0 (0,0-0,0) [0,0-0,0] | 11,9 (3,5-15,3) [2,6-19,3] | 49,6 (46,4-67,4) [38,3-76,1] | 13,2 (7,4-17,3) [3,8-19,4] | 49,9 (33,4-54,7) [18,2-62,3] |
| poređenja | ^D $H_{2,30} = 10,50^*$ | - | ns | ns | ns | ns |
| tri lokaliteta zajedno | 2,02 (1,29) | 0,0 (0,0) | 9,61 (7,02) | 55,92 (37,99) | 12,47 (6,14) | 51,20 (42,57) |
| | 1,95 (0,9-2,6) [0,1-4,7] | 0,0 (0,0-0,0) [0,0-0,0] | 7,5 (3,5-15,3) [1,4-24,0] | 48,95 (33,7-63,1) [16,0-190,4] | 12,35 (7,3-17,4) [2,7-22,9] | 41,6 (22,7-55,7) [6,5-197,1] |

Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=30$ (1 vrsta x 3 lokaliteta x 10 individua = 30), ukupno numeričkih podataka= 180 ($n=30 \times 6$ svojstava = 180)

^A = srednja vrednost (standardna devijacija)

^B = medijana (interkvartilna razlika-IQR) [min-max]

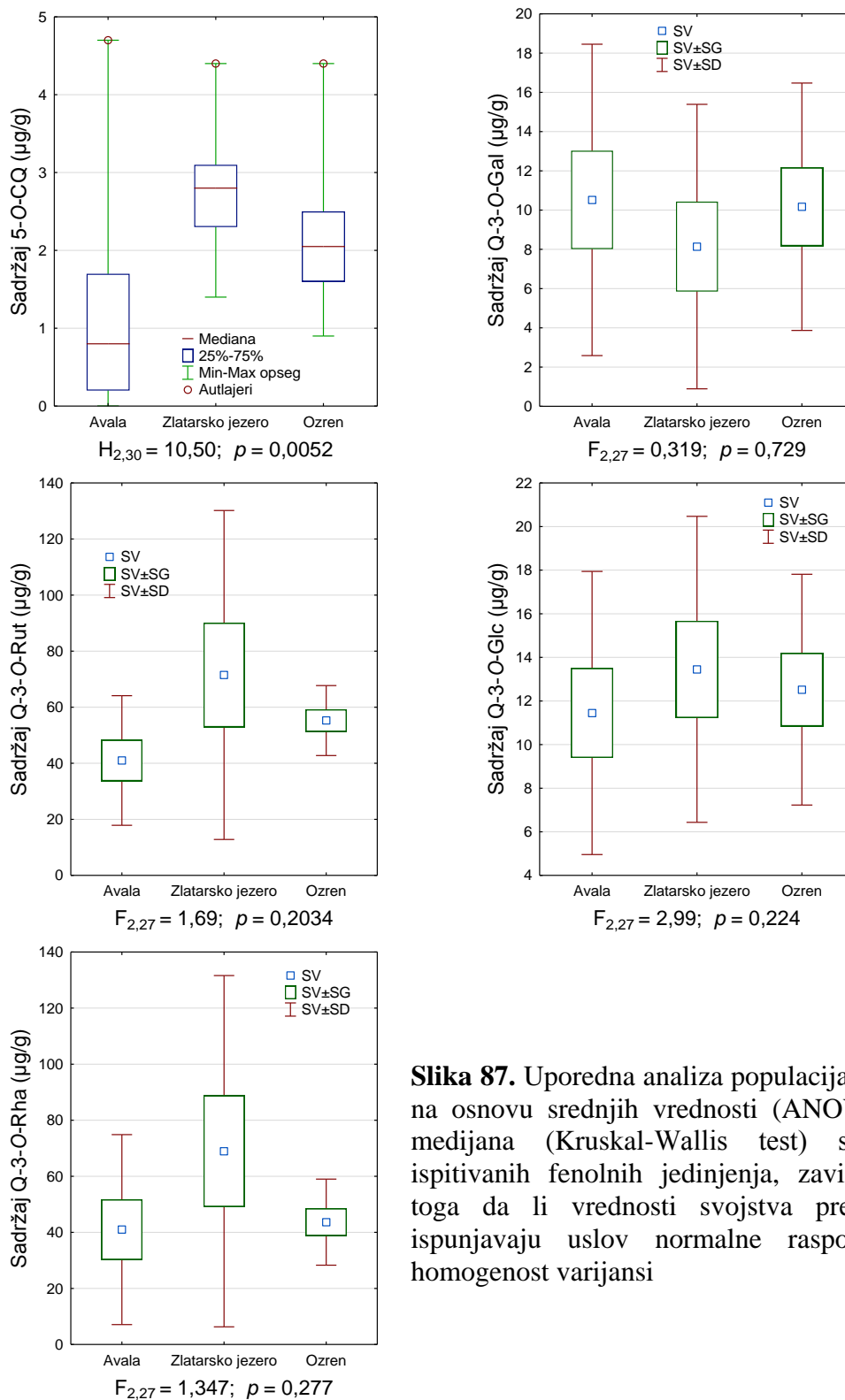
^C = *F*-pokazatelj (ANOVA) sa brojevima stepeni slobode

^D = *H*-pokazatelj (Kruskal-Wallis test) sa brojevima stepeni slobode

ns = nesignifikantna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p > 0,05$)

* = statistički značajna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p \leq 0,05$)

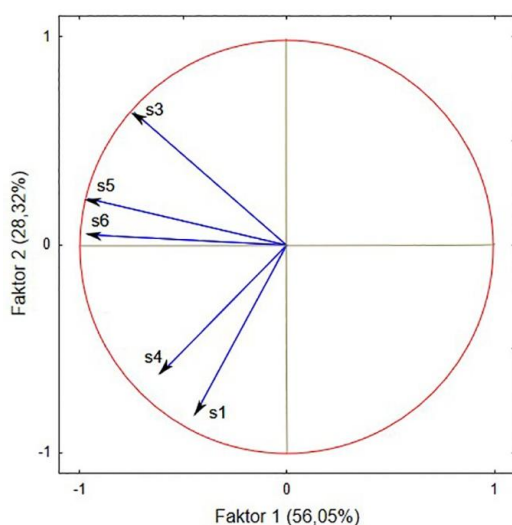
^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među lokalitetima



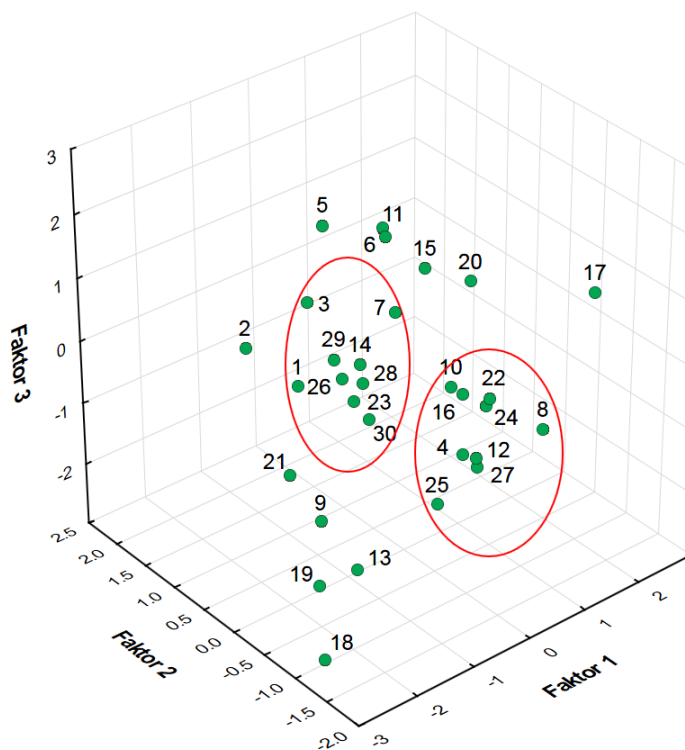
Slika 87. Uporedna analiza populacija trnjine na osnovu srednjih vrednosti (ANOVA) ili medijana (Kruskal-Wallis test) sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja, zavisno od toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenost varijansi

Na formiranje prve ose najviše utiču s5 (sadržaj kvercetin-glukozida) i s6 (kvercetin-ramnozida). Na formiranje druge ose najviše utiče s1 (sadržaj neohlorogene kiseline). Struktura svojstava i njihovi međusobni odnosi grafički su predstavljani na slici 86.

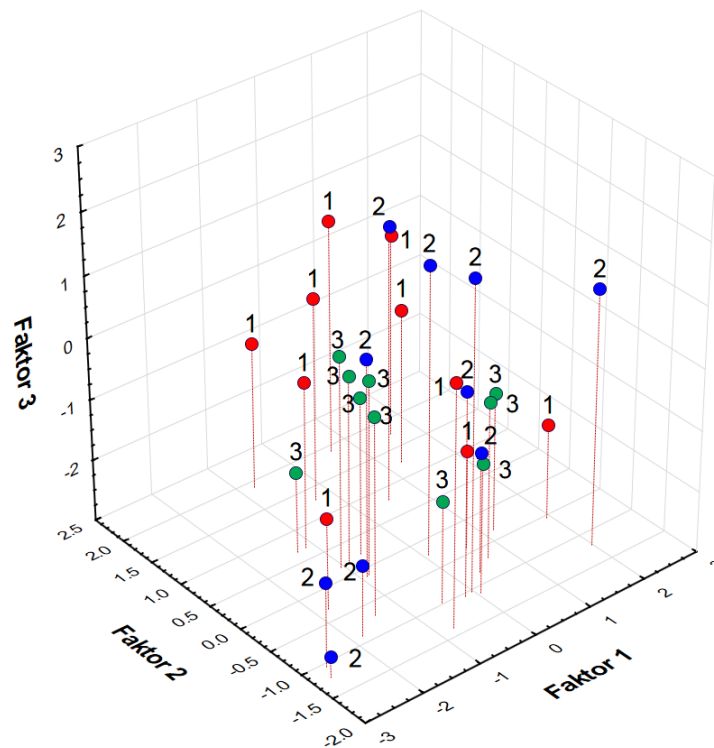
Rezultati pokazuju da su visoko pozitivno korelisana svojstva s6 i s5, kao i s1 i s4 (Slika 88). Tendencije među individuama i populacijama, njihova grupisanja/razdvajanja vidljiva su u prostoru prve tri PC ose (Slika 89 i 90). Sve individue su dobro predstavljene na planu prve tri ose (suma \cos^2 je kod svih $> 0,8$). Mogu se se uočiti dve relativno homogene grupe od po 9 jedinki, dok su ostale rasute u prostoru oko njih (7 jedinki iz populacije sa Zlatarskog jezera, 4 iz populacije sa Avale i 1 iz populacije sa Ozrena).



Slika 88. Struktura svojstava (“loading plot”) određena pomoću analize glavnih komponenti (PCA, faktor 1-2) kod jedinki vrste *P. spinosa* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)

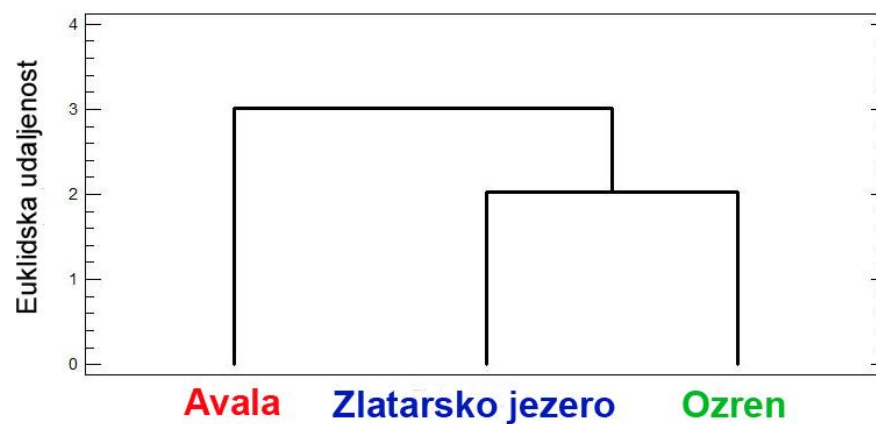


Slika 89. Položaj (“score plot”) u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih individua *P. spinosa* (1-30) određen na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja



Slika 90. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) populacija *P. spinosa* (1: jedinke iz populacije sa Avale, 2: populacije sa Zlatarskog jezera, 3: populacije sa Ozrena) na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

Rezultati klaster analize pokazuju da su sadržaj ispitivanih fenolnih jedinjenja, kao i njegova varijabilnost, u velikom stepenu slični kod jedinki iz sve tri populacije, sa tendencijom izdvajanja populacije sa Avale koja je više izdvojena na dendogramu (Slika 91).



Slika 91. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za tri populacije vrste *P. spinosa*

4.5.4. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima *C. mas*

Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja (označenih kao svojstvo) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *C. mas* prikazani su u Tabeli 6. Analizom podataka utvrđeno je da 7 od 180 podataka (3,9%) predstavljaju autlajere, tako da su oni u narednim analizama tretirani kao suplementi.

Prvi korak u analizi dobijenih rezultata, primenom hi-kvadrat i Levenov-og testa, odnosio se na utvrđivanje da li je distribucija svake varijable normalno ili približno normalno raspoređena, i da li postoji homogenost njihovih varijansi. Pomoću parametarskih i neparametarskih testova utvrđivano je da li postoji statistička značajnost razlika između populacija za pojedino svojstvo zavisno od toga da li vrednosti svojstva ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenost varijansi. Analiza dobijenih rezultata pokazala je da postoje statistički značajne razlike među populacijama za svojstvo s1, sadržaj neohlorogene kiseline ($F_{2,27} = 7,76; p < 0,05$), s2, sadržaj kvercetin-glukuronida ($F_{2,27} = 6,88; p < 0,05$), s3, sadržaj kvercetin-galaktozida ($F_{2,27} = 3,89; p < 0,05$), s4, sadržaj kvercetin-rutinozida ($F_{2,27} = 6,77; p < 0,05$) i za s5, sadržaj kvercetin-glukozida ($F_{2,27} = 6,53; p < 0,05$) (Slika 92). Za svih pet navedenih svojstava najveće vrednosti pokazuje populacija sa Zlatarskog jezera i Ozrena (među njima nema statistički značajne razlike), a najmanje vrednosti populacija sa Avale. Sadržaj kvercetin-3-O-ramnozida (s6) je bio izuzetno nizak, u plodovima jedinki sa Avale nije ni detektovan, dok je kod većine ostalih njegova koncentracija bila nedovoljna za kvantifikaciju (samo kod 7 plodova je bilo moguće utvrditi njegov sadržaj koji nije prelazio vrednosti od 0,5 µg/g SvT).

Dalja statistička obrada rezultata obuhvatila je analizu glavnih komponenti. Rezultati PCA su pokazali da prve tri ose objašnjavaju 91,97% ukupne varijabilnosti, pri čemu je doprinos prve ose najveći (64,99%). Ukupnoj varijabilnosti druga komponenta doprinosi sa 16,73%, a treća sa 10,25%. Prve dve ose objašnjavaju ukupno 81,72% ukupne varijabilnosti, sa ajgenvrednostima > 1 . Na osnovu sume kvadriranih korelacija u planu 1-2 (suma $r^2 > 0,8$) uočava se da su najbolje reprezentovana svojstva s5 (sadržaj kvercetin-glukozida), s2 (kvercetin-glukuronida), s3 (kvercetin-galaktozida) i s4 (kvercetin-rutinozida).

Tabela 6. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartilne razlike i min-max) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *C. mas*

| lokalitet | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-Gal (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------|
| Avala | ^A 9,98 (8,33) ^b | 4,45 (1,50) ^b | 3,01 (2,30) ^b | 1,89 (1,03) ^b | 1,89 (1,28) ^b | 0,0 (0,0) |
| | ^B 6,7 (3,8-17,2) | 4,4(2,9-5,6) | 2,4 (1,0-5,3) | 2,3 (0,8-2,7) | 1,6 (0,7-3,0) | 0,0 (0,0-0,0) |
| | [0,9-24,1] | [2,7-6,9] | [0,3-6,7] | [0,3-2,9] | [0,2-4,1] | [0,0-0,0] |
| Zlatarsko jezero | 30,82 (16,94) ^a | 121,35 (99,18) ^a | 7,35 (4,66) ^a | 7,39 (5,09) ^a | 5,61 (3,73) ^a | 0,09 (0,16) |
| | 24,9 (20,6-31,8) | 102,6 (39-170) | 6,3 (3,8-10,4) | 6,3 (3,1-10,8) | 4,5 (2,8-9,2) | 0,001 (0,001-0,1) |
| | [14,4-72,3] | [27,3-306,2] | [1,1-14,9] | [2,4-18,2] | [1,3-11,4] | [0,001-0,5] |
| Ozren | 25,34 (9,73) ^a | 117,61 (96,98) ^a | 6,64 (3,85) ^a | 6,72 (3,59) ^a | 5,38 (2,10) ^a | 0,07 (0,10) |
| | 25 (19,6-28,33) | 75,4 (33,2-198,6) | 6,25 (3,5-9,4) | 5,9 (3,1-9,5) | 4,9 (3,3-7,7) | 0,001 (0,001-0,1) |
| | [11,9-45,1] | [25,3-284,4] | [1,5-13,7] | [2,4-12,9] | [2,6-8,3] | [0,001-0,3] |
| poređenja | ^C $F_{2,27} = 7,76^*$ | $F_{2,27} = 6,88^*$ | $F_{2,27} = 3,89^*$ | $F_{2,27} = 6,77^*$ | $F_{2,27} = 6,53^*$ | ns |
| tri lokaliteta zajedno | 22,05 (14,85) | 81,14 (94,95) | 5,67 (4,09) | 5,33 (4,31) | 4,29 (3,03) | 0,05 (0,11) |
| | 21,7 (13,7-25,6) | 36,1 (5,6-158,1) | 4,4 (2,9-8,8) | 3,1 (2,6-8,6) | 3,25 (1,7-5,8) | 0,001 (0,001-0,1) |
| | [0,9-72,3] | [2,7-306,2] | [0,3-14,9] | [0,3-18,2] | [0,2-11,4] | [0,001-0,5] |

Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=30$ (1 vrsta x 3 lokaliteta x 10 individua = 30), ukupno numeričkih podataka= 180 ($n=30 \times 6$ svojstava = 180)

^A = srednja vrednost (standardna devijacija)

^B = medijana (interkvartilna razlika-IQR) [min-max]

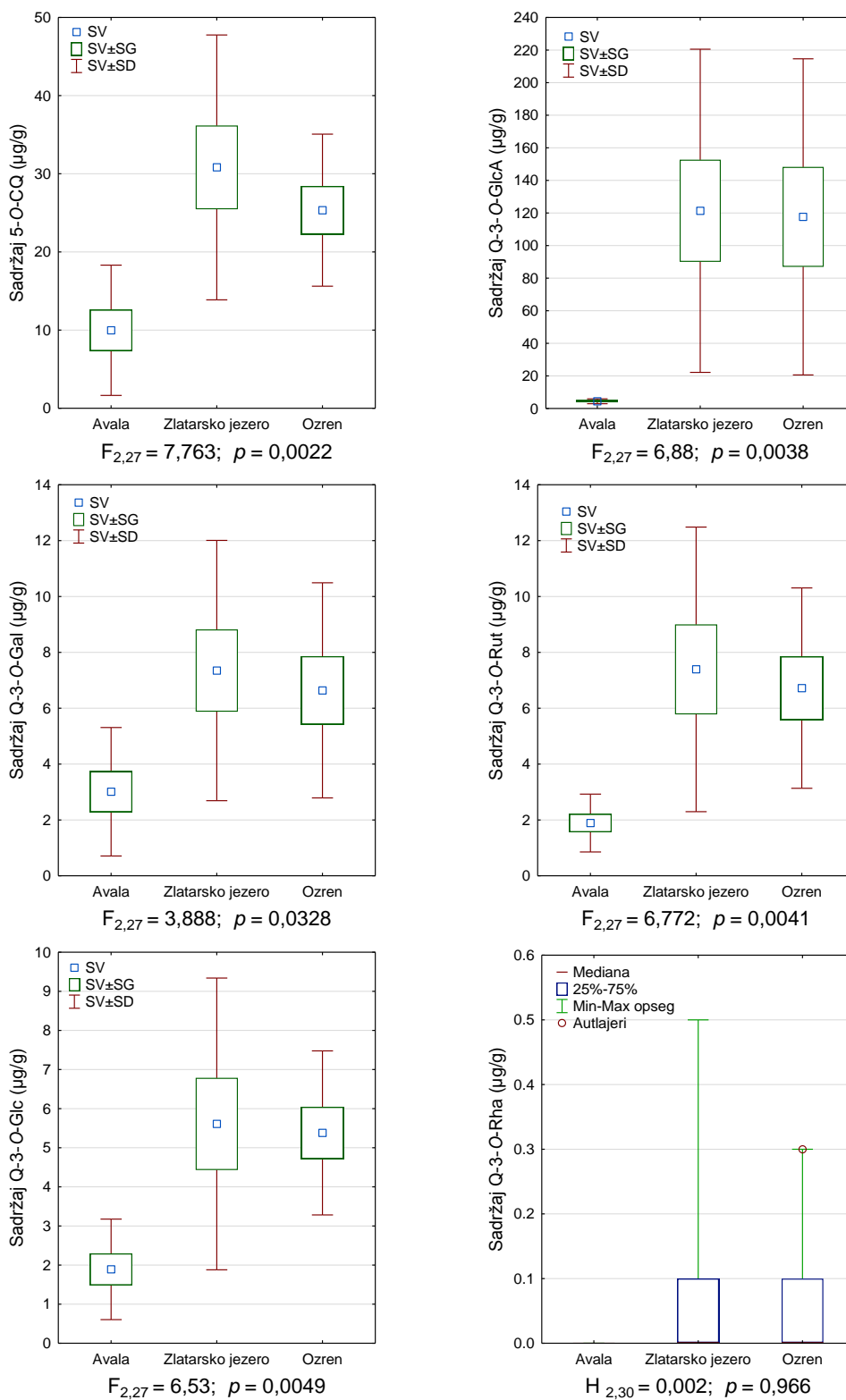
^C = F -pokazatelj (ANOVA) sa brojevima stepeni slobode

^D = H -pokazatelj (Kruskal-Wallis test) sa brojevima stepeni slobode

ns = nesignifikantna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p > 0,05$)

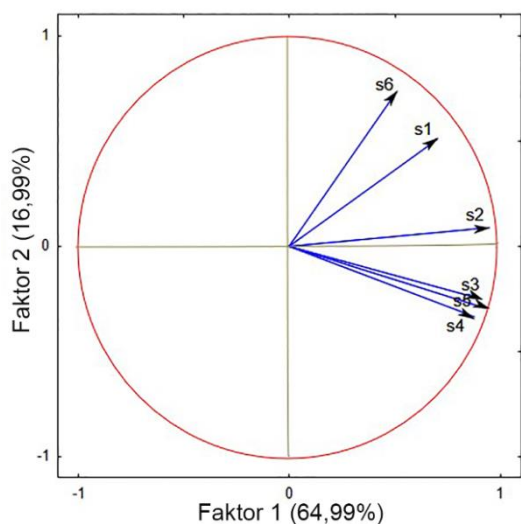
* = statistički značajna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p \leq 0,05$)

^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među lokalitetima

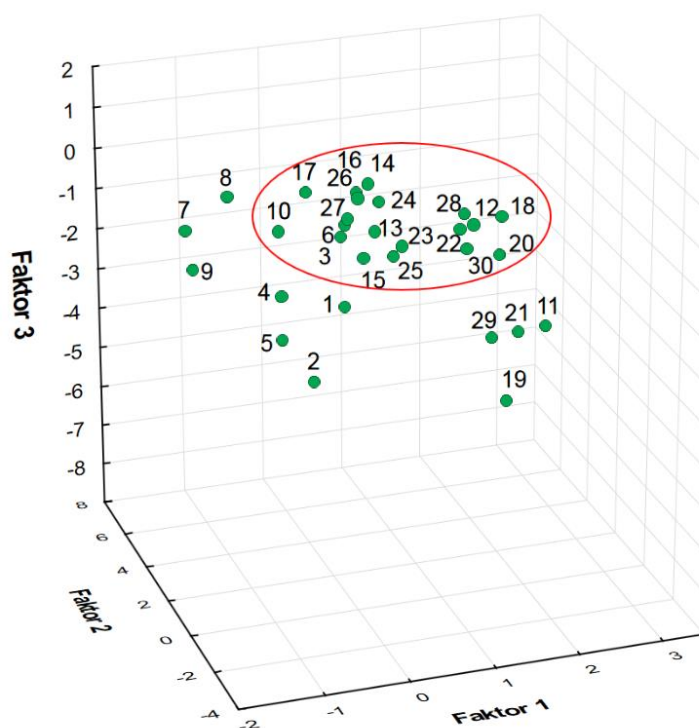


Slika 92. Uporedna analiza populacija dreva na osnovu srednjih vrednosti (ANOVA) ili medijana (Kruskal-Wallis test) sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja, zavisno od toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenost varijansi

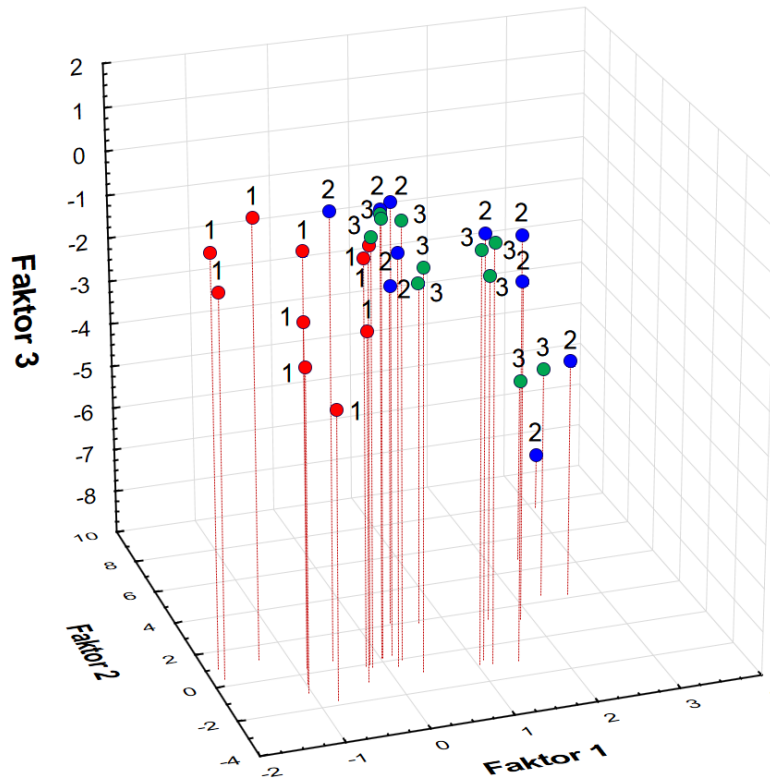
Na formiranje prve ose najviše utiču s2 (sadržaj kvercetin-glukuronida) i s5 (sadržaj kvercetin-glukozida). Na formiranje druge ose najviše utiče s6 (sadržaj kvercetin-ramnozida). Struktura analiziranih svojstava i njihovi odnosi grafički su predstavljeni na slici 93. Sva svojstva su međusobno pozitivno korelisana, a najveći stepen korelisanosti je između s3, s4 i s5. Tendencije među individuama i populacijama, njihova grupisanja, odnosno razdvajanja vidljiva su u prostoru prve tri PC ose (Slika 94 i 95). Loše su predstavljene tri individue: 3, 6 i 27 (suma \cos^2 za prve tri ose $< 0,5$). U prostoru prve tri ose može se uočiti grupa od 19 jedinki, dok je ostalih 11 raspoređeno oko njih (među njima dominiraju jedinke sa Avale).



Slika 93. Struktura svojstava (“loading plot“) određena pomoću analize glavnih komponenti (PCA, faktor 1-2) kod jedinki vrste *C. mas* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)

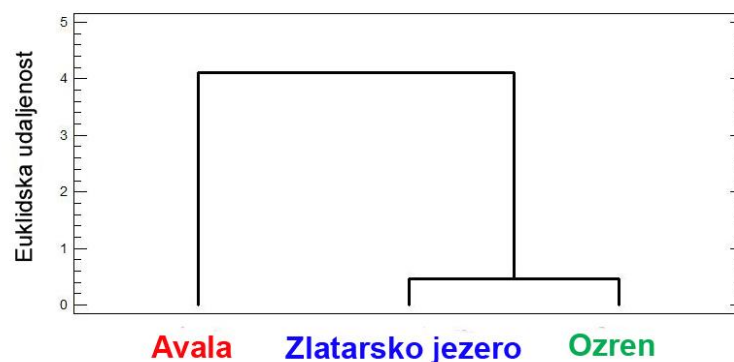


Slika 94. Položaj (“score plot“) u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih individua *C. mas* (1-30) određen na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja



Slika 95. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) populacija *C. mas* (1: jedinke iz populacije sa Avale, 2: populacije sa Zlatarskog jezera, 3: populacije sa Ozrena) na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

Klaster analiza je pokazala da su populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena međusobno slične, kao i da se jasno izdvaja populacija sa Avale, što je uočljivo na prikazanom dendrogramu (Slika 96).



Slika 96. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za tri populacije vrste *C. mas*

4.5.5. Varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima *C. sanguinea*

Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike šest svojstava analiziranih kod tri populacije *C. sanguinea* prikazani su u Tabeli 7. Ispitivanjem podataka detektovano je 6,7% autlajera (12 od 180 podataka) koji su u naknadnoj PCA tretirani kao suplementi.

Međusobno poređenje populacija za pojedino svojstvo vršeno je poređenjem njihovih srednjih vrednosti (ANOVA) ili medijana (Kruskal-Wallis test), zavisno od toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenost varijansi. Utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike među populacijama samo za svojstvo s4, sadržaj kvercetin-rutinozida ($F_{2,27} = 6,35; p < 0,05$) (Slika 97). Sadržaj ovog jedinjenja je najveći u plodovima jedinki populacije sa Ozrena i Zlatarskog jezera (među njima nema statistički značajne razlike), a najmanji u populaciji sa Avale.

Analiza glavnih komponenti je izvršena na standardizovanom setu podataka i bila je usmerena na utvrđivanje i grafički prikaz strukture istraživanih svojstava. Rezultati PCA su pokazali da prva osa objašnjava 62,58%, druga 13,37%, a treća 9,28% inicijalne informacije. Na formiranje prve ose najviše utiče s3, sadržaj kvercetin-3-*O*-galaktozida. Na formiranje druge ose najviše utiču s4 (sadržaj kvercetin-rutinozida) i s1 (sadržaj neohlorogene kiseline). Struktura svojstava i njihovi odnosi vidljivi su na slici 98. Rezultati pokazuju da su sva svojstva međusobno pozitivno korelisana, a najveći stepen korelisanosti je između s5, s3 i s6. Takođe, visok stepen korelisanosti postoji između svojstava s1 i s4. Tendencije među individuama i populacijama, njihova grupisanja i razdvajanja vidljiva su u prostoru prve tri PC ose (Slika 99 i 100). Loše su predstavljene jedinke: 8, 10, 23 i 30 (suma \cos^2 za prve tri ose $< 0,5$). Od osnovne, relativno homogene grupe individua, izdvaja se 5 jedinki (tri su iz populacije sa Avale i po jedna iz druge dve populacije).

Tabela 7. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartilne razlike i min-max) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *C. sanguinea*

| lokalitet | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-Gal (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|------------------------|--|--|-------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| Avala | ^A 4,44 (5,86) | 868,29 (311,21) | 151,71 (166,86) | 20,72 (18,77) ^b | 197,91 (164,70) | 0,17 (0,09) |
| | ^B 2,6 (1,4-4,4) [0,3-20,5] | 816 (614,1-979,3) [575,9-1575,8] | 106,7 (51-141,5) [18,8-575,4] | 13,1 (8,9-32,7) [3,7-65,7] | 163,9 (101,1-197,4) [28,9-594,5] | 0,15 (0,1-0,2) [0,1-0,4] |
| Zlatarsko jezero | 7,05 (5,10) | 1090,82 (383,02) | 333,08 (327,71) | 45,56 (31,25) ^a | 390,27 (311,62) | 0,30 (0,30) |
| | 6,2 (2,7-8,5) [1,5-17,6] | 1013,1 (758,5-1351,5) [571-1759,4] | 203,7 (118,5-470,5) [31,1-912,1] | 59,4 (33,8-65,4) [14,2-118,1] | 259,3 (172,2-659,9) [74,9-900,2] | 0,25 (0,1-0,3) [0,001-1,1] |
| Ozren | 5,79 (2,99) | 988,39 (327,31) | 309,52 (294,72) | 51,07 (17,53) ^a | 374,24 (232,71) | 0,29 (0,30) |
| | 5,45 (3,3-7,3) [2,2-10,9] | 974,1 (792,6-1172,4) [498,6-1625,3] | 188,9 (104,2-445,1) [54,9-889,7] | 54,8 (38,9-55,5) [24,5-77,6] | 255,4 (228,4-683) [105,5-715,7] | 0,2 (0,1-0,3) [0,1-1,1] |
| poređenja | ns | ns | ns | ^C $F_{2,27} = 6,35^*$ | ns | ns |
| tri lokaliteta zajedno | 5,76 (4,76) | 982,50 (342,62) | 264,77 (275,02) | 42,12 (27,32) | 320,81 (251,43) | 0,25 (0,25) |
| | 4,3 (2,5-7,4) [0,3-20,5] | 918,8 (735,1-1172,4) [498,6-1759,4] | 275,02 (75,2-285,8) [18,8-912,1] | 36,6 (16,3-61,1) [3,7-118,1] | 224,7 (151,6-359,5) [28,9-900,2] | 0,2 (0,1-0,3) [0,001-1,1] |

Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=30$ (1 vrsta x 3 lokaliteta x 10 individua = 30), ukupno numeričkih podataka= 180 ($n=30 \times 6$ svojstava = 180)

^A = srednja vrednost (standardna devijacija)

^B = medijana (interkvartilna razlika-IQR) [min-max]

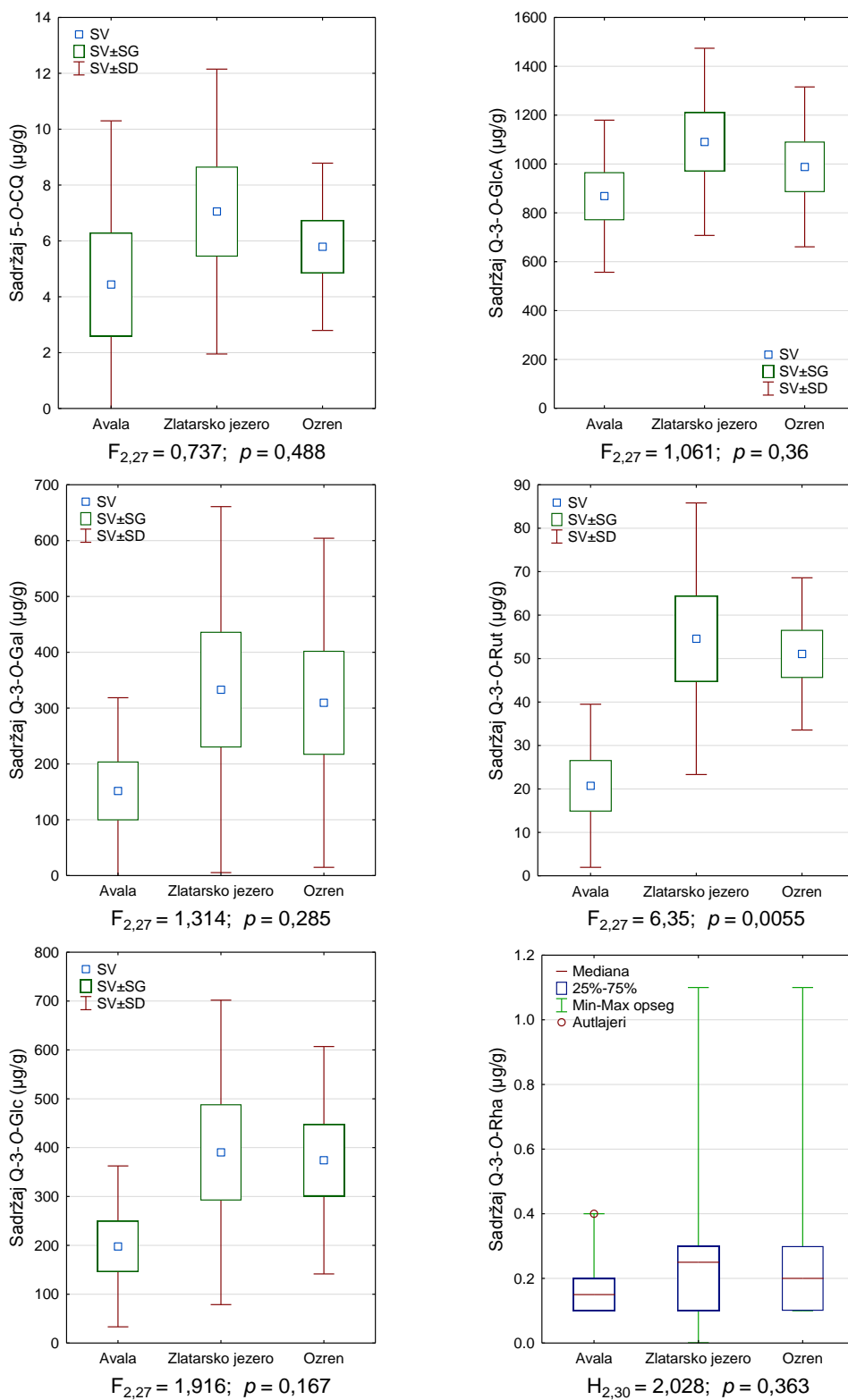
^C = *F*-pokazatelj (ANOVA) sa brojevima stepeni slobode

^D = *H*-pokazatelj (Kruskal-Wallis test) sa brojevima stepeni slobode

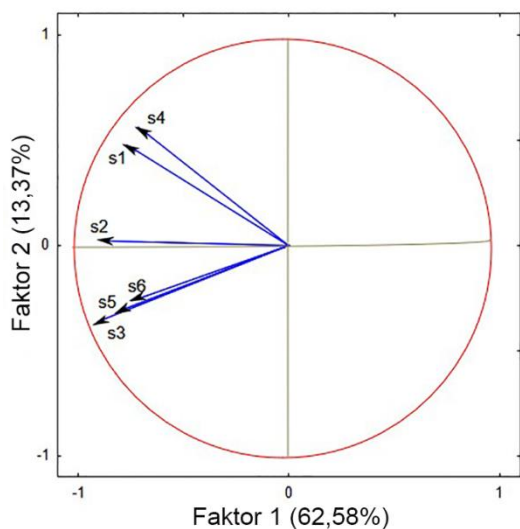
ns = nesignifikantna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p > 0,05$)

* = statistički značajna razlika između srednjih vrednosti ili medijana ($p \leq 0,05$)

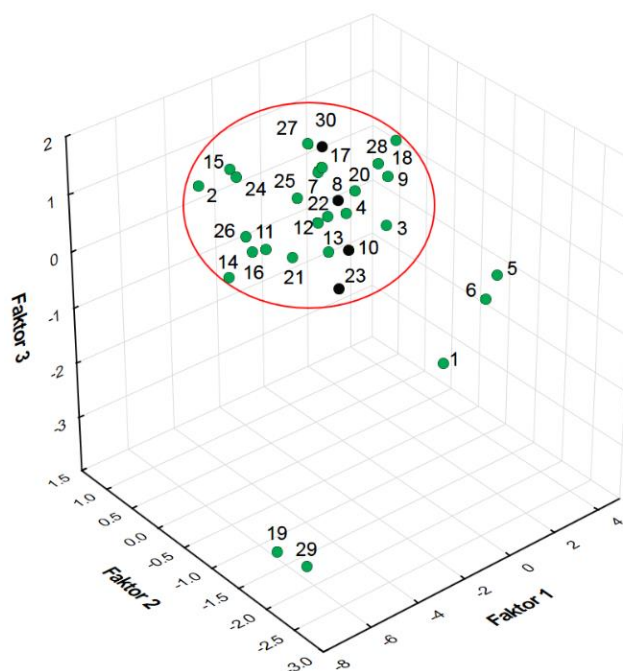
^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među lokalitetima



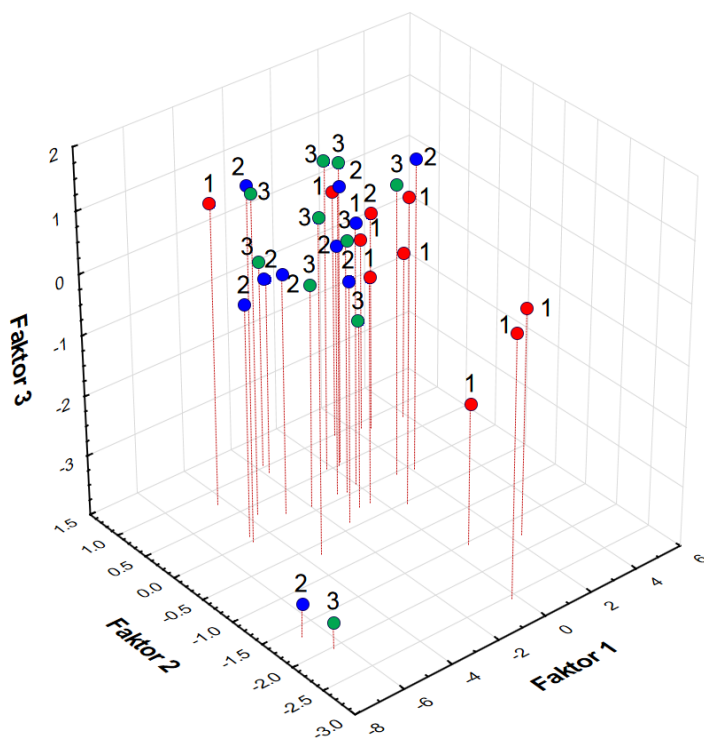
Slika 97. Uporedna analiza populacija sviba na osnovu srednjih vrednosti (ANOVA) ili medijana (Kruskal-Wallis test) sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja, zavisno od toga da li vrednosti svojstva prethodno ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenost varijansi



Slika 98. Struktura svojstava (“loading plot”) određena pomoću analize glavnih komponenti (PCA, faktor 1-2) kod jedinki vrste *C. sanguinea* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)

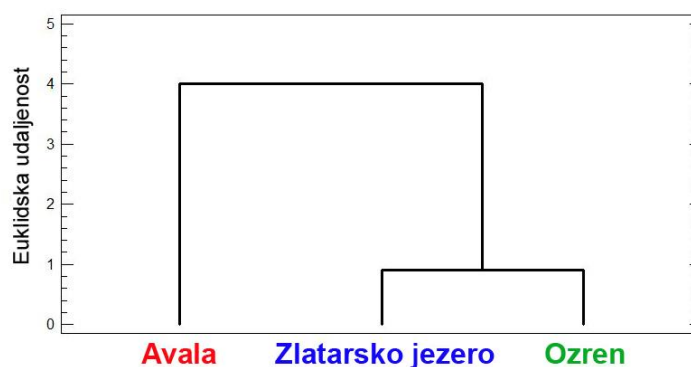


Slika 99. Položaj (“score plot”) u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih individua *C. sanguinea* (1-30) određen na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja



Slika 100. Razdvajanje u prostoru prve PC ose (faktor 1-3) populacija *C. sanguinea* (1: jedinke iz populacije sa Avale, 2: populacije sa Zlatarskog jezera, 3: populacije sa Ozrena) na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

Klaster analiza je pokazala da su populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena međusobno slične, kao i da se izdvaja populacija sa Avale, što je uočljivo na prikazanom dendogramu (Slika 101).



Slika 101. Dendogram (euklidske udaljenosti) za tri populacije vrste *C. sanguinea*

4.5.6. Uporedna analiza varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima predstavnika familije Rosaceae (*R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa*)

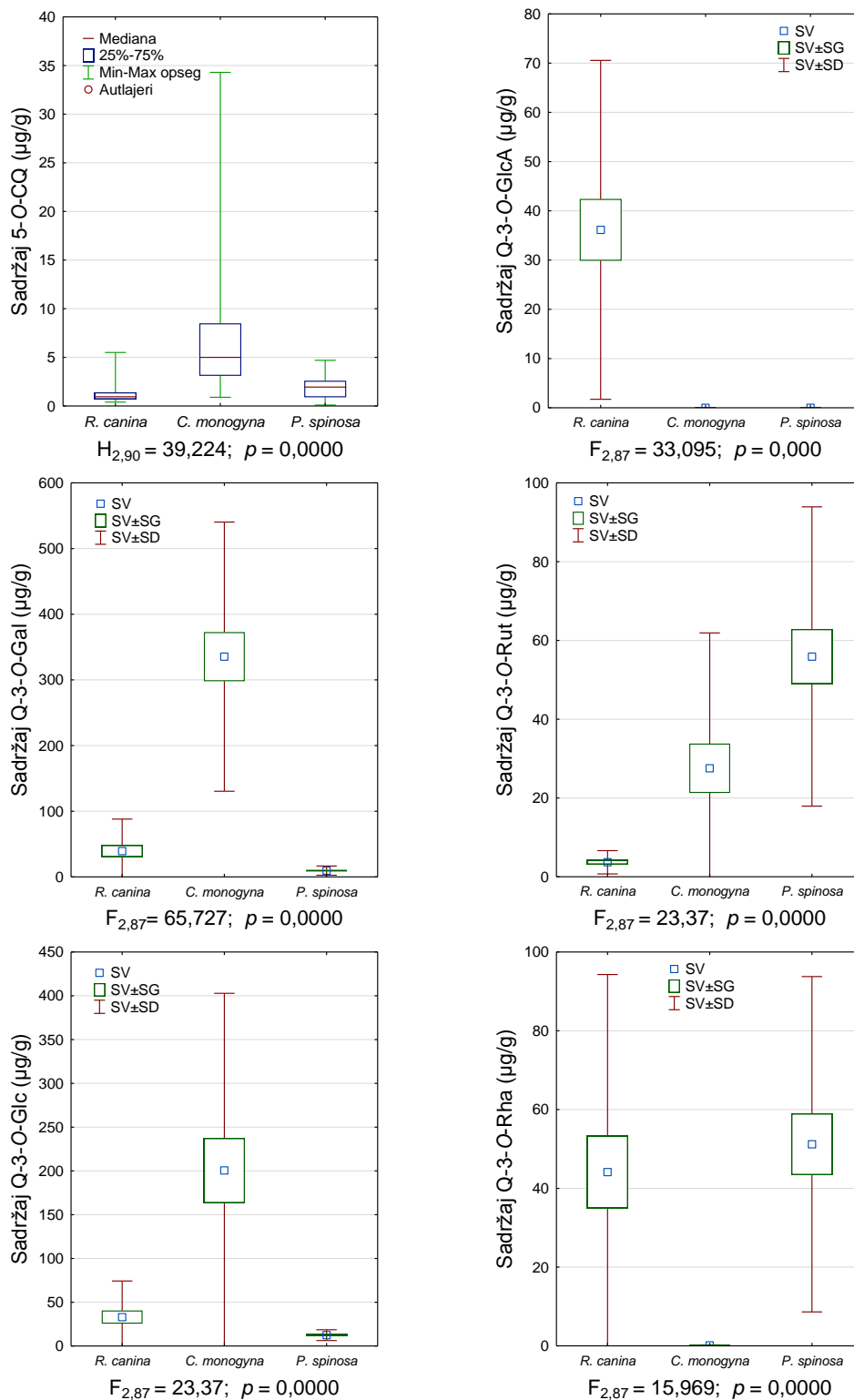
Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti i standardne devijacije) šest svojstava analiziranih kod *R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa* prikazani su u Tabeli 8. Ispitivanjem podataka detektovano je 5,4% autlajera (29 od 540 podataka) koji su u naknadnoj PCA tretirani kao kao suplementi.

Međusobno poređenje populacija za pojedino svojstvo vršeno je poređenjem njihovih srednjih vrednosti (ANOVA II). Utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike među vrstama, među populacijama i u njihovoj interakciji za s1 (sadržaj neohlorogene kiseline), s2 (kvercetin-glukuronida), s3 (kvercetin-galaktozida) i s5 (kvercetin-glukozida). Za s4 (sadržaj kvercetin-rutinozida) i s6 (sadržaj kvercetin-ramnozida) razlike su značajne samo između vrsta. Analizirani plodovi jedinki vrste *R. canina* sadrže veću količinu kvercetin-glukuronida i kvercetin-ramnozida u odnosu na ostale dve ispitivane vrste iz familije Rosaceae. Analizirani plodovi jedinki vrste *C. monogyna* bogatiji su u sadržaju kvercetin-galaktozida i kvercetin-glukozida, a plodovi jedinki vrste *P. spinosa* bogatiji su u sadržaju neohlorogene kiseline, kvercetin-rutinozida i kvercetin-ramnozida (Slika 102).

Tabela 8. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije koje pripadaju vrstama *R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa* (familija Rosaceae)

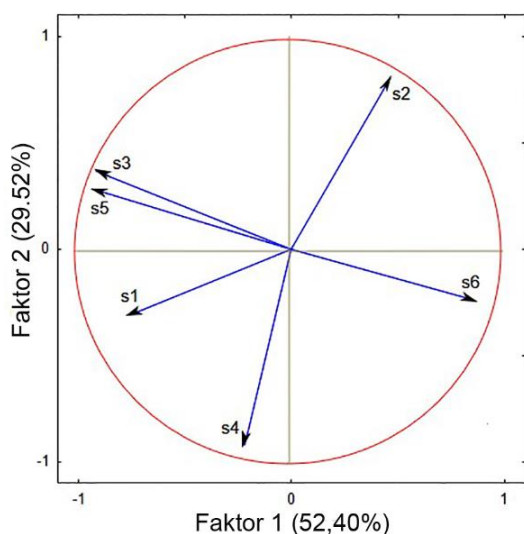
| faktor | nivo | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-GlcA (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|----------------------|--------------------|---------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| biljna vrsta (A) | <i>R. canina</i> | ^A 0,32 (0,13) ^c | 36,15 (34,42) ^a | 39,44 (48,65) ^b | 3,68 (2,95) ^b | 33,08 (41,21) ^b | 44,15 (50,14) ^a |
| | <i>C. monogyna</i> | 0,80 (0,12) ^b | 0,0 (0,0) ^b | 335,41 (204,96) ^a | 27,54 (34,37) ^b | 200,43 (202,39) ^a | 0,08 (0,11) ^b |
| | <i>P. spinosa</i> | 2,02 (1,29) ^a | 0,0 (0,0) ^b | 9,61 (7,02) ^b | 55,92 (37,99) ^a | 12,47 (6,14) ^b | 51,20(42,57) ^a |
| | | ^B $F_{2,81}=48,36^*$ | $F_{2,81}=53,00^*$ | $F_{2,81}=107,35^*$ | $F_{2,81}=65,89^*$ | $F_{2,81}=28,62^*$ | $F_{2,81}=16,51^*$ |
| lokalitet (B) | Avala | 3,16 (4,97) ^b | 7,15 (12,14) ^b | 165,21 (245,08) ^a | 30,95 (36,90) | 118,48 (216,26) ^a | 21,08 (27,09) |
| | Zlatarsko jezero | 4,74 (6,42) ^a | 22,37 (40,2) ^a | 145,81 (180,21) ^{ab} | 28,82 (45,42) | 92,84 (108,94) ^a | 42,89 (63,04) |
| | Ozren | 2,93 (5,29) ^b | 6,64 (12,54) ^b | 73,45 (118,97) ^b | 27,37 (24,83) | 34,67 (47,25) ^b | 31,45 (30,97) |
| | | $F_{2,81}=6,25^*$ | $F_{2,81}=9,72^*$ | $F_{2,81}=6,01^*$ | ns | $F_{2,81}=4,97^*$ | ns |
| interakcija (AxB) | | $F_{4,81}=4,23^*$ | $F_{4,81}=9,72^*$ | $F_{4,81}=6,00^*$ | ns | $F_{4,81}=5,06^*$ | ns |

Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=90$ (3 vrste x 3 lokaliteta x 10 individua = 90), ukupno numeričkih podataka= 540 ($n=90$ x 6 svojstava = 540). U poređenju srednjih vrednosti primenjena je dvo-faktorska analiza varijanse (ANOVA II). Faktor A (vrsta biljke) sa 3 nivoa: vrsta 1 (*R. canina*), vrsta 2 (*C. monogyna*), vrsta 3 (*P. spinosa*), faktor B (lokalitet) sa 3 nivoa: Avala, Zlatarsko jezero i Ozren i njihove interakcije. ^A = srednja vrednost (standardna devijacija); ^B = *F*-test pokazatelj sa brojevima stepeni slobode; ns = nesignifikantna razlika između srednjih vrednosti populacija ($p > 0,05$); * = statistički značajna razlika ($p \leq 0,05$). ^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među lokalitetima. Radi lakšeg poimanja predstavljeni su original podaci (ne-transformisani), dok je ANOVA vršena na transformisanim podacima.

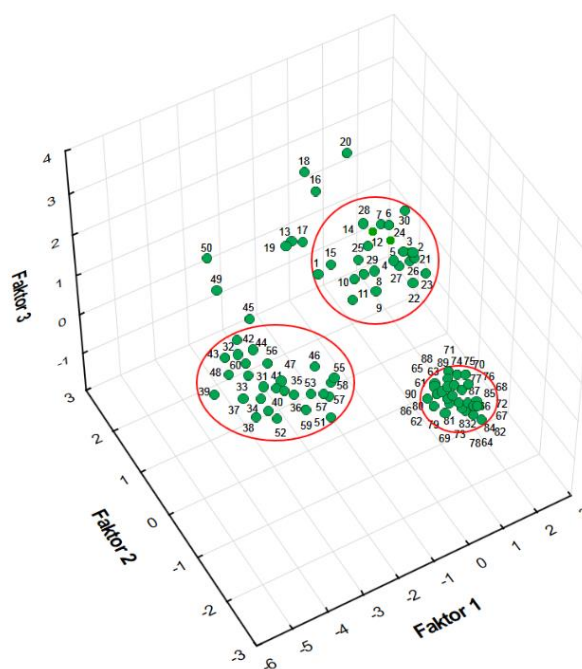


Slika 102. Uporedna analiza sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja u plodovima šipurka, belog gloga i trnjine na osnovu srednjih vrednosti ili medijana, zavisno od toga da li vrednosti svojstva ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenosti varijansi

Rezultati PCA su pokazali da prva osa objašnjava 52,39%, druga 29,52%, a treća 8,22% inicijalne informacije i da prve dve ose pokazuju ajgen vrednosti >1 . Na osnovu sume kvadriranih korelacija u planu 1-2 (suma $r^2 > 0,8$) može se zaključiti da su najbolje reprezentovana s3 (sadržaj kvercetin-galaktozida), s5 (kvercetin-glukozida), s2 (kvercetin-glukuronida) i s4 (kvercetin-rutinozida). Nešto slabije su predstavljena s1 (sadržaj neohlorogena kiselina) i s6 (sadržaj kvercetin-ramnozida) (suma r^2 0,6 - 0,8). Na formiranje prve ose PC1 najviše utiču s5 (sadržaj kvercetin-glukozida), s3 (kvercetin-galaktozida) i s6 (kvercetin-ramnozida). Na formiranje druge ose najviše utiče s4 (sadržaj kvercetin-rutinozida). Struktura svojstava i njihovi odnosi prikazani su na slici 103. Najveći stepen pozitivne korelisanosti je između svojstava s3 i s5. Uočljivo je i postojanje negativne korelacije između svojstva s1 sa s2 i s6. Tendencije među jedinkama, njihova grupisanja i razdvajanja mogu se uočiti u prostoru prve tri PC ose (Slika 104). Sve jedinke su dobro predstavljene na planu prve tri ose. Kod *R. canina* 7 jedinki (6 iz populacije sa Zlatarskog jezera i jedna iz populacije sa Avale) se razlikuje od ostalih koje su grupisane. Kod *C. monogyna* samo dve jedinke (obe iz populacije sa Avale) se razlikuju od ostalih koje su grupisane. Uočljivo je da su jedinke koji pripadaju vrsti *P. spinosa* mnogo kompaktnije raspoređene u prostoru prve tri ose (Slika 105).

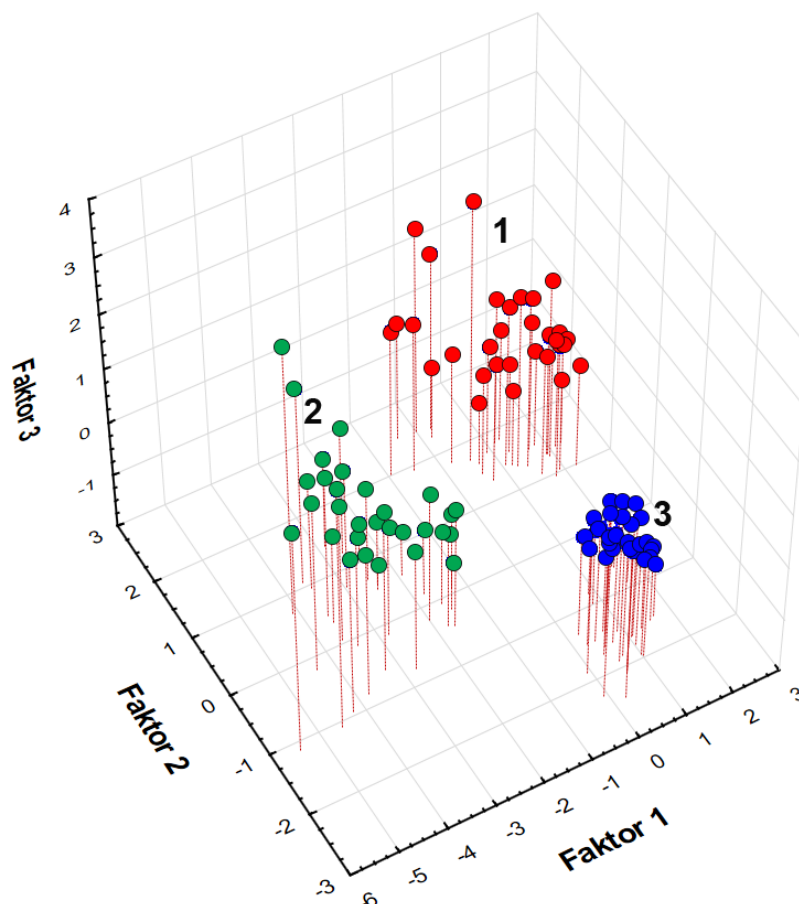


Slika 103. Struktura svojstava (“loading plot”) određena pomoću analize glavnih



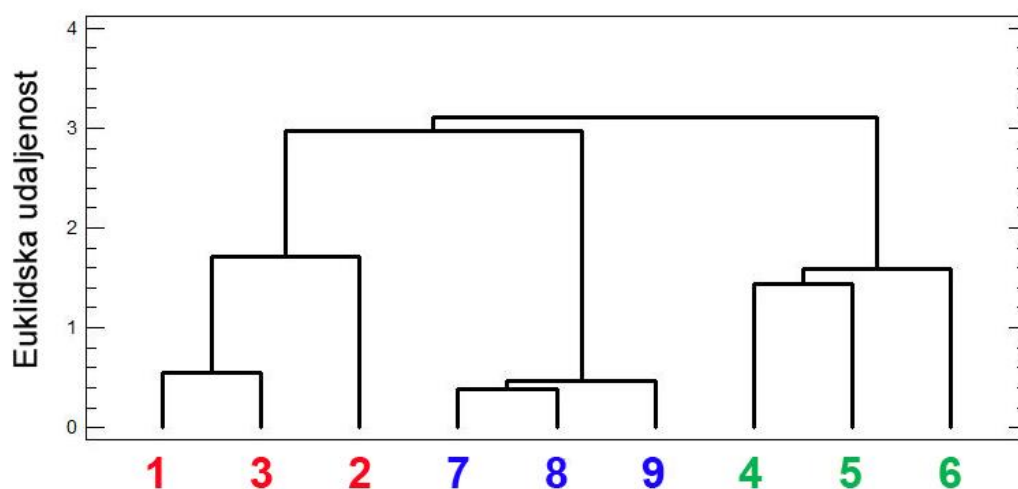
Slika 104. Položaj (“score plot”) u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih jedinki vrsta *R.*

komponenti (PCA, faktor 1-2) kod jedinki *R. canina* (1-30), *C. monogyna* (31- 60) i *P. spinosa* (61-90) određen na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)

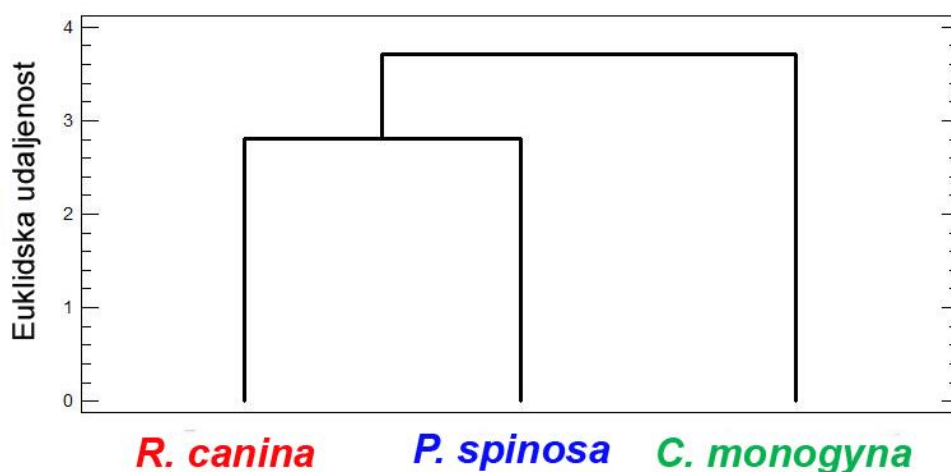


Slika 105. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih jedinki *R. canina* (1); *C. monogyna* (2) i *P. spinosa* (3) na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja

Klaster analiza je pokazala različit stepen izdvajanja populacija, dok su vrste jasno izdvojene (Slika 106 i 107). Na prikazanom dendogramu uočljivo je da su vrste *R. canina* i *P. spinosa* međusobno sličnije u odnosu na *C. monogyna*.



Slika 106. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za populacije vrsta *R. canina* (1 - Avala, 2 - Zlatarsko jezero, 3 - Ozren), *C. monogyna* (4 - Avala, 5- Zlatarsko jezero, 6 - Ozren) i *P. spinosa* (7 - Avala, 8 - Zlatarsko jezero, 9 - Ozren)



Slika 107. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za vrste *R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa* (Rosaceae)

4.5.7. Uporedna analiza varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima predstavnika familije Cornaceae (*C. mas* i *C. sanguinea*)

Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti i standardne devijacije) za šest svojstava analiziranih kod *C. mas* i *C. sanguinea* prikazani su u Tabeli 9. Ispitivanjem podataka detektovano je 3,9% autlajera (14 od 360 podataka) koji su u naknadnoj PCA tretirani kao suplementi.

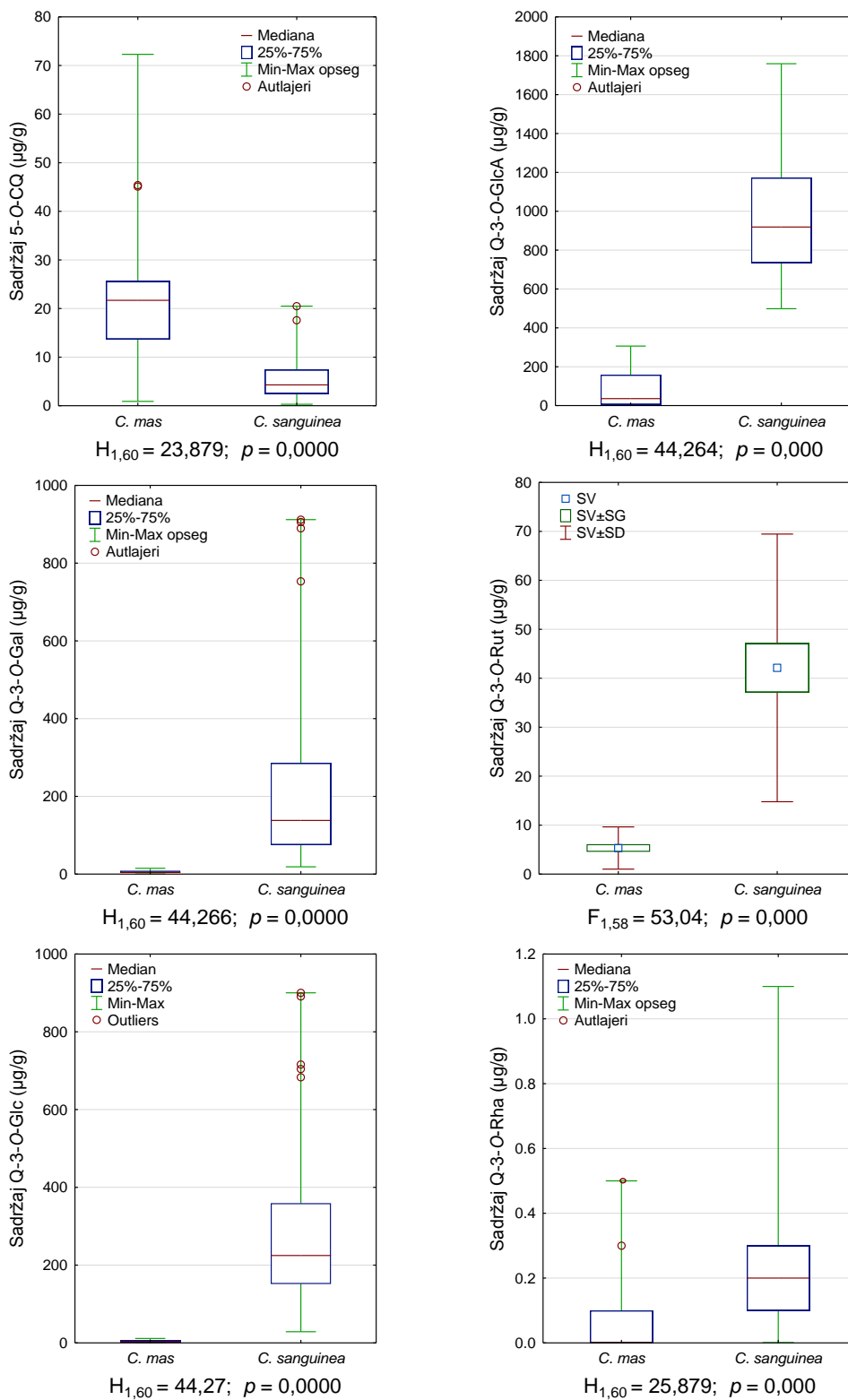
Tabela 9. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije koje pripadaju vrstama *C. mas* i *C. sanguinea* (familija Cornaceae)

| faktor | nivo | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-GlcA (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|----------------------|---------------------|---|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|--------------------------|
| biljna vrsta (A) | <i>C. mas</i> | ^A 22,05 (14,85) ^a | 81,14 (94,96) ^b | 5,67 (4,09) ^b | 5,33 (4,31) ^b | 4,29 (3,03) ^b | 0,05 (0,11) ^b |
| | <i>C. sanguinea</i> | 5,76 (4,76) ^b | 982,5 (342,62) ^a | 264,77 (275,02) ^a | 42,12 (27,32) ^a | 320,81 (251,43) ^a | 0,25 (0,25) ^a |
| | | ^B $F_{1,54}=90,54^*$ | $F_{1,54}=197,66^*$ | $F_{1,54}=27,20^*$ | $F_{1,54}=72,65^*$ | $F_{1,54}=16,27^*$ | $F_{1,54}=25,02^*$ |
| lokalitet (B) | Avala | 7,21 (7,56) ^b | 436,37 (492,19) | 77,36 (137,88) | 11,31 (16,15) ^b | 99,90 (151,53) ^b | 0,08 (0,11) |
| | Zlatarsko jezero | 18,93 (17,23) ^a | 606,08 (567,00) | 170,21 (280,72) | 30,97 (32,56) ^a | 197,94 (291,45) ^a | 0,19 (0,26) |
| | Ozren | 15,56 (12,23) ^a | 553,00 (504,72) | 158,08 (255,53) | 28,89 (25,87) ^a | 189,81 (247,91) ^a | 0,18 (0,24) |
| | | $F_{1,54}=7,94^*$ | ns | ns | $F_{1,54}=8,36^*$ | $F_{1,54}=7,57^*$ | ns |
| interakcija (AxB) | | $F_{2,54}=7,58^*$ | ns | ns | $F_{1,54}=4,36^*$ | $F_{1,54}=5,37^*$ | ns |

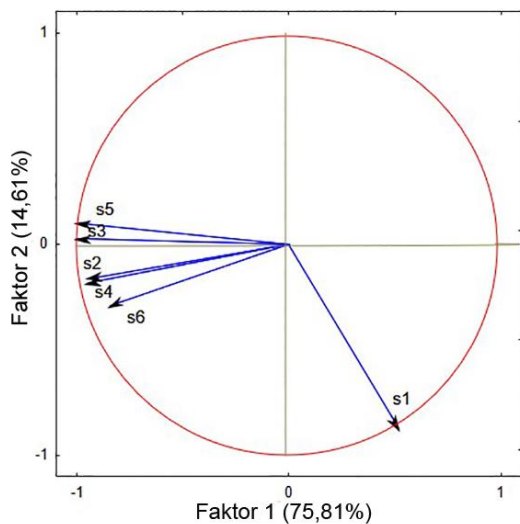
Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=60$ (2 vrste x 3 lokaliteta x 10 individua = 60), ukupno numeričkih podataka= 540 ($n=60 \times 6$ svojstava = 360). U poređenju srednjih vrednosti primenjena je dvo-faktorska analiza varijanse (ANOVA II). Faktor A (vrsta biljke) sa 2 nivoa: vrsta 1 (*C. mas*), vrsta 2 (*C. sanguinea*), faktor B (lokalitet) sa 3 nivoa: Avala, Zlatarsko jezero i Ozren i njihove interakcije. ^A = srednja vrednost (standardna devijacija); ^B = *F*-test pokazatelj sa brojevima stepeni slobode; ns = nesignifikantna razlika između srednjih vrednosti populacija ($p > 0,05$); * = statistički značajna razlika ($p \leq 0,05$). ^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među vrstama i lokalitetima. Radi lakšeg poimanja predstavljeni su original podaci (ne-transformisani), dok je ANOVA vršena na transformisanim podacima.

Međusobno poređenje populacija za pojedino svojstvo vršeno je poređenjem njihovih srednjih vrednosti (ANOVA II). Rezultati ove analize su pokazali da postoje statistički značajne razlike među vrstama, među lokalitetima i u njihovoj interakciji za svojstva s1 (sadržaj neohlorogene kiseline), s4 (sadržaj kvercetin-rutinozida) i s5 (sadržaj kvercetin-glukozida). Plodovi jedinki koje pripadaju vrsti *C. sanguinea* u odnosu na vrstu *C. mas* su bogatiji u sadržaju svih analiziranih svojstava osim za svojstvo s1 (neohlorogena kiselina) (Slika 108).

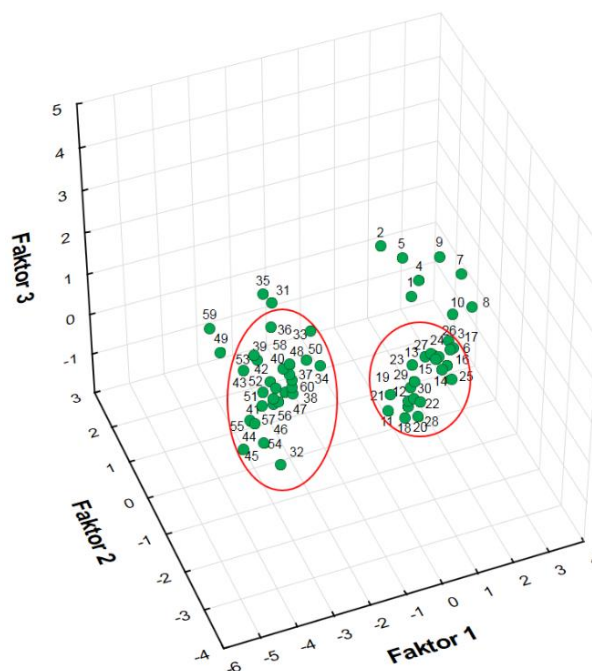
Analiza glavnih komponenti je izvršena na standardizovanom setu podataka i bila je usmerena na utvrđivanje i grafički prikaz strukture istraživanih svojstava. Rezultati PCA su pokazali da prva osa objašnjava 75,81%, druga 14,61%, a treća 5,42% inicijalne informacije (sve tri ose zajedno objašnjavaju 95,84% ukupne varijabilnosti). Samo prva osa pokazuje ajgenvrednosti >1 . Na osnovu sume kvadriranih korelacija u planu 1-2 (suma $r^2 > 0,8$) može se zaključiti da su najbolje reprezentovana s1 (sadržaj neohlorogene kiseline), s5 (kvercetin-glukozida), s3 (kvercetin-galaktozida), s2 (kvercetin-glukuronida) i s4 (kvercetin-rutinozida). Nešto slabije ($0,6 < \text{suma } r^2 < 0,8$) je predstavljeno s6 (sadržaj kvercetin-ramnozida). Na formiranje prve ose najviše utiču s3 (sadržaj kvercetin-galaktozida), s5 (kvercetin-glukozida) i s2 (kvercetin-glukuronida). Na formiranje druge ose najviše utiče s1 (sadržaj neohlorogene kiseline). Struktura svojstava i njihovi odnosi prikazani su na slici 109. Uočljiv je izuzetno visok stepen pozitivne korelisanosti između s2 i s4, kao i između s3 i s5, dok je s1 negativno korelisan sa ostalim svojstvima. Tendencije među jedinkama, njihova grupisanja i razdvajanja, prikazana su u prostoru prve tri PC ose (Slika 110 i 111). Sve jedinke su jako dobro predstavljene (suma \cos^2 za prve tri $> 0,8$). Kod vrste *C. mas* 8 jedinki se razlikuje od ostalih koje su grupisane i sve pripadaju populaciji sa Avale. Kod *C. sanguinea* 4 jedinke (2 iz populacije sa Avale) se razlikuju od ostalih koje se nalaze u relativno homogenoj grupi u prostoru prve tri ose. Opšti je utisak vrlo jasnog izdvajanja vrsta što potvrđuje i klaster analiza (Slika 112).



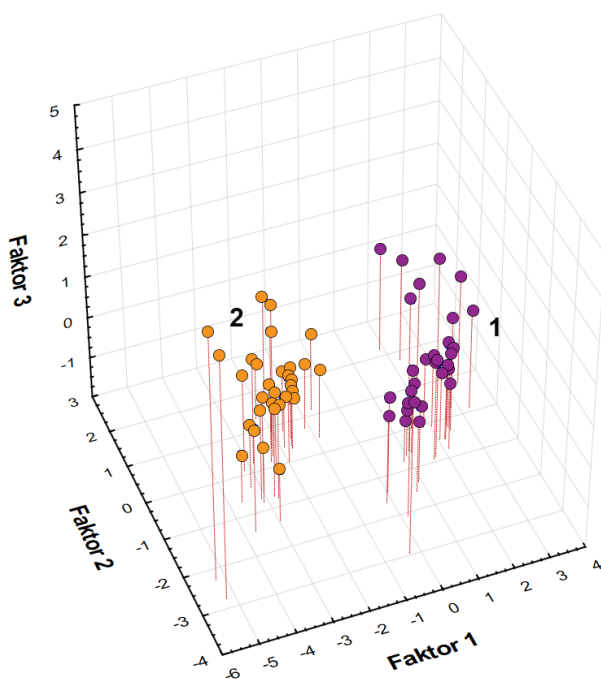
Slika 108. Uporedna analiza sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja u plodovima drena i sviba na osnovu srednjih vrednosti ili medijana, zavisno od toga da li vrednosti svojstva ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenosti varijansi



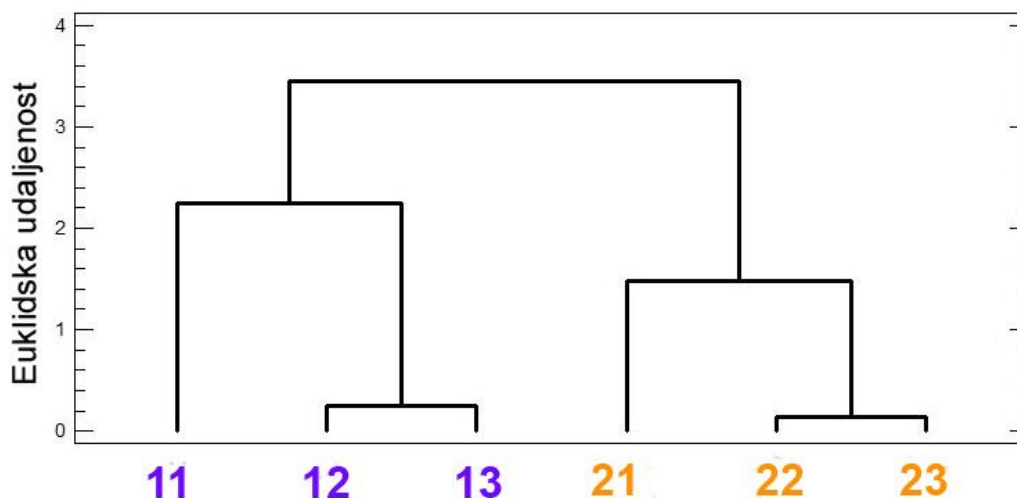
Slika 109. Struktura svojstava (“loading plot“) određena pomoću analize glavnih komponenti (PCA, faktor 1-2) kod jedinki vrsta *C. mas* i *C. sanguinea* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)



Slika 110. Položaj (“score plot“) u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) analiziranih jedinki vrsta *C. mas* (1-30) i *C. sanguinea* (31- 60) određen na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja



Slika 111. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose (faktor 1-3) jedinki vrsta *C. mas* (1) i *C. sanguinea* (2) na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja



Slika 112. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za populacije vrsta *C. mas* (11- Avala, 12- Zlatarsko jezero, 13- Ozren), *C. sanguinea* (21- Avala, 22- Zlatarsko jezero, 23- Ozren)

4.5.8. Uporedna analiza varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*

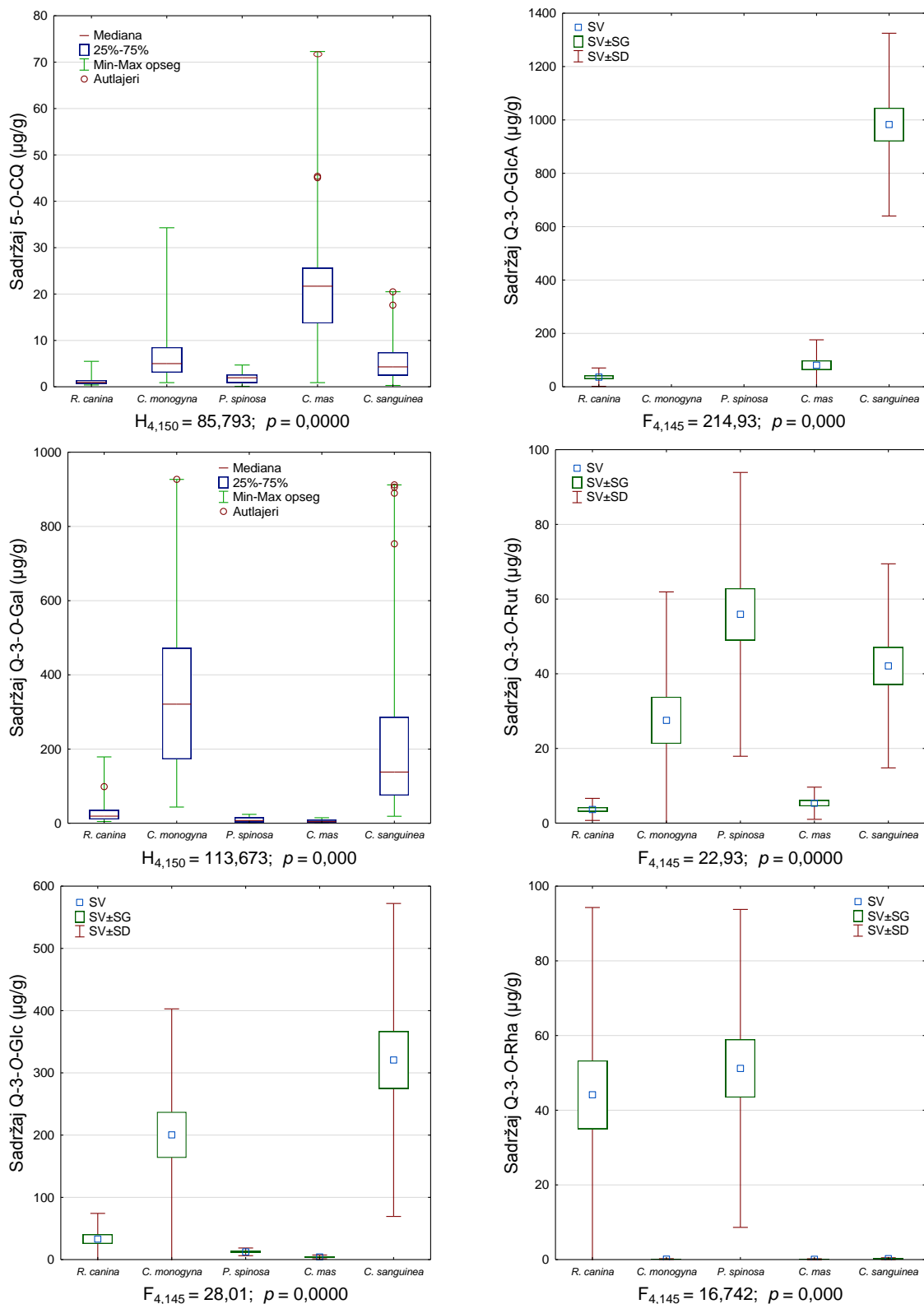
Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti i standardne devijacije) za šest svojstava analiziranih kod *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea* prikazani su u Tabeli 10. Ispitivanjem podataka detektovano je 3,2% autlajera (29 od 900 podataka) koji su u naknadnoj PCA tretirani kao suplementi.

Međusobno poređenje populacija za pojedino svojstvo vršeno je poređenjem njihovih srednjih vrednosti (ANOVA II). Utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike među vrstama za svako analizirano svojstvo (Slika 113). Razlike i među vrstama i među lokalitetima postoje za svojstva s1 (sadržaj neohlorogene kiseline), s4 (kvercetin-rutinozida) i s5 (kvercetin-glukozida). Takođe jasno se uočava da su plodovi jedinki koje pripadaju populaciji sa Zlatarskog jezera bogatiji u sadržaju neohlorogene kiseline, kvercetin-rutinozida i kvercetin-galaktozida.

Tabela 10. Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije) sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije koje pripadaju vrstama *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea*

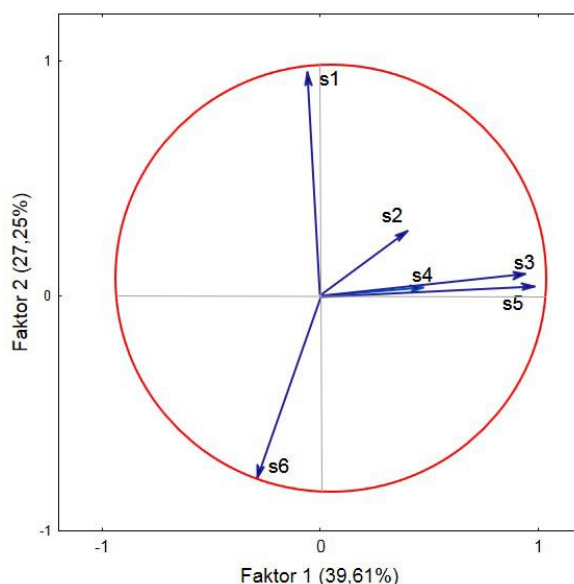
| faktor | nivo | 5-O-CQ (s1) | Q-3-O-GlcA (s2) | Q-3-O-GlcA (s3) | Q-3-O-Rut (s4) | Q-3-O-Glc (s5) | Q-3-O-Rha (s6) |
|----------------------|---------------------|---------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| biljna vrsta (A) | <i>R. canina</i> | ^A 1,23 (1,00) ^b | 36,15 (34,42) ^{cb} | 39,44 (48,65) ^b | 3,68 (2,95) ^c | 33,08 (41,21) ^b | 44,15 (50,14) ^a |
| | <i>C. monogyna</i> | 7,58 (8,27) ^b | 0,0 (0,0) ^c | 335,41 (204,96) ^a | 27,54 (34,37) ^c | 200,43 (202,39) ^a | 0,08 (0,11) ^b |
| | <i>P. spinosa</i> | 2,02 (1,29) ^b | 0,0 (0,0) ^c | 9,61 (7,02) ^b | 55,92 (37,99) ^a | 12,47 (6,14) ^b | 51,20(42,57) ^a |
| | <i>C. mas</i> | 22,05 (14,85) ^a | 81,14 (94,96) ^b | 5,67 (4,09) ^b | 5,33 (4,31) ^c | 4,29 (3,03) ^b | 0,05 (0,11) ^b |
| | <i>C. sanguinea</i> | 5,76 (4,76) ^b | 982,5 (342,62) ^a | 264,77 (275,02) ^a | 42,12 (27,32) ^b | 320,81 (251,43) ^b | 0,25 (0,25) ^b |
| | | ^B $F_{4,135}=88,17^*$ | $F_{4,135}=221,06^*$ | $F_{4,135}=38,71^*$ | $F_{4,135}=52,64^*$ | $F_{4,135}=32,17^*$ | $F_{4,135}=24,54^*$ |
| lokalitet (B) | Avala | 4,78 (6,39) ^b | 178,84 (373,05) | 130,07 (211,68) | 23,09 (31,65) ^b | 111,05 (191,49) ^a | 12,68 (23,29) |
| | Zlatarsko jezero | 10,42 (13,74) ^a | 255,85 (457,23) | 155,57 (223,43) | 29,68 (40,41) ^a | 134,88 (206,56) ^a | 25,81 (52,90) |
| | Ozren | 7,99 (10,66) ^a | 225,18 (414,70) | 107,30 (188,28) | 27,98 (25,00) ^a | 96,72 (176,20) ^b | 18,94 (37,32) |
| | | $F_{2,135}=9,19^*$ | ns | ns | $F_{2,135}=6,57^*$ | $F_{2,135}=4,84^*$ | ns |
| interakcija (AxB) | | $F_{8,135}=7,37^*$ | ns | $F_{8,135}=3,19^*$ | $F_{8,135}=2,16^*$ | $F_{8,135}=5,07^*$ | ns |

Veličina zbirnog uzorka (broj elemenata zbirnog uzorka), $n=150$ (5 vrsta x 3 lokaliteta x 10 individua = 150), ukupno numeričkih podataka= 900 ($n=150 \times 6$ svojstava = 900). U poređenju srednjih vrednosti primenjena je dvo-faktorska analiza varijanse (ANOVA II). Faktor A (vrsta biljke) sa 5 nivoa: vrsta 1 (*R. canina*), vrsta 2 (*C. monogyna*), vrsta 3 (*P. spinosa*), vrsta 4 (*C. mas*) i vrsta 5 (*C. sanguinea*); faktor B (lokalitet) sa 3 nivoa: Avala, Zlatarsko jezero i Ozren i njihove interakcije. ^A = srednja vrednost (standardna devijacija); ^B = F -test pokazatelj sa brojevima stepeni slobode; ns = nesigifikantna razlika između srednjih vrednosti populacija ($p > 0,05$); * = statistički značajna razlika ($p \leq 0,05$). ^{a,b} = različita slova u koloni označavaju statistički značajne razlike među vrstama i lokalitetima. Radi lakšeg poimanja predstavljeni su originalni podaci (ne-transformisani), dok je ANOVA vršena na transformisanim podacima.

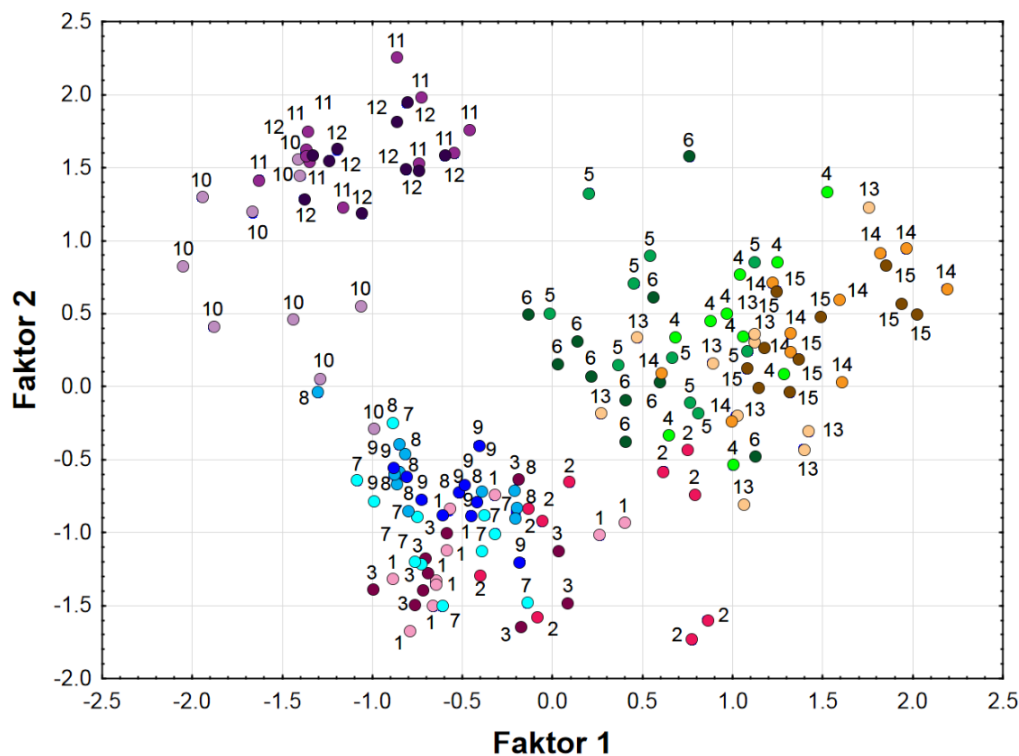


Slika 113. Uporedna analiza sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja u plodovima svih analiziranih vrsta na osnovu srednjih vrednosti ili medijana, zavisno od toga da li vrednosti svojstva ispunjavaju uslov normalne raspodele i homogenosti varijansi

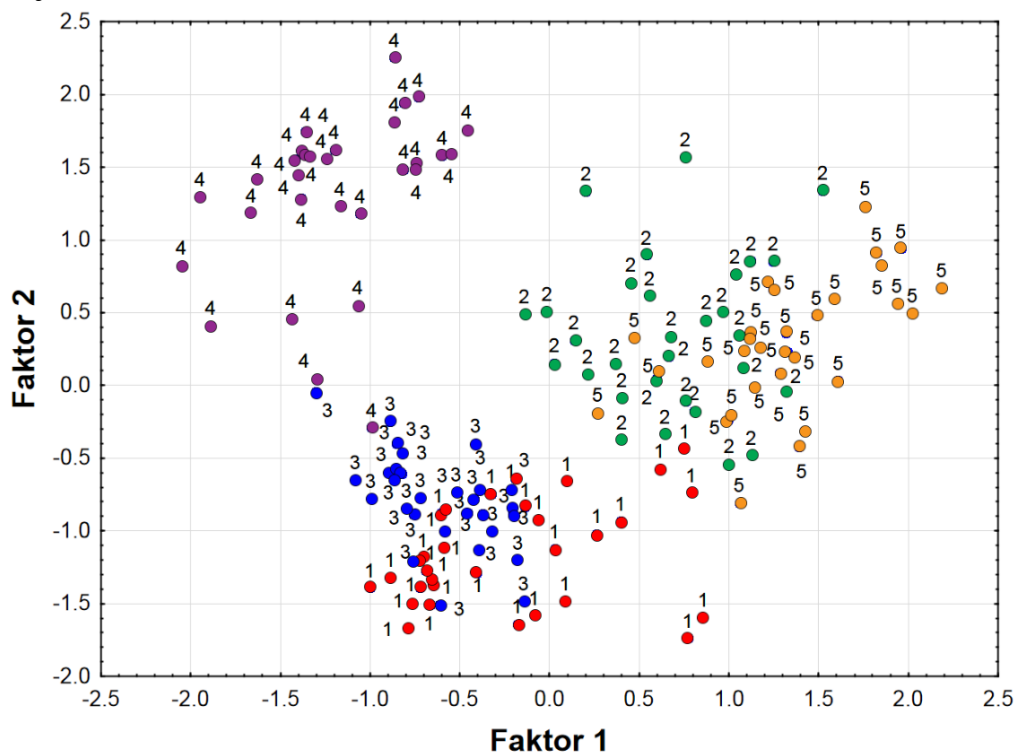
Analiza glavnih komponenti je izvršena na standardizovanom setu podataka i bila je usmerena na utvrđivanje i grafički prikaz strukture istraživanih svojstava. Rezultati PCA su pokazali da prva osa objašnjava 39,61%, druga 27,25%, a treća 15,09% inicijalne informacije (sve tri ose zajedno 81,95%). Prve dve ose imaju ajgen vrednosti >1 . Na osnovu sume kvadriranih korelacija u planu 1-2 (suma $r^2 > 0,8$) može se zaključiti da su najbolje reprezentovana s5 (sadržaj kvercetin-glukozida) i s3 (sadržaj kvercetin-galaktozida). Varijabilnost sadržaja ova dva jedinjenja u 150 analiziranih plodova najviše doprinosi ukupnoj varijabilnosti sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja. Nešto slabije ($0,6 < \text{suma } r^2 < 0,8$) je predstavljeno s6 (sadržaj kvercetin-ramnozida, dok su s2 (sadržaj kvercetin-glukuronida) i s4 (kvercetin-rutinozida) slabo prezentovana (suma $r^2 < 0,4$). Na formiranje prve ose najviše utiču s5 (sadržaj kvercetin-glukozida) i s3 (kvercetin-galaktozida). Na formiranje druge ose najviše utiče s1 (sadržaj neohlorogene kiseline). Struktura svojstava i njihovi odnosi prikazani su na slici 114. Tendencije među individuama, njihova grupisanja/razdvajanja mogu se uočiti u prostoru prve dve PC ose (Slika 115 i 116) i u prostoru prve tri ose (Slika 117 i 118). Izuzimajući 12 jedinki (20, 36, 42, 44, 45, 49, 50, 53, 54, 55, 56 i 92), ostale su dobro predstavljene na planu prve tri ose (suma \cos^2 za prve tri ose $> 0,5$). Opšti je utisak prilično jasnog izdvajanja vrsta i populacija što potvrđuje i klaster analiza (Slika 119 i 120).



Slika 114. Struktura svojstava određena pomoću analize glavnih komponenti (PCA) kod plodova jedinki vrsta *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)



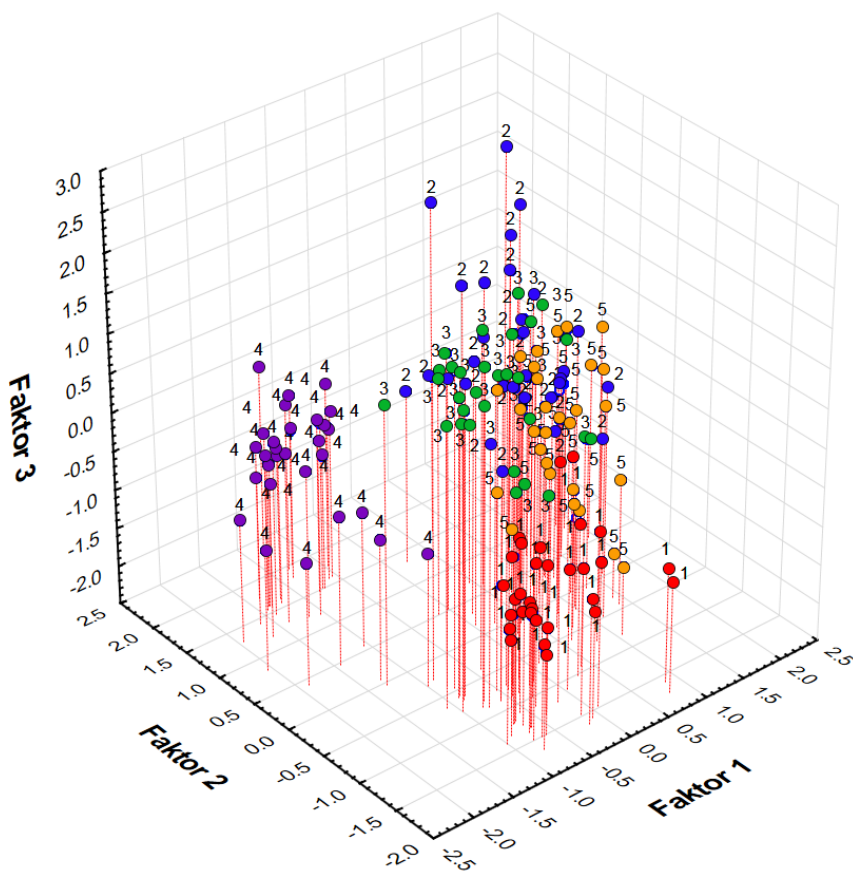
Slika 115. Razdvajanje u prostoru prve dve PC ose populacija svih analiziranih vrsta na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (*R. canina* 1 - Avala; 2 - Zlatarsko jezero; 3 - Ozren; *C. monogyna* 4 - Avala; 5 - Zlatarsko jezero; 6 - Ozren; *P. spinosa* 7 - Avala; 8 - Zlatarsko jezero; 9 - Ozren; *C. mas* 10 - Avala; 11 - Zlatarsko jezero; 12 - Ozren; *C. sanguinea* 13 - Avala; 14 - Zlatarsko jezero; 15 - Ozren)



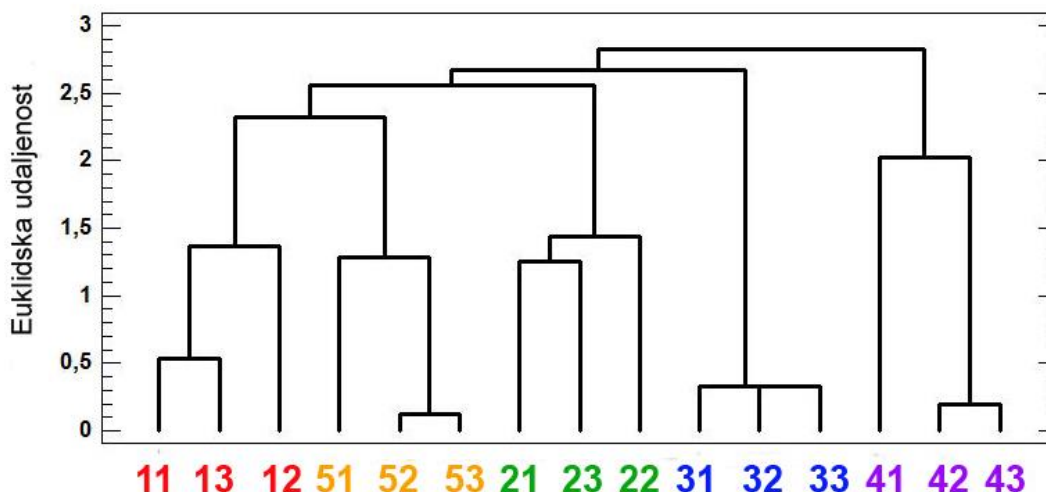
Slika 116. Razdvajanje u prostoru prve dve PC ose jedinki koje pripadaju svim analiziranim vrstama na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (1 - *R. canina*; 2 - *C. monogyna*; 3 - *P. spinosa*; 4 - *C. mas*; 5 - *C. sanguinea*)



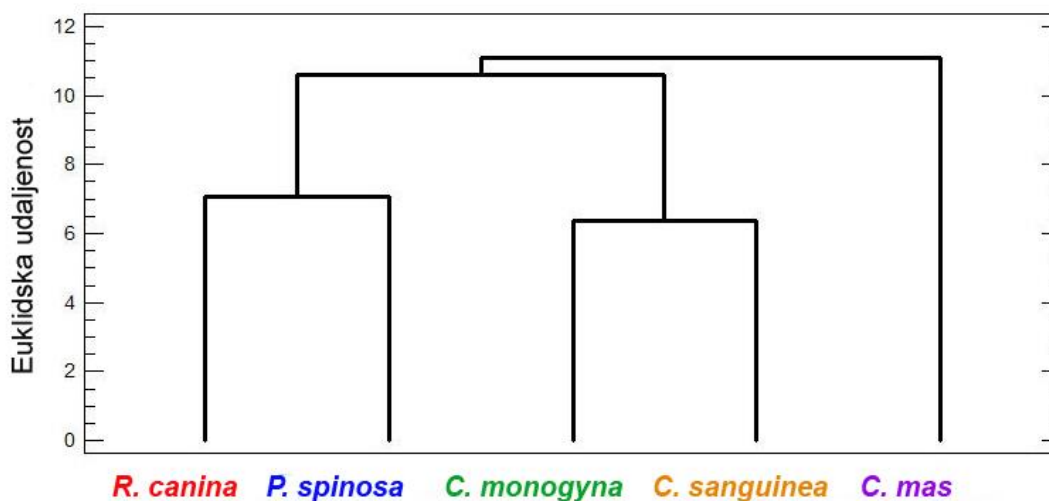
Slika 117. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose jedinki iz populacija svih analiziranih vrsta na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (*R. canina* 1- Avala; 2- Zlatarsko jezero; 3- Ozren; *C. monogyna* 4- Avala; 5- Zlatarsko jezero; 6- Ozren; *P. spinosa* 7- Avala; 8- Zlatarsko jezero; 9- Ozren; *C. mas* 10- Avala; 11- Zlatarsko jezero; 12- Ozren; *C. sanguinea* 13- Avala; 14- Zlatarsko jezero; 15- Ozren)



Slika 118. Razdvajanje u prostoru prve tri PC ose jedinki svih analiziranih vrsta na osnovu sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja:
 1 - *R. canina*;
 2 - *C. monogyna*;
 3 - *P. spinosa*;
 4 - *C. mas*;
 5 - *C. sanguinea*



Slika 119. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za sve analizirane populacije (*R. canina* 11 - Avala, 12 - Zlatarsko jezero, 13 - Ozren; *C. sanguinea* 51 - Avala, 52 - Zlatarsko jezero, 53 - Ozren; *C. monogyna* 21 - Avala, 22 - Zlatarsko jezero, 23 - Ozren; *P. spinosa* 31 - Avala, 32 - Zlatarsko jezero, 33 - Ozren; *C. mas* 41 - Avala, 42 - Zlatarsko jezero, 43 - Ozren)



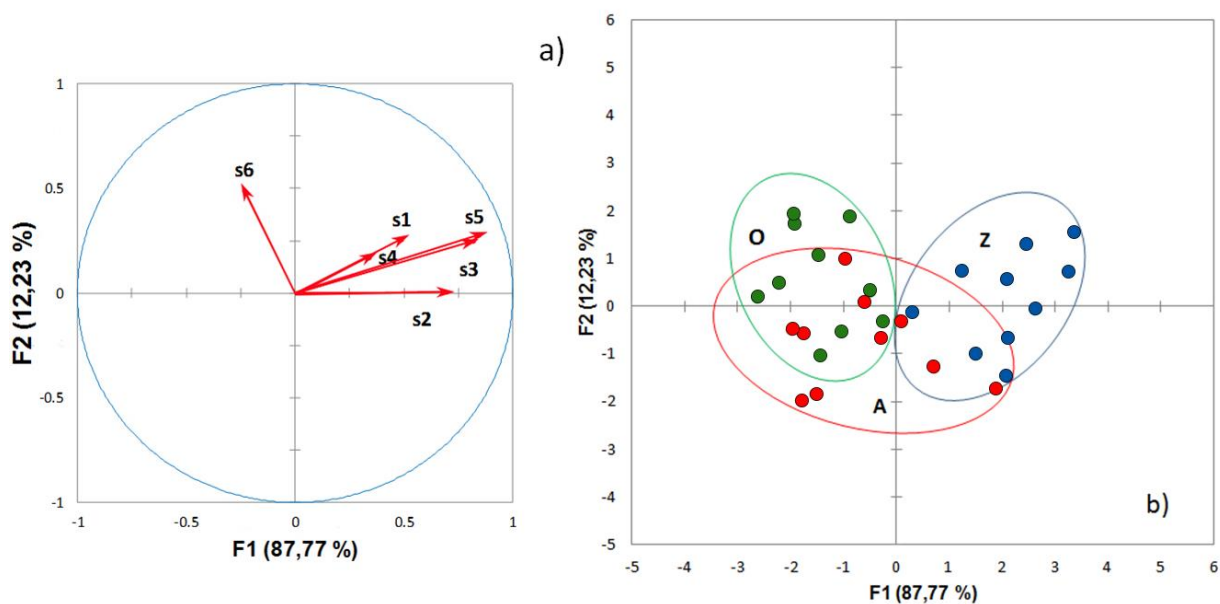
Slika 120. Dendrogram (euklidske udaljenosti) za sve analizirane vrste

4.6. Diskriminantna analiza uzoraka na osnovu sastava odabranih fenolnih jedinjenja

Pored analize glavnih komponenti, kao multivarijantna statistička metoda kojom se utvrđuju odnosi između uzoraka, često se koristi i diskriminantna analiza. Ova statistička analiza se zasniva na utvrđivanju najveće distance između unapred određenih grupa, u ovoj studiji to su populacije (odnosno vrste), iz kojih su uzimani uzorci za analizu.

4.6.1. Diskriminantna analiza uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea* u odnosu na populaciju

Rezultati diskriminantne analize (DA) uzoraka *R. canina* (Slika 121a) pokazuju da svojstva koja imaju najveći efekat na diskriminaciju u odnosu na prvu osu su sadržaj kvercetin-galaktozida (s3) i kvercetin-glukozida (s5). Doprinos druge ose u diskriminaciji populacije je relativno mali (12,23%). Na drugoj diskriminantnoj osi razdvajanje se vrši preko sadržaja kvercetin-ramnozida (s6). Iz grafičkog prikaza pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 121b) jasno se uočava da su na osnovu sadržaja analiziranih jedinjenja jedinke iz populacija sa Zlatarskog jezera i Ozrena jasno razdvojene. Položaj jedinki iz populacije sa Avale se velikim delom preklapa sa druge dve analizirane populacije.

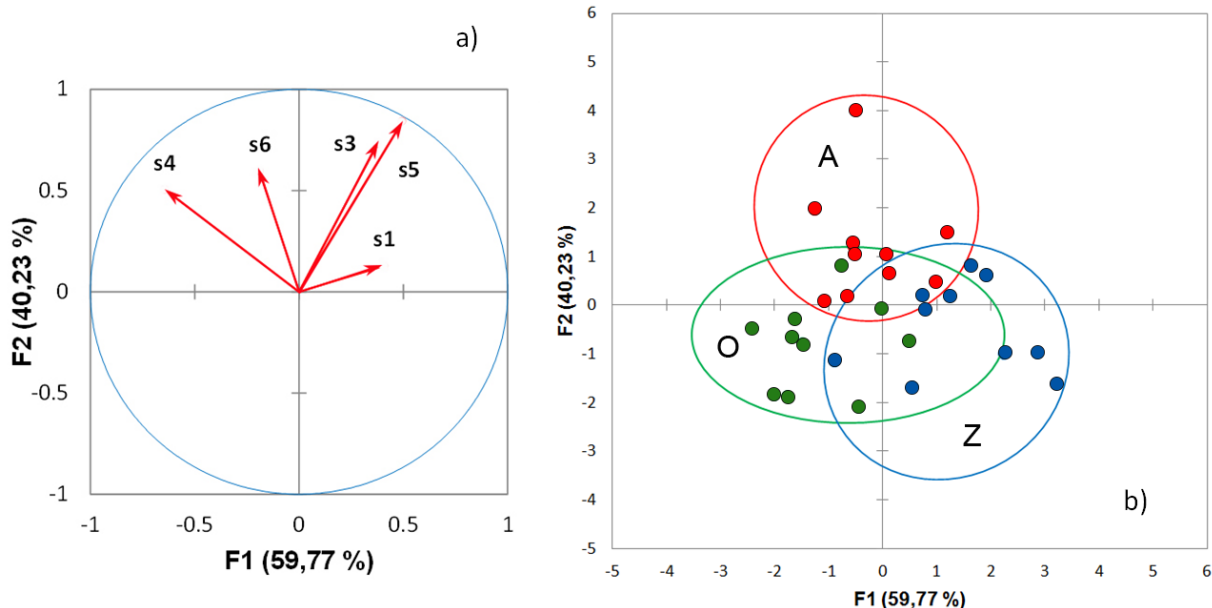


Slika 121 a) Struktura svojstava (DA) kod uzoraka plodova jedinki vrste *R. canina* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)

b) Pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (A - populacija sa Avale; Z - populacija sa Zlatarskog jezera; O - populacija sa Ozrena)

Rezultati diskriminantne analize (DA) uzoraka *C. monogyna* (Slika 122a) pokazuju da prva osa doprinosi diskriminaciji populacija sa 59,77%, što je značajno manje u poređenju sa drugim analiziranim vrstama. Sadržaj kvercetin-rutinozida (s4) ima najveći efekat na diskriminaciju u odnosu na prvu osu. Na drugoj diskriminantnoj osi razdvajanje se vrši preko sadržaja kvercetin-glukozida (s5) i kvercetin-galaktozida (s3). Iz grafičkog prikaza pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 122b) uočava se da 5 jedinki iz različitih

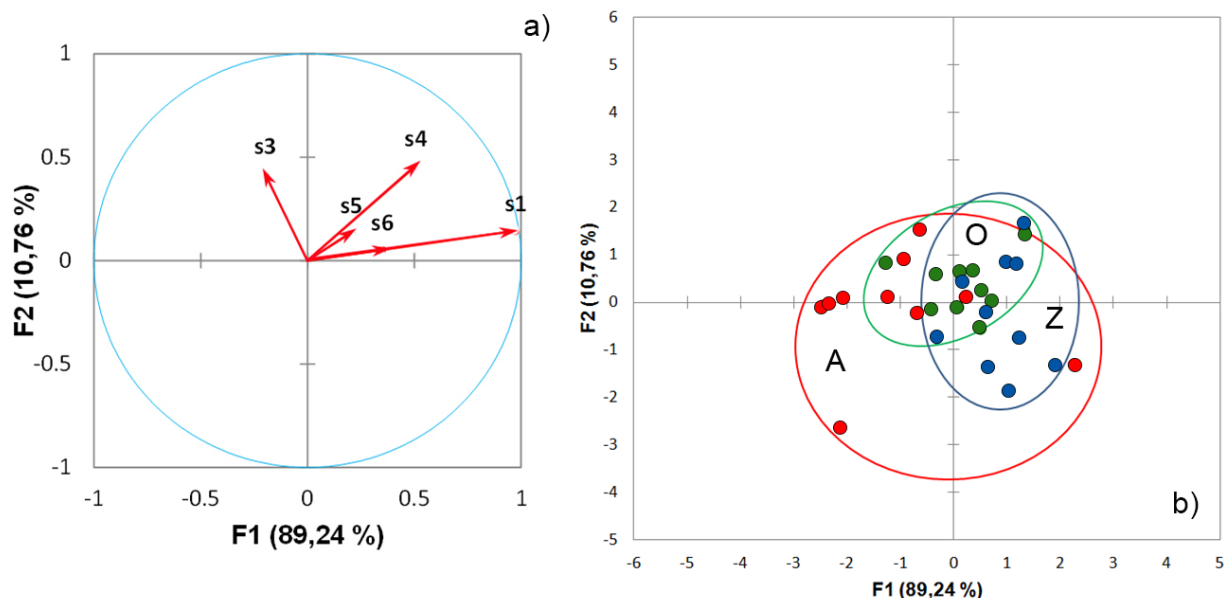
populacija ima sličan sastav (pozicionirane su oko koordinacionog centra), što rezultuje u delimičnom preklapljenju populacija.



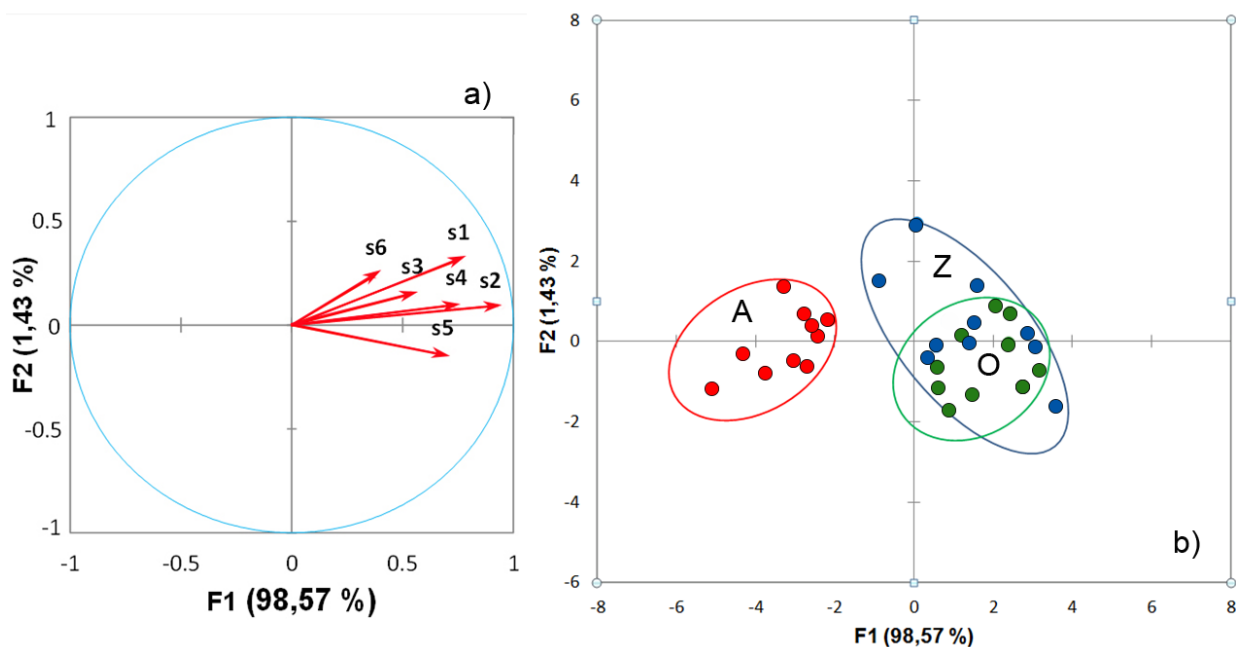
Slika 122 a) Struktura svojstava (DA) kod uzoraka plodova jedinki vrste *C. monogyna* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)
b) Pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (A - populacija sa Avale; Z - populacija sa Zlatarskog jezera; O - populacija sa Ozrena)

Rezultati diskriminantne analize (DA) uzoraka *P. spinosa* (Slika 123a) pokazuju da sadržaj neohlorogene kiseline (s1) ima najveći efekat na diskriminaciju u odnosu na prvu osu. Doprinos druge ose u diskriminaciji populacije je relativno mali (10,76%). Na drugoj diskriminantnoj osi razdvajanje se vrši preko sadržaja kvercetin-rutinozida (s4).

Iz grafičkog prikaza pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 123b) uočava se da su jedinke iz populacije sa Avale najviše dispergovane u prostoru prve i druge ose, dok su jedinke iz druge dve populacije grupisane u kompaktnije, međusobno preklapljene grupe koje se najvećim delom nalaze u prostoru koji pokriva populacija sa Avale (samo jedna jedinka iz populacija sa Zlatarskog jezera se nalazi van ovog prostora).



Slika 123 a) Struktura svojstava (DA) kod uzoraka plodova jedinki vrste *P. spinosa* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)
b) Pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (A - populacija sa Avale; Z - populacija sa Zlatarskog jezera; O - populacija sa Ozrena)

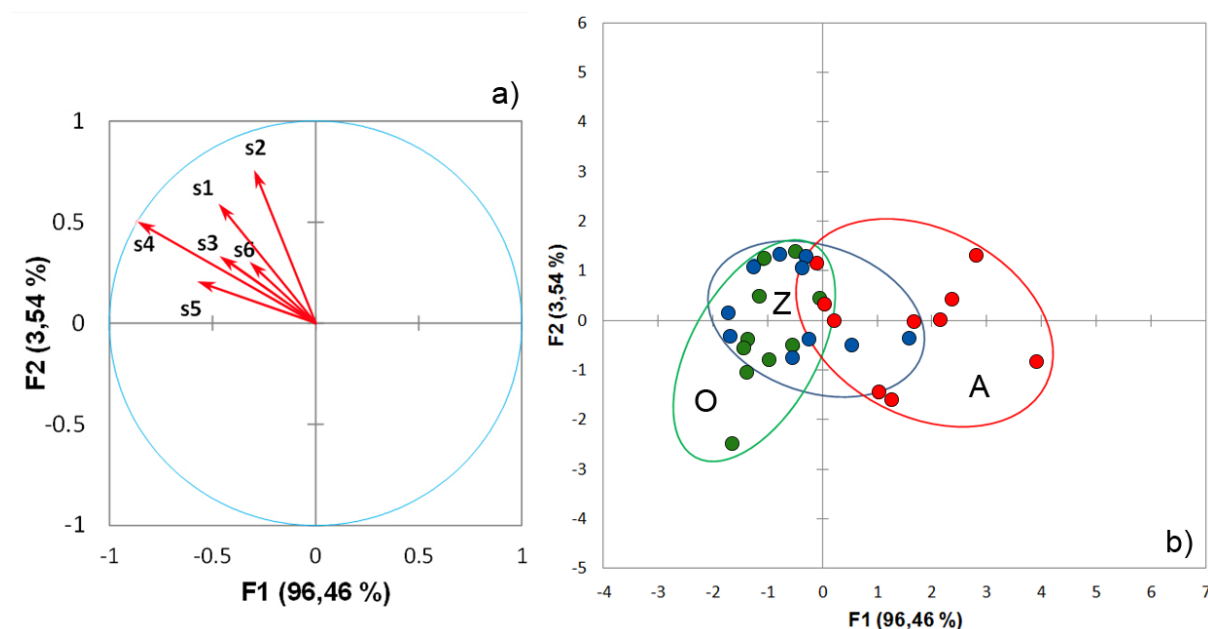


Slika 124 a) Struktura svojstava (DA) kod uzoraka plodova jedinki vrste *C. mas* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)
b) Pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (A - populacija sa Avale; Z - populacija sa Zlatarskog jezera; O - populacija sa Ozrena)

Rezultati diskriminantne analize (DA) uzoraka *C. mas* (Slika 124a) pokazuju da prva osa doprinosi diskriminaciji populacija sa 98,57%. Sadržaj kvercetin-glukunorida (s2) ima najveći efekat na razdvajanje u odnosu na prvu osu. Doprinos druge ose je izuzetno mali (svega 1,43%),

a razdvajanje na ovoj osi se vrši preko sadržaja kvercetin-ramnozida (s6). Iz grafičkog prikaza pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 124b) uočava se da su jedinke iz populacije sa Avale jasno izdvojene. Jedinke iz druge dve populacije se međusobno preklapaju, pri čemu se jedinke iz populacije sa Ozrena nalaze u kompaktnijoj grupi koja je sadržana u većem prostoru koji zauzimaju jedinke iz populacije sa Zlatarskog jezera.

Rezultati diskriminantne analize (DA) uzoraka *C. sanguinea* (Slika 125a) pokazuju da prva osa doprinosi razdvajanju populacija sa 96,46%. Sadržaj kvercetin-rutinozida (s4) ima najveći efekat na diskriminaciju u odnosu na prvu osu. Doprinos druge ose je mali (3,54%), a razdvajanje na ovoj osi se vrši preko sadržaja kvercetin-glukunorida (s2). Iz grafičkog prikaza pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 125b) uočava se da 8 jedinki iz različitih populacija ima sličan sastav (pozicionirane su u negativnom kvadrantu i prve i druge ose u blizini koordinacionog centra), što rezultuje u međusobnom preklapljenju populacija. Jedinke iz populacije sa Avale su više dispergovane u prostoru. Najkompaktnije su raspoređene jedinke iz populacije sa Ozrena i samo 2 jedinke se ne preklapaju sa populacijom za Zlatarskog jezera.

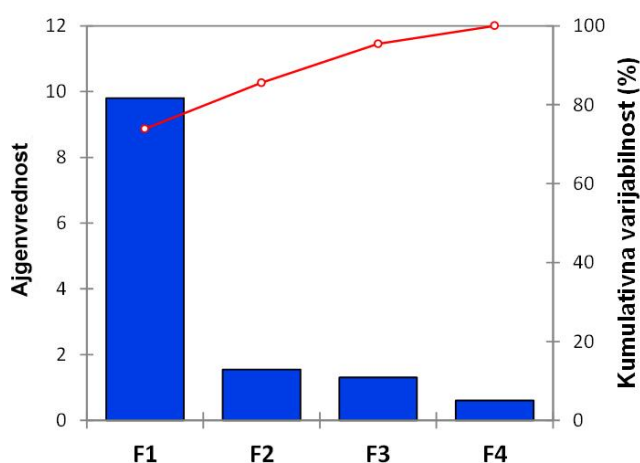


Slika 125 a) Struktura svojstava (DA) kod uzoraka plodova jedinki vrste *C. sanguinea* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)
b) Pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (A - populacija sa Avale; Z - populacija sa Zlatarskog jezera; O - populacija sa Ozrena)

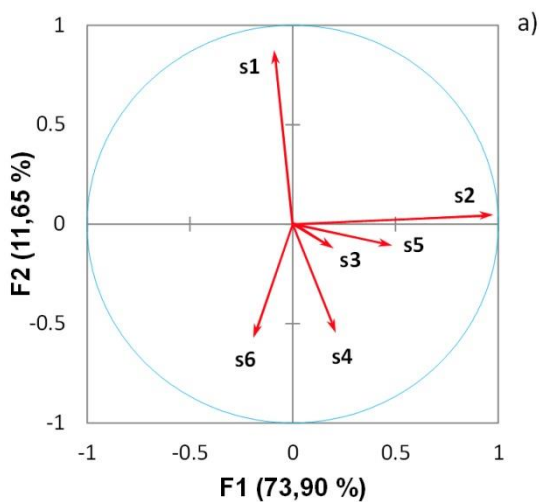
4.6.2. Diskriminantna analiza uzoraka *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea* u odnosu na vrstu

Diskriminantna analiza (DA) uzoraka svih ispitivanih vrsta pokazuju da se ukupna varijabilnost sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja može objasniti sa 4 ose (Slika 126), pri čemu je doprinos prve ose najveći (73,90%). Rezultati (Slika 127a) pokazuju da svojstvo s2 (sadržaj kvercetin-glukonirida) ima najveći efekat na diskriminaciju u odnosu na prvu osu (F1). Doprinos druge ose (F2) u diskriminaciji vrsta je 11,65 %. Na drugoj diskriminantnoj osi razdvajanje se vrši preko sadržaja neohlorogene kiseline (s1).

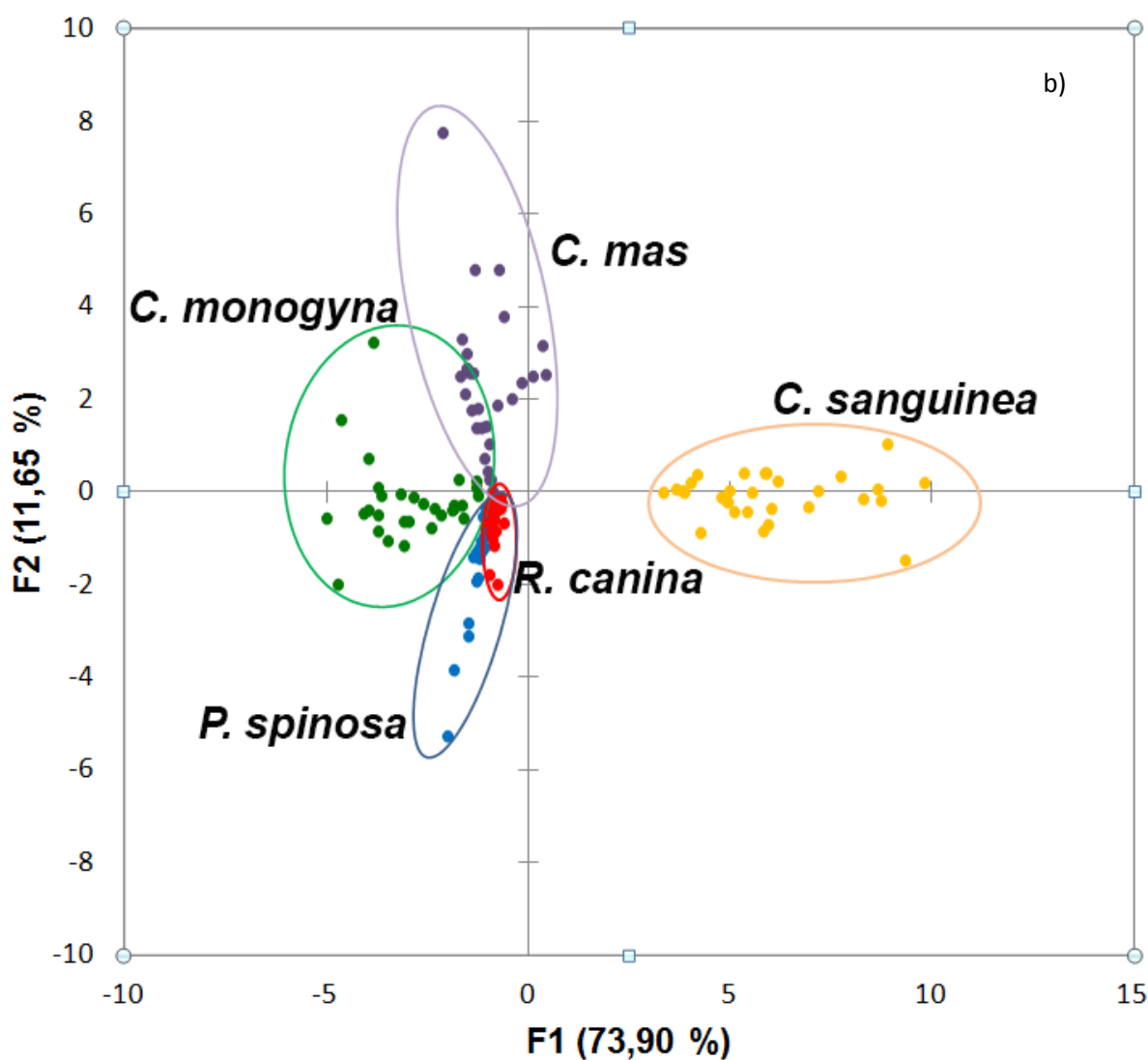
Iz grafičkog prikaza pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose (Slika 127b) jasno se uočava da su na osnovu sadržaja analiziranih jedinjenja jedinke koje pripadaju vrsti *C. sanguinea* jasno izdvojene. Kod ostalih vrsta uočljivo je preklapanje koje je najizraženije kod vrste *R. canina*. Jedinke koje pripadaju ovoj vrsti su najkompaktnije raspoređene u prostoru prve dve DA ose. Takođe, izražena kompaktnost je karakteristična i za jedinke koje pripadaju vrsti *P. spinosa*. Za razliku od njih jedinke koje pripadaju vrstama *C. monogyna* i *C. mas* pokazuju veći stepen varijabilnosti istraživanih svojstva, pa su i raspoređene u mnogo većem prostoru.



Slika 126. Ajgenvrednosti i procentualni doprinos DA osa (F1-F4) u objašnjavanju kumulativne varijabilnosti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja kod svih analiziranih vrsta

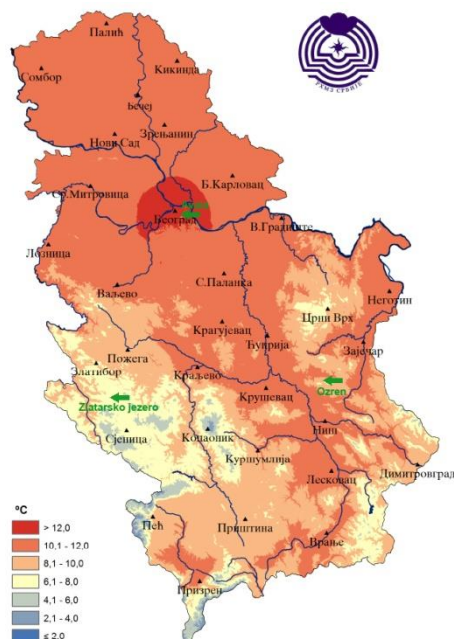


Slika 127 a) Struktura svojstava (DA) kod uzoraka plodova jedinki vrsta *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea* (s1, 5-*O*-CQ; s2, Q-3-*O*-GlcA; s3, Q-3-*O*-Gal; s4, Q-3-*O*-Rut; s5, Q-3-*O*-Glc; s6, Q-3-*O*-Rha)
b) Pozicije analiziranih jedinki u prostoru prve i druge diskriminantne ose



4.7. Analiza osnovnih klimatskih faktora na proučavanim lokalitetima i određivanje njihovog uticaja na sadržaj odabranih fenolnih jedinjenja

Uobičajeno je da se klima Srbije opisuje kao umereno kontinentalna. Ipak, mnogi lokaliteti se odlikuju specifičnim klimatskim karakteristikama (temperatura, količina padavina, insolacija,



UV zračenje, itd.) koje mogu značajno da se razlikuju od prosečnih vrednosti klimatskih faktora za čitavu teritoriju. Ove specifične karakteristike pre svega zavise od geografskog položaja određenog lokaliteta, reljefa, raspodele vazdušnog pritiska, ekspozicije i nagiba terena, udaljenosti od rečnih slivova, blizine urbanih i industrijskih centara, kao i od tipa prisutne vegetacije i njene pokrovnosti. U klimatološkim obradama je uobičajeno da se klima posmatra po godišnjim dobima, tako da prolećni period obuhvata period od 1. marta do 31. maja, letnji od 1. juna do 31. avgusta i jesenji od 1. septembra do 30. novembra. Obzirom

da se ovaj period uglavnom poklapa sa vegetacionim periodom istraživanih šumskih drvenastih vrsta u daljoj analizi korišćena je ova podela.

Biljni materijal analiziran u ovoj studiji sakupljen je u jesen 2015. godine. Geografske pozicije ispitivanih populacija su određene pomoću ručnog uređaja za globalno pozicioniranje (*Garmin eTrex* GPS prijemnik), pri čemu su zabeležene koordinate, nadmorska visina, nagib i ekspozicija na svakom od lokaliteta. Pokrovnost vegetacije na ispitivanim staništima urađena je fitocenološkom procenom (Braun-Blanquet-ov metod) i poređenjem sa satelitskim snimcima terena dostupnim na portalu www.geoSrbija. Relevantne klimatske karakteristike (preračunate srednje mesečne vrednosti za temperaturu, količinu padavina i insolaciju na istraživanim lokalitetima) su dobijene posredstvom Sektora za meteorološki osmatrački sistem Republičkog Hidrometeorološkog Zavoda Srbije, a podaci za minimalne i maksimalne vrednosti temperature, kao i za količinu padavina za svaki pojedinačni dan od proleća do jeseni 2015 preuzeti su sa sajta RHMZS-a (Operativni hidrometeorološki bilten, http://www.hidmet.gov.rs/ciril/meteorologija/op_bilteni.php). Pored ovih podataka koristili smo i podatke o minimalnim i maksimalnim vrednostima Korišćeni su podaci

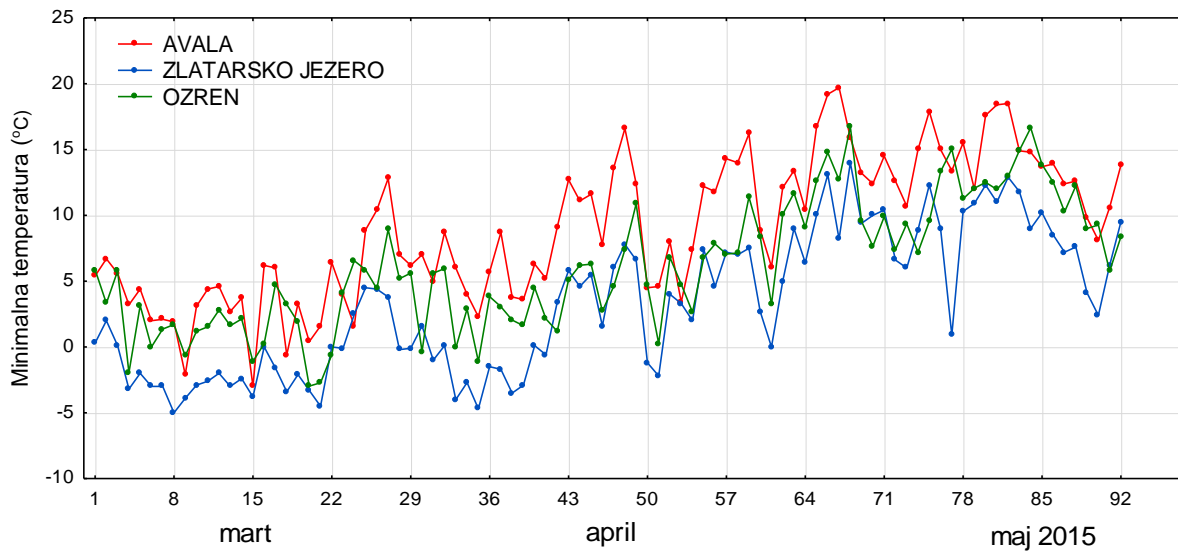
dostupni za mernu stanicu koja je najbliža ispitivanom lokalitetu (za Avalu merna stanica u Košutnjaku; za Zlatarsko jezero merna stanica na Zlatiboru; za Ozren merna stanica u Sokobanji). Zbog relativne udaljenosti i različite nadmorske visine podaci za lokalitete Zlatarsko jezero i Ozren korigovani su primenom visinskih gradijenata klimatskih elemenata. Za interpretaciju rezultata korišćeni su i Sezonski bilteni za Srbiju (proleće, leto, jesen), takođe dostupni na sajtu RHMZS-a (<http://www.hidmet.gov.rs/podaci/meteorologija/latin/>).

4.7.1. Osnovni klimatski faktori na proučavanim lokalitetima - proleće

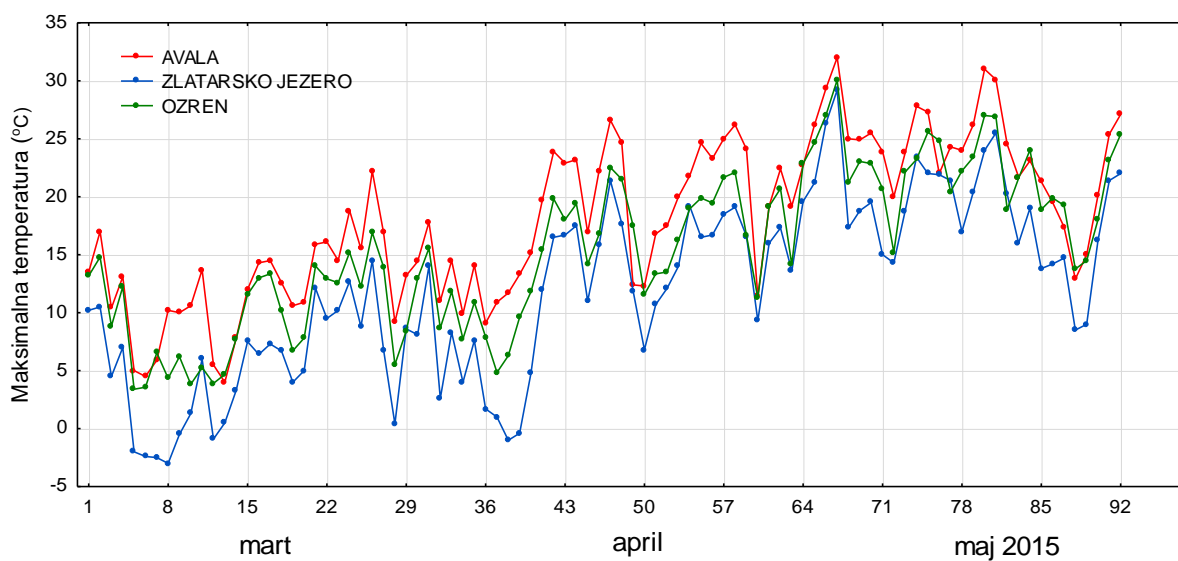


Proleće 2015. godine je bilo toplo i kišno u većem delu Srbije. Na lokalitetu Avala prosečne temperature za ovaj period godine bile su više u odnosu na tridestogodišnji prosek (1961-1990), dok su na druga dva lokaliteta bile u granicama proseka. Prosečne temperature za Avalu su bile više i u odnosu na referentni period 1971-2000, dok su u odnosu na referentni period 1981-2010 bile u granicama normale za sva tri lokaliteta.

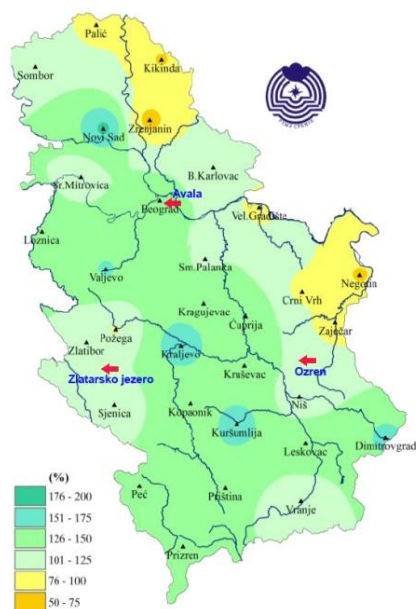
Variranje temperature (minimalne i maksimalne vrednosti) tokom proleća za sva tri lokaliteta prikazano je na slikama 128a i b. Najniže minimalne temperature su zabeležene na lokalitetu Zlatarsko jezero, a najviše na Avali. Prosečna minimalna temperatura u toku proleća bila je 9,02 °C na Avali, 3,28 °C na Zlatarskom jezeru (63,6% niža u odnosu na Avalu) i 6,10 °C na Ozrenu (32,4% niža u odnosu na Avalu). Razlika u minimalnim temperaturama između Avale i Zlatarskog jezera pojedinih dana je bila viša i od 10 °C (na pr. 12,5 °C 16. maja). I prosečna maksimalna temperatura bila je najviša na Avali (18,05 °C), 14,2% niža na Ozrenu (15,49 °C) i najniža na Zlatarskom jezeru (12,13 °C, odnosno 32,8% niža u odnosu na Avalu, a u odnosu na Ozren niža 21,7%). Prosečne temperature za period 1. mart-31. maj 2015 bile su 13,58 °C na Avali, 7,7 °C na Zlatarskom jezeru i 10,79 °C na Ozrenu.



Slika 128a. Minimalne temperature na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu (proleće 2015)



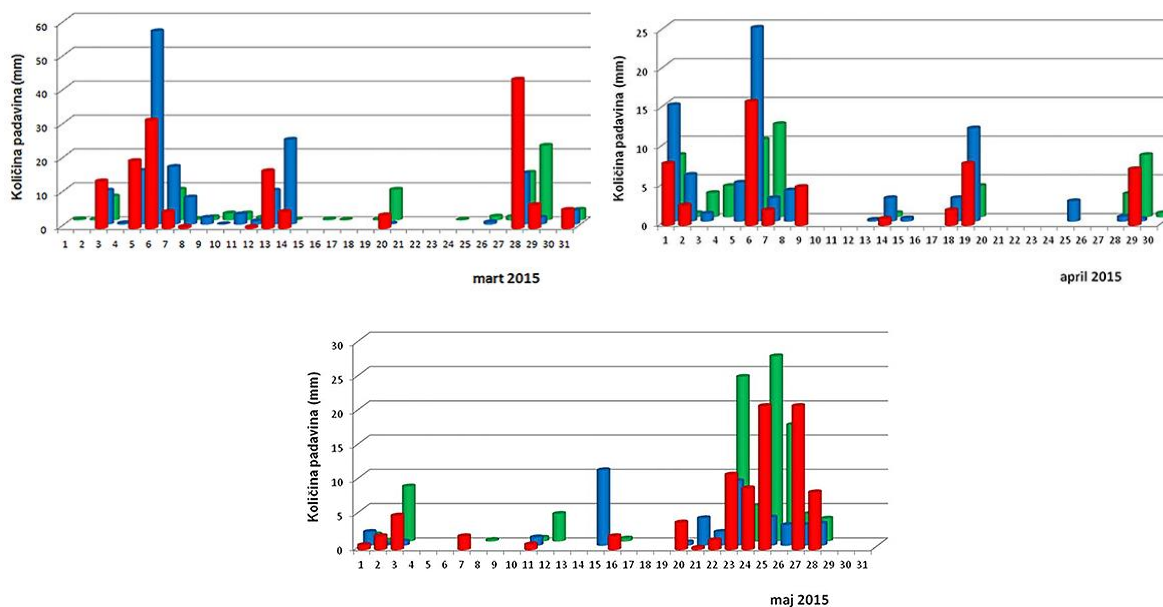
Slika 128b. Maksimalne temperature na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu (proleće 2015)



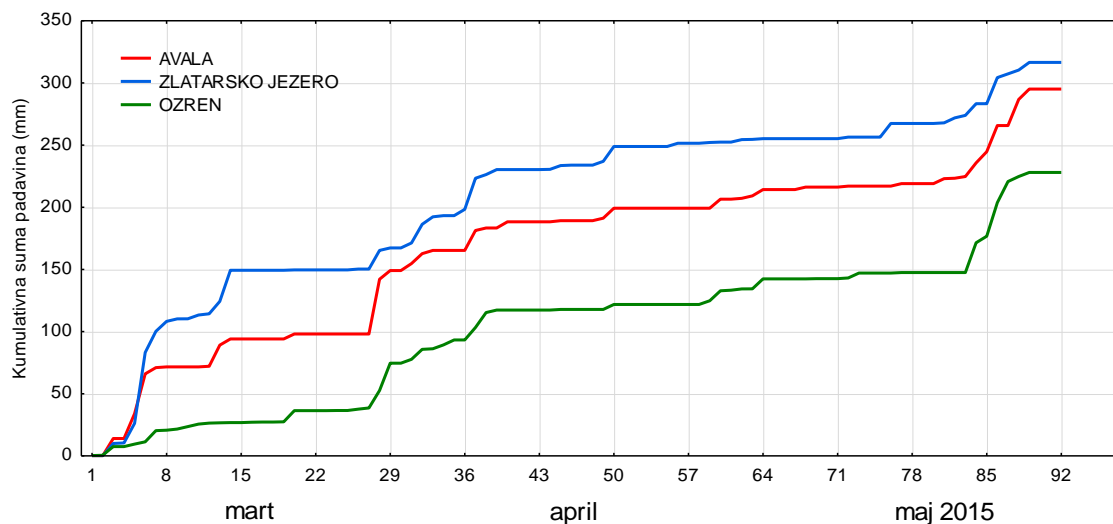
Suma padavina tokom proleća je u većem delu Srbije bila iznad prosečnih vrednosti u odnosu na normalu za sva tri referentna perioda (1961-1990, 1971-2000 i 1981-2010). Ipak, iznadprosečne vrednosti su izraženije na Avali (26-50% više u odnosu na prosek), nego na druga dva lokaliteta (1-25%).

Najveća količina padavina tokom proleća zabeležena je u prvoj polovini marta, a najmanja tokom aprila (Slika 129). Najveći broj dana sa padavinama zabeležen je na lokalitetu Ozren (48 dana od ukupno

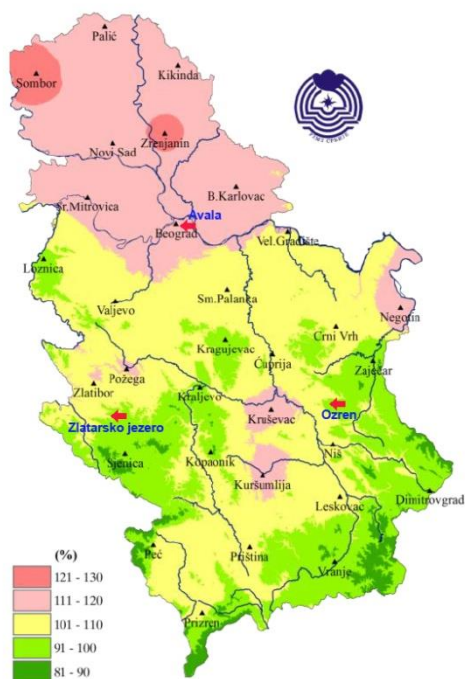
92), nešto manji na Zlatarskom jezeru (45) i najmanji na Avali (35). Ukupna suma padavina je najveća na lokalitetu Zlatarsko jezero (316,5 mm), za 6,8% manja na Avali (295,1 mm), a najmanja na Ozrenu (228 mm, odnosno 28% manja u odnosu na Avalu) (Slika 130). Kumulativna suma padavina za sva tri lokaliteta prikazana je na slici 130.



Slika 129. Ukupna količina padavina (mm) po danima na Avali (■), Zlatarskom jezeru (■) i Ozrenu (■) tokom proleća 2015



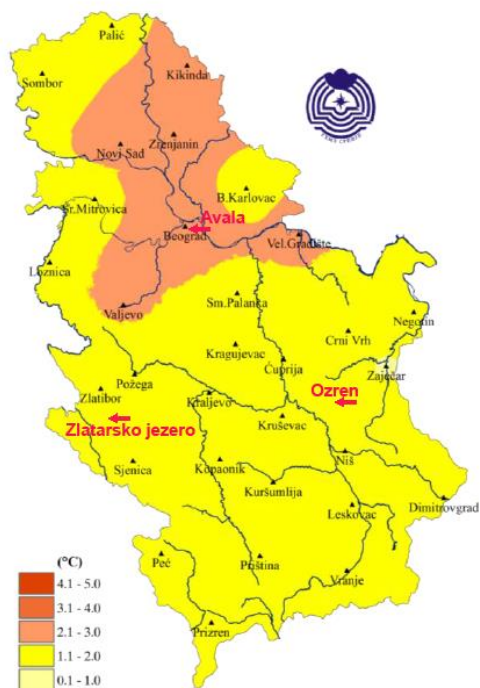
Slika 130. Kumulativna suma padavina (mm) na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu (proleće 2015)



Tokom proleća trajanje sijanja sunca (insolacija) bilo je u granicama prosečnih vrednosti u većem delu Srbije. Dok je na Avali ova vrednost bila viša u odnosu na u odnosu na normalu za referentni period 1961-1990 (za 11 - 20%), na druga dva lokaliteta bila je niža (0 - 9%) u odnosu na prosečne tridesetogodišnje vrednosti. Ukupna osunčanost u toku proleća je bila najveća na Avali (645,3 h), niža na Ozrenu (539,4 h), a najmanja na Zlatarskom jezeru (490,7 h).

4.7.2. Osnovni klimatski faktori na proučavanim lokalitetima - leto

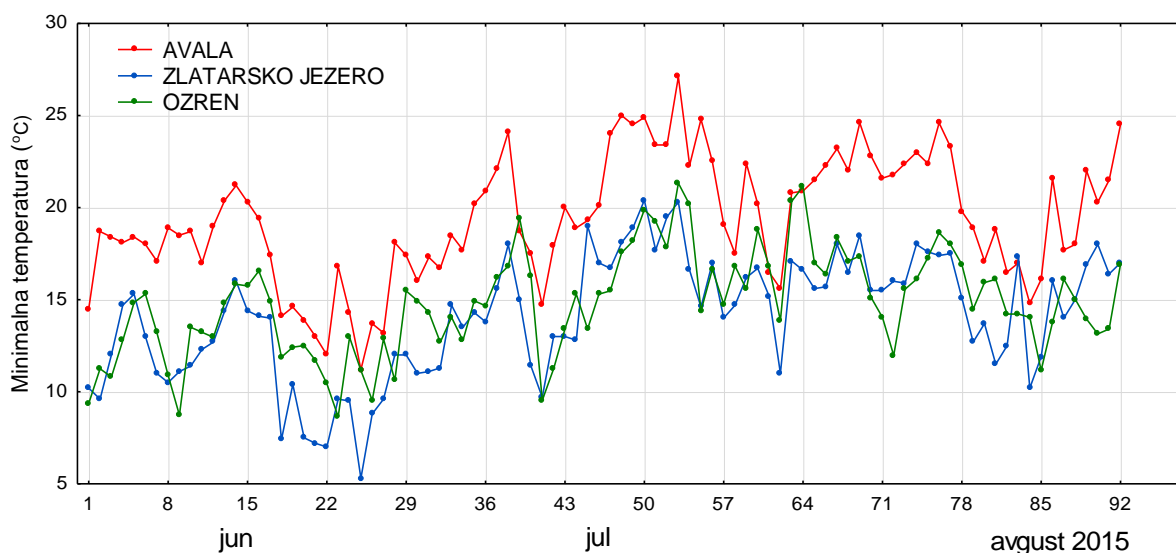
Leto 2015. godine je bilo ekstremno toplo, dok je ukupna količina padavina bila ispod

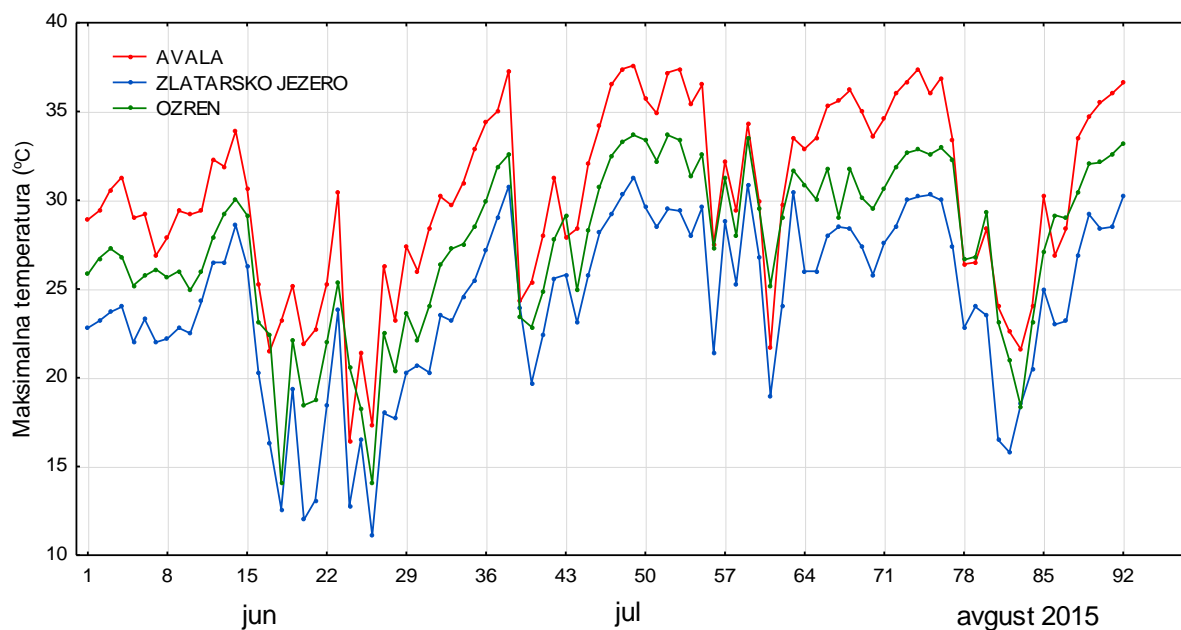


prosečnih vrednosti. Tokom većeg dela letnjeg perioda, srednja, maksimalna i minimalna temperatura vazduha bila je iznad višegodišnjeg proseka. Odstupanja srednje temperature od normale za referentni period 1981-2010 bila su najveća na lokalitetu Avala (2-3 °C), dok su na druga dva lokaliteta ta odstupanja bila u rasponu 1-2 °C. Ova odstupanja su bila još veća kada se porede sa referentnim periodima 1961-1990 i 1971-2000.

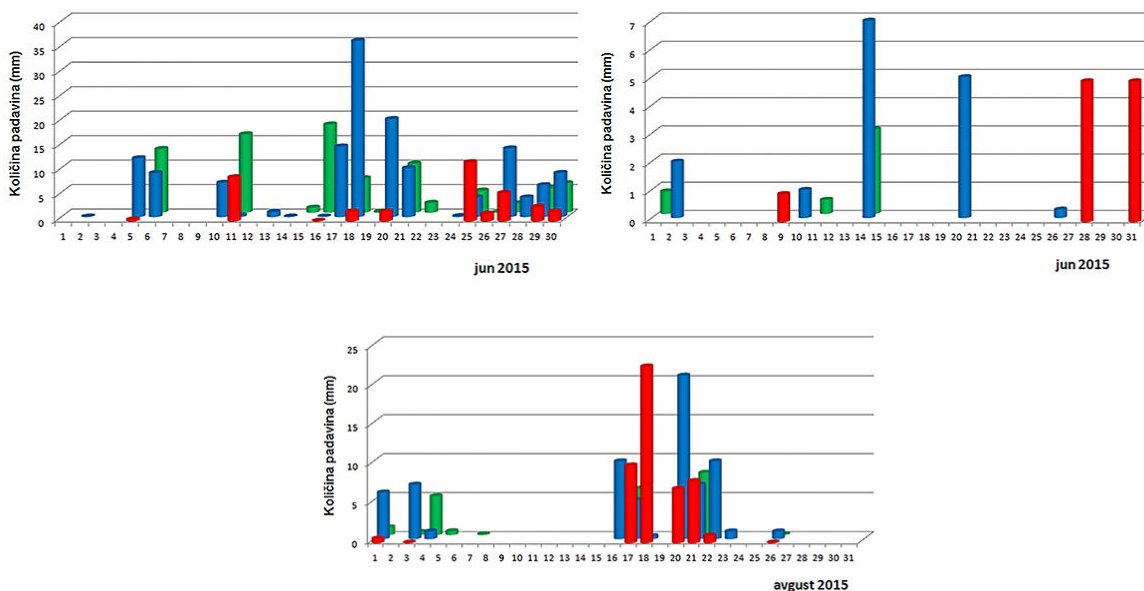
Variranje temperature (minimalne i maksimalne vrednosti) tokom leta prikazano je na slikama 131a i b. Najniže minimalne temperature su zabeležene na lokalitetu Zlatarsko jezero

(posebno su bile izražene krajem juna), a najviše na Avali. Prosečna minimalna temperatura u toku leta bila je 19,37 °C na Avali, 14,07 °C na Zlatarskom jezeru i 14,80 °C na Ozrenu. I prosečna maksimalna temperatura tokom leta bila je najviša na Avali (30,32 °C), niža na Ozrenu (27,56 °C) i najniža na Zlatarskom jezeru (24,29 °C). Broj tropskih dana, sa maksimalnom temperaturom višom od 30°C, bio je 48 na Avali, 35 na Ozrenu i 10 na Zlatarskom jezeru.



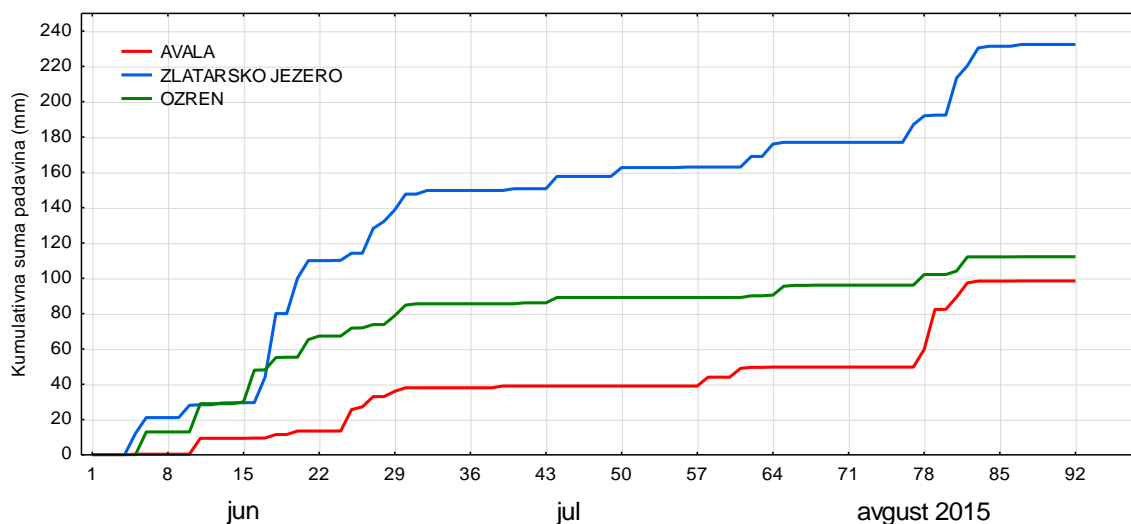
Slika 131a. Minimalne temperature na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu (leto 2015)**Slika 131b.** Maksimalne temperature na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu (leto 2015)

Suma ukupnih padavina tokom leta je u većem delu Srbije bila ispod prosečnih vrednosti u odnosu na normalu za referentni period 1961-1990. Veći deo Srbije ima kontinentalni režim padavina, i po pravilu maj i jun se karakterišu sa najvećim količinama padavina. Međutim, 2015 godine na Avali ukupna količina padavina tokom juna bila je za 44,7% manja u odnosu na maj, na Zlatarskom jezeru za 60,67%, dok je na Ozrenu ta razlika bila mnogo manja (5,9%). Raspodela padavina tokom letnjeg perioda prikazana je na slici 132.

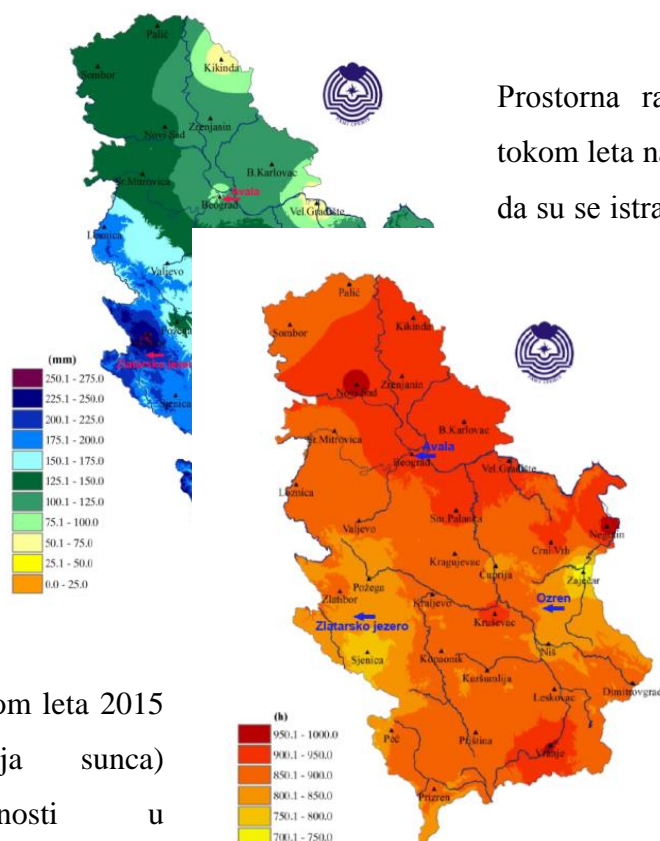


Slika 132. Ukupna količina padavina (mm) po danima na Avali (■), Zlatarskom jezeru (■) i Ozrenu (■) tokom leta 2015

Ukupna suma padavina, u periodu od 1. juna do 31. avgusta 2015, bila je najveća na lokalitetu Zlatarsko jezero (232,4 mm), dok je na ostala dva lokaliteta ona značajno manja, na Ozrenu 112,2 mm, a na Avali 98,5 mm (Slika 133).



Slika 133. Kumulativna suma padavina (mm) na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu (leto 2015)



Tokom leta 2015
sijanja sunca)
vrednosti u

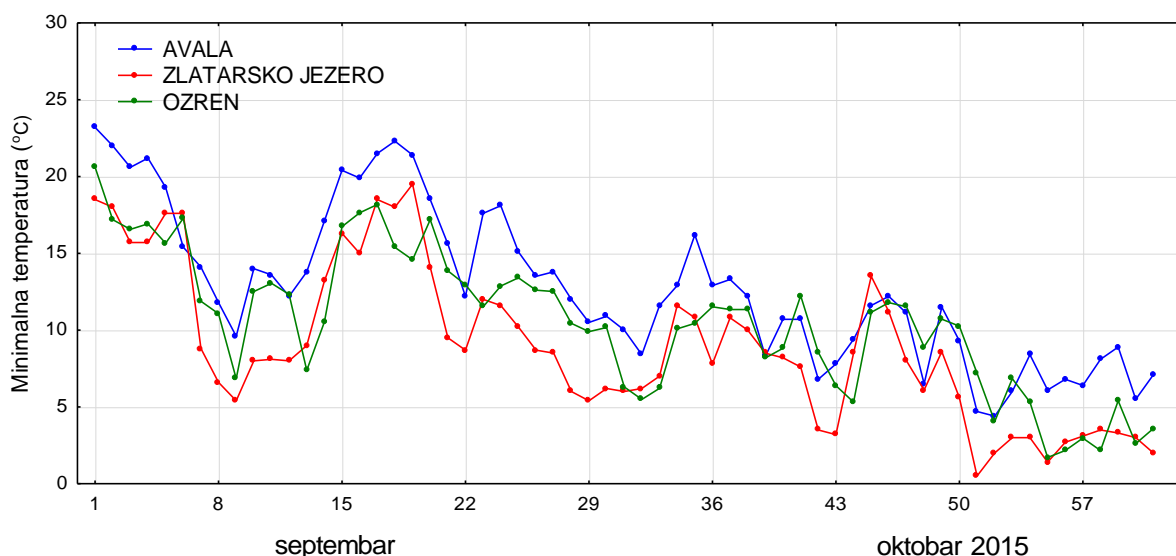
Prostorna raspodela ukupne količine padavina tokom leta na celoj teritoriji Srbije jasno pokazuje da su se istraživani lokaliteti značajno razlikovali, pa su i svrstani u različite kategorije. U odnosu na Zlatarsko jezero, ukupna količina padavina na Ozrenu je manja 51,7%, a na Avali 57,6% manja.

insolacija (osunčanost, trajanje bila je u granicama prosečnih većem delu Srbije. Ukupna

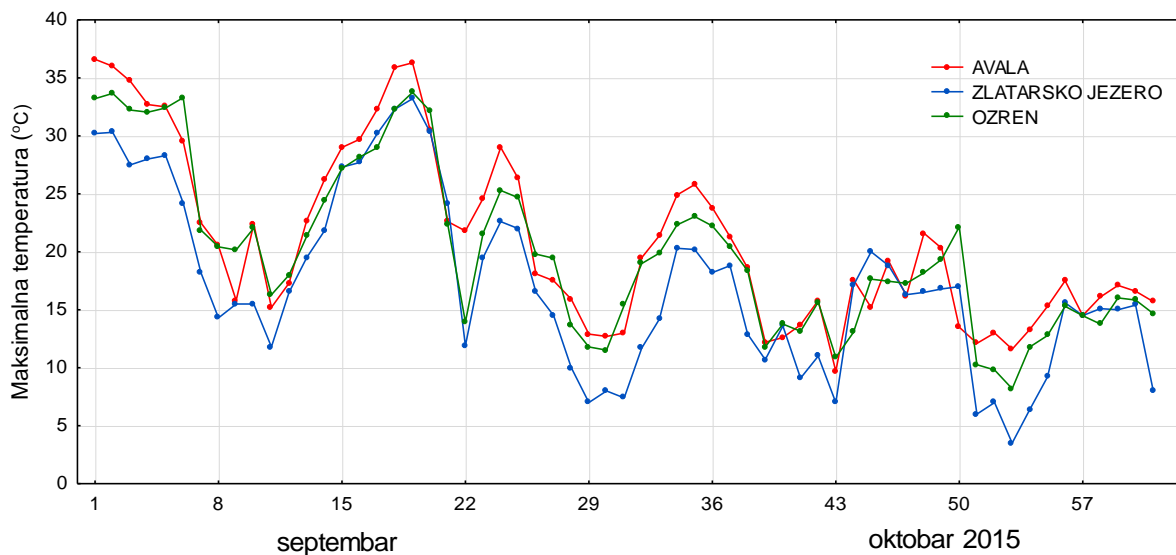
insolacija (izražena u časovima) bila je nešto veća na Avali (svrstana u kategoriju 900-950 h) u odnosu na druga dva istraživana lokaliteta (svrstani u kategoriju 800-850 h). Ukupna insolacija u toku leta je bila najveća na Avali (912,9 h), niža na Ozrenu (825,7 h), a najmanja na Zlatarskom jezeru (782,2 h).

4.7.3. Osnovni klimatski faktori na proučavanim lokalitetima – septembar i oktobar

Generalno posmatrajući, jesen 2015. godine u većem delu Srbije je bila topla i kišna. Pošto smo biljni materijal za ovu studiju sakupili u oktobru, u analizi osnovnih klimatskih faktora ograničili smo se na period od 1. septembra do 31. oktobra. Variranje temperature u ovom periodu (minimalne i maksimalne vrednosti) prikazano je na slikama 134a i b. Prosečna minimalna temperatura u toku ovog perioda bila je 12,74 °C na Avali, 8,99 °C na Zlatarskom jezeru (29,4% niža u odnosu na Avalu) i 10,50 °C na Ozrenu (17,6% niža u odnosu na Avalu). I prosečna maksimalna temperatura bila je najviša na Avali (20,96 °C), nešto niža na Ozrenu (20,03 °C), a najniža na Zlatarskom jezeru (8,99 °C, odnosno 17,7% niža u odnosu na Avalu). Prosečne temperature za ovaj period su 16,85 °C na Avali, 13,12 °C na Zlatarskom jezeru i 15,26 °C na Ozrenu.

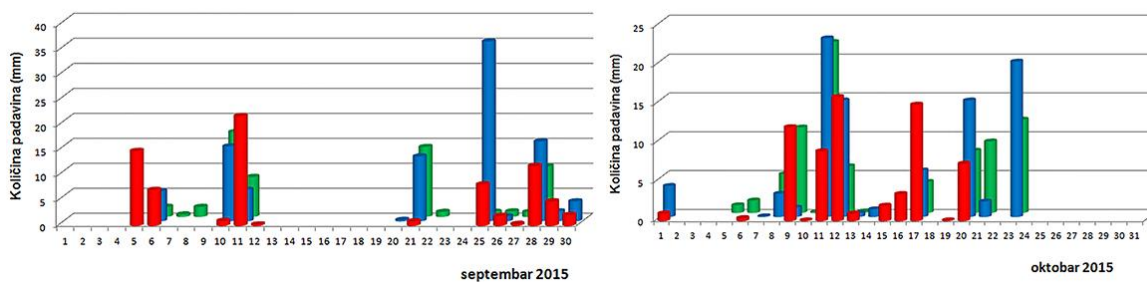


Slika 134a. Minimalne temperature na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu



Slika 134b. Maksimalne temperature na Avali, Zlatarskom jezeru i Ozrenu

Raspodela padavina tokom septembra i oktobra prikazana je na slici 135. Ukupna količina padavina je najveća na Zlatarskom jezeru (190,4 mm), pri čemu je nešto veća količina padavina zabeležena u septembru (99,6 mm) u odnosu na oktobar (90,8 mm). Ukupna suma padavina na Avali (143,8 mm) i Ozrenu (137,8 mm) je sličnih vrednosti. Na Avali su veće vrednosti zabeležene u septembru (76,2 mm) u odnosu na oktobar (67,6 mm), dok je obrnuta situacija na Ozrenu; veća u oktobru (80,1 mm) u odnosu na septembar (57,7 mm).

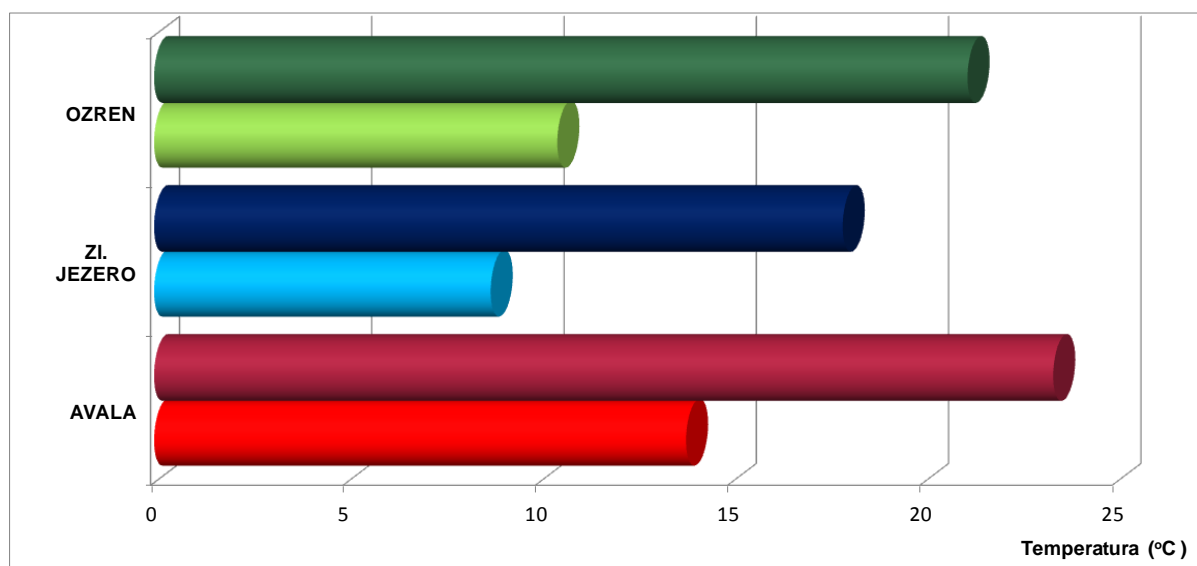


Slika 135. Ukupna količina padavina (mm) po danima na Avali (■), Zlatarskom jezeru (■) i Ozrenu (■) tokom septembra i oktobra 2015

Ukupna osunčanost (insolacija) tokom septembra i oktobra bila je najveća na Avali (355,9 h), niža na Ozrenu (294,1 h), a najmanja na Zlatarskom jezeru (302,7 h).

4.7.4. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i temperature na istraživanim lokalitetima

Na nivou celokupnog vegetacijskog perioda (1. mart - 31. oktobar) najviše temperature su zabeležene na lokalitetu Avala (prosečna temperatura 18,61 °C), za njom sledi Ozren (15,82 °C), a najniže su na Zlatarskom jezeru (8,76 °C) (Slika 136).



Slika 136. Prosečne minimalne i maksimalne temperature na istraživanim lokalitetima tokom vegetacijskog perioda (1. mart - 31 oktobar)

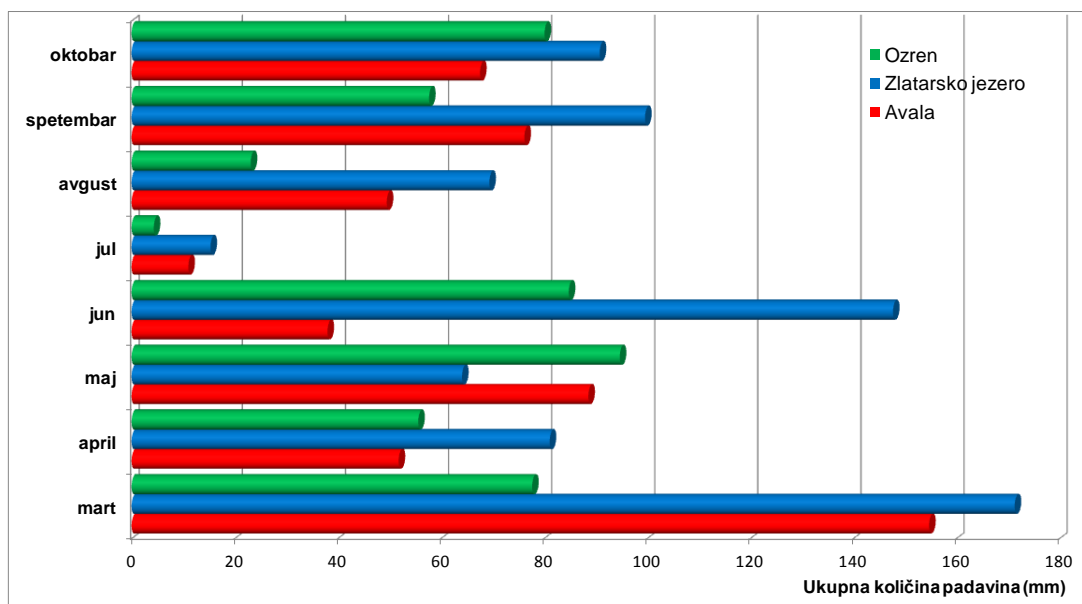
Jedan od ciljeva ovog rada bio je da se utvrdi da li postoji povezanost količine odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima ispitivanih vrsta sa temperaturom na lokalitetima gde je sakupljan biljni materijal. Dobijeni rezultati prikazani u tabeli 11. Rezultati pokazuju da postoji negativna korelacija sadržaja pet fenolnih jedinjenja i prosečne temperature kod jedinki vrste *C. mas* (jedino kvercetin-ramnozid nije korelisan sa temperaturom). Takođe, visok stepen negativne korelisanosti utvrđen je kod *R. canina* (sa izuzetkom kvercetin-rutinozida i -ramnozida). Kod ostale tri ispitivane vrste samo je po jedno fenolno jedinjenje korelisan sa temperaturom. Kod jedinki vrste *C. monogyna* to je kvercetin-rutinozid, čiji je sadržaj pozitivno korelisan sa temperaturom, a kod *P. spinosa* neohlorogena kiselina. Kod jedinki vrste *C. sanguinea* sadržaj kvercetin-rutinozida je negativno korelisan sa temperaturom. Od svih ispitivanih jedinjenja jedino sadržaj kvercetin-ramnozida nije korelisan sa temperaturom ni kod jedne ispitivane vrste.

Tabela 11. Koeficijent korelacije između sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja i prosečne temperature na staništima populacija iz kojih je uzorkovan biljni materijal (*r* - *Pirsonov koeficijent linearne korelacije*, *n*=30, **p*<0,05; ns= *korelacija nije statistički značajna*)

| | <i>R.</i> | <i>C. monogyna</i> | <i>P. spinosa</i> | <i>C. mas</i> | <i>C. sanguinea</i> |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 5-<i>O</i>-kafeoilhinska kiselina | -0,40* | -0,14 ^{ns} | 0,50 | -0,53* | -0,21 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-glukuronid | -0,61* | - | - | -0,43* | -0,25 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-galaktozid | -0,63* | 0,12 ^{ns} | 0,15 ^{ns} | -0,39* | -0,23 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-rutinozid | -0,24 ^{ns} | 0,43* | -0,33 ^{ns} | -0,46* | -0,44* |
| kvercetin-3-<i>O</i>-glukozid | -0,60* | 0,16 ^{ns} | -0,13 ^{ns} | -0,43* | -0,27 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-ramnozid | -0,28 ^{ns} | 0,35 ^{ns} | -0,30 ^{ns} | -0,30 ^{ns} | -0,18 ^{ns} |

4.7.5. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i količine padavina na istraživanim lokalitetima

U mnogim, a pogotovo u fito-ekološkim studijama, ukupna količina padavina na proučavanim staništima, kao i njihova vremenska raspodela predstavljaju jedan od najvažnijih faktora sredine. Padavine su nepravilno raspoređene u vremenu i prostoru na teritoriji Srbije i zavise pre svega od atmosferskih prilika i karakteristika reljefa. Smatra se da je na nivou cele zemlje normalna godišnja suma padavina 896 mm, ali takođe se ističe da se količina padavina značajno povećava sa povećanjem nadmorske visine. Utvrđeno je da zapadne i jugozapadne oblasti Srbije predstavljaju najkišovitije predele. Ukupna suma padavina tokom vegetacijskog period prikazana je na slici 137. Prosečna suma padavina iznosi 67,18 mm na Avali, 92,41 mm na Zlatarskom jezeru i 59,75 mm na Ozrenu.



Slika 137. Ukupna količina padavina (mm) po mesecima na istraživanim lokalitetima

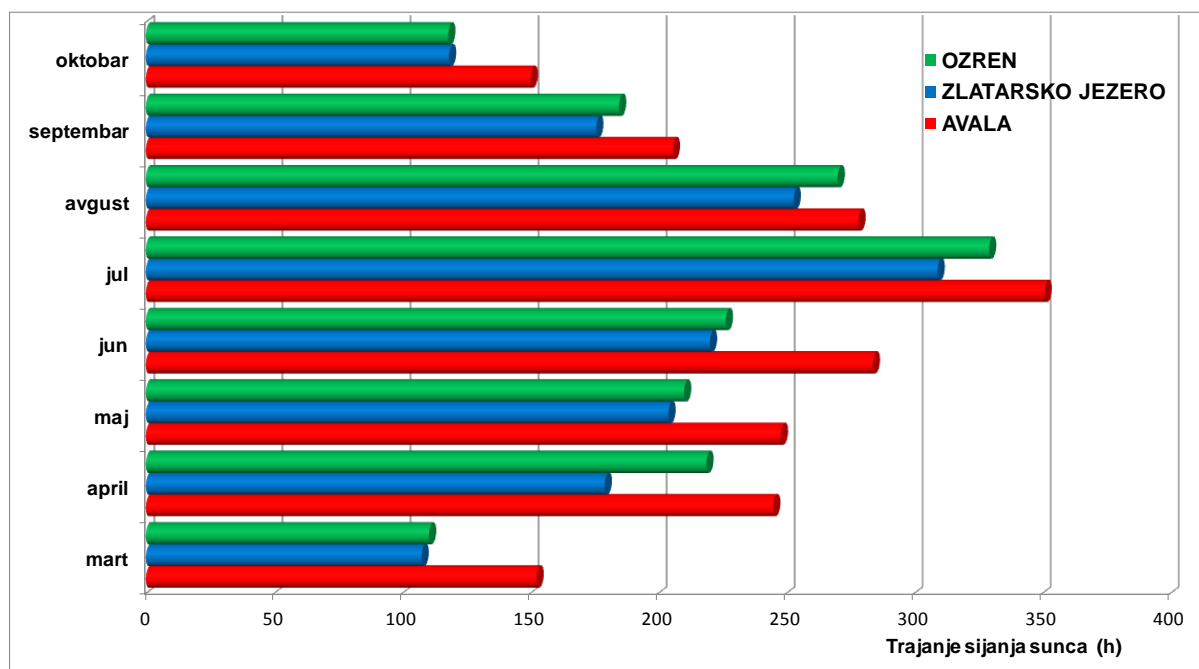
Pirson-ov koeficijent linearne korelacije sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja u plodovima ispitivanih vrsta i prosečne količine padavina na lokalitetima gde je sakupljan biljni materijal prikazan je u tabeli 12. Utvrđeno je da postoji pozitivna korelacija između sadržaja neohlorogene kiseline, kvercetin-glukuronida i -glukozida sa prosečnom količinom padavina kod jedinki vrste *R. canina*. Kod ostalih istraživanih vrsta koeficijenti korelacije nisu statistički značajni.

Tabela 12. Koeficijent korelacije između sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja i prosečne količine padavina na staništima populacija iz kojih je uzorkovan biljni materijal (*r* - Pirsonov koeficijent linearne korelacije, $n=30$, * $p<0,05$; ns= korelacija nije statistički značajna)

| | <i>R.</i> | <i>C. monogyna</i> | <i>P. spinosa</i> | <i>C. mas</i> | <i>C. sanguinea</i> |
|-----------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| 5-O-kafeoilhinska kiselina | 0,40* | 0,19 ^{ns} | 0,36 ^{ns} | 0,32 ^{ns} | 0,16 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-glukuronid | 0,63* | - | - | 0,19 ^{ns} | 0,19 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-galaktozid | 0,64* | 0,15 ^{ns} | -0,14 ^{ns} | 0,21 ^{ns} | 0,12 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-rutinozid | 0,27 ^{ns} | -0,29 ^{ns} | 0,25 ^{ns} | 0,23 ^{ns} | 0,22 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-glukozid | 0,62* | 0,09 ^{ns} | 0,09 ^{ns} | 0,20 ^{ns} | 0,13 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-ramnozid | 0,17 ^{ns} | -0,19 ^{ns} | 0,29 ^{ns} | 0,17 ^{ns} | 0,09 ^{ns} |

4.7.6. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i insolacije na istraživanim lokalitetima

Minimalne vrednosti za insolaciju na svim lokalitetima karakteristične su za mart, a maksimalne za jul. Na Avali ukupna insolacija iznosila je 1914,1 h (min 152,5; max 350,9 h), na Zlatarskom jezeru 1567 h (min 107,6 h; max 309,1 h), a na Ozrenu 1667,8 h (min 110,5 h; max 329,2 h) (Slika 138).



Slika 138. Ukupna insolacija (h) po mesecima na istraživanim lokalitetima

Najveća prosečna insolacija (izražena u satima) zabeležena je na Avali (239,26 h), manja je na Ozrenu (208,48 h), a najmanja na Zlatarskom jezeru (195,88 h). Rezultati (Tabela 13) pokazuju da postoji negativna korelacija sadržaja pet fenolnih jedinjenja i prosečne insolacije kod jedinki vrste *C. mas* (jedino kvercetin-ramnozid nije korelisan sa ovim faktorom). Kod vrste *R. canina* sa prosečnom insolacijom negativno je korelisan sadržaj kvercetin-glukonorida, -galaktozida i -glukozida. Kod *C. monogyna* pozitivno je korelisan sadržaj kvercetin-rutinozida, -glukozida i -ramnozida. Kod ostale dve vrste prosečna insolacija je negativno korelisana samo sa 5-O-kafeoilhinskom kiselinom (*P. spinosa*) i kvercetin-rutinozidom (*C. sanguinea*).

Tabela 13. Koeficijent korelacije između sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja i prosečne insolacije na staništima populacija iz kojih je uzorkovan biljni materijal (r - *Pirsonov koeficijent linearne korelacije*, $n=30$, $*p<0,05$; ns = povezanost nije statistički značajna)

| | <i>R.</i> | <i>C. monogyna</i> | <i>P. spinosa</i> | <i>C. mas</i> | <i>C. sanguinea</i> |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| 5-<i>O</i>-kafeoilhinska kiselina | -0,30 ^{ns} | -0,07 ^{ns} | -0,52* | -0,60* | -0,22 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-glukuronid | -0,46* | - | - | -0,56* | -0,27 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-galaktozid | -0,47* | 0,36 ^{ns} | 0,12 ^{ns} | -0,47* | -0,29 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-rutinozid | -0,15 ^{ns} | 0,47* | 0,32 ^{ns} | -0,57* | -0,55* |
| kvercetin-3-<i>O</i>-glukozid | -0,45* | 0,37* | -0,13 ^{ns} | -0,56* | -0,34 ^{ns} |
| kvercetin-3-<i>O</i>-ramnozid | -0,32 ^{ns} | 0,41* | -0,24 ^{ns} | -0,34 ^{ns} | -0,23 ^{ns} |

4.7.7. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i nadmorske visine istraživanih lokaliteta

Istraživani lokaliteti su bili geografski udaljeni, ali su se nalazili i na različitim nadmorskim visinama (Avala 331,62 m; Zlatarsko jezero 897,63 m; Ozren 665,37 m). Zbog ove razlike u nadmorskoj visini utvrđivano je i da li su sadržaji odabranih fenolnih jedinjenja kod istraživanih vrsta korelisani sa nadmorskom visinom staništa populacija iz kojih su uzimani uzorci plodova za fito-hemijsku analizu (Tabela 14). Utvrđeno je da postoji pozitivna korelacija sadržaja svih analiziranih fenolnih jedinjenja osim kvercetin-ramnozida i nadmorske visine kod jedinki vrste *C. mas*. Kod vrste *R. canina* sa nadmorskom visinom pozitivno je korelisan sadržaj kvercetin-glukonorida, -galaktozida i -glukozida. Kod *C. monogyna* pozitivno je korelisan sadržaj kvercetin-rutinozida, -glukozida i -ramnozida. Kod ostale dve vrste nadmorska visina je pozitivno korelisana samo sa 5-*O*-kafeoilhinskom kiselinom (*P. spinosa*) i sa kvercetin rutinozidom (*C. sanguinea*).

Tabela 14. Koeficijent korelacije između sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja i nadmorske visine staništa populacija iz kojih je uzorkovan biljni materijal (r - *Pirsonov koeficijent linearne korelacije*, $n=30$, $*p<0,05$; ns = povezanost nije statistički značajna)

| | <i>R. canina</i> | <i>C. monogyna</i> | <i>P. spinosa</i> | <i>C. mas</i> | <i>C. sanguinea</i> |
|-----------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| 5-O-kafeoilhinska kiselina | 0,34 ^{ns} | 0,09 ^{ns} | 0,53* | 0,60* | 0,23 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-glukuronid | 0,51* | - | - | 0,54* | 0,27 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-galaktozid | 0,53* | -0,29 ^{ns} | -0,13 ^{ns} | 0,46* | 0,28 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-rutinozid | 0,18 ^{ns} | -0,47* | 0,33 ^{ns} | 0,55* | 0,54* |
| kvercetin-3-O-glukozid | 0,51* | -0,31 ^{ns} | 0,13 ^{ns} | 0,53* | 0,33 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-ramnozid | 0,32 ^{ns} | -0,40* | 0,25 ^{ns} | 0,34 ^{ns} | 0,23 ^{ns} |

4.7.8. Korelaciona analiza sadržaja fenolnih jedinjenja i pokrovnosti istraživanih lokaliteta

Na Avali, uzorkovanje plodova ispitivanih vrsta je obavljeno u šumi hrasta sladuna i cera (*Quercetum frainetto-cerris s. lato*), na Zlatarskom jezeru u okviru šume kitnjaka i graba (*Ostryo-Quercetum petraeae s. lato*), dok su na Ozernu sve vrste osim *P. spinosa* bile prisutne u šumi sladuna i cera (*Quercetum frainetto-cerris s. lato*), dok je vrsta *P. spinosa* uzorkovana iz šume lužnjaka i žutilovke (*Genisto-Quercetum roboris s. lato*). Odabrane populacije su rasle u sklopu spontane flore, na staništima koja su bila udaljena od puta i relativno očuvana u pogledu biljnog pokrivača. Pokrovnost vegetacije na lokalitetima iz kojih su uzimani uzorci za analizu se razlikovala, tako da je ona procenjivana na osnovu Braun-Blanquet metode (Wikum i Shanholtzer 1978) i satelitskih snimaka terena koji su dostupni na portalu www.geosrbija.rs. Podaci za pokrovnost vegetacije, procenjeni na osnovu pokrovnosti svih članova zajednice na prostoru od 50 m², kretali su se u rasponu od 1 do 5: 1, 1-5%; 2, 5-25%; 3, 25-50%; 4, 50-75%; and 5, 75-100% pokrovnosti zemljišta. Zbog različite pokrovnosti staništa proučavanih populacija utvrđivano je i da li su sadržaji odabranih fenolnih jedinjenja kod istraživanih vrsta korelisani sa pokrovnošću vegetacije (Tabela 15).

Utvrđeno je da postoji pozitivna korelacija sadržaja svih analiziranih fenolnih jedinjenja i pokrovnosti kod jedinki vrste *C. mas*. Kod ostalih vrsta samo po jedno analizirano jedinjenje je statistički značajno korelisano sa pokrovnošću vegetacije (kod vrste *R. canina* i *C. sanguinea* negativno je korelisano sadržaj kvercetin-rutinozida, a isto jedinjenje je pozitivno korelisano kod vrste *C. monogyna*; sadržaj neohlorogene kiseline negativno je korelisano sa pokrovnošću kod jedinki vrste *P. spinosa*).

Tabela 15. Koeficijent korelacije između sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja i pokrovnosti vegetacije na staništima populacija iz kojih je uzorkovan biljni materijal (ρ - *Spirmanov* koeficijent korelacije, $n=30$, $*p<0,05$; ns = korelacija nije statistički značajna)

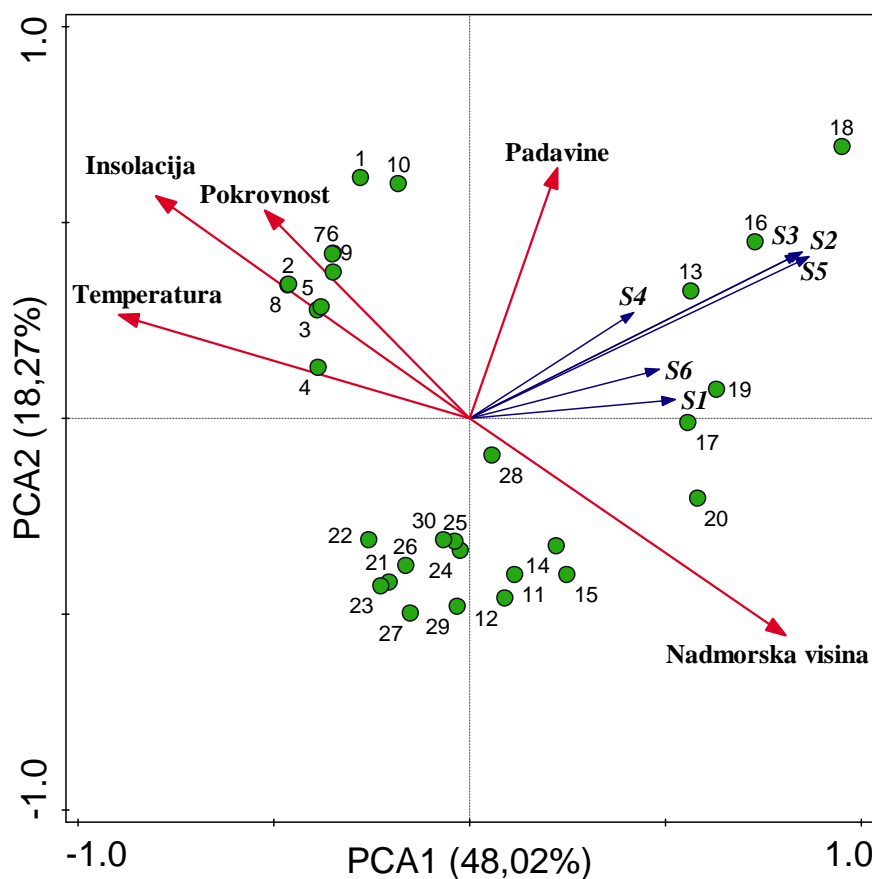
| | <i>R. canina</i> | <i>C. monogyna</i> | <i>P. spinosa</i> | <i>C. mas</i> | <i>C. sanguinea</i> |
|-----------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------|---------------------|
| 5-O-kafeoilhinska kiselina | -0,26 ^{ns} | 0,03 ^{ns} | -0,37* | -0,49* | -0,24 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-glukuronid | -0,24 ^{ns} | - | - | -0,69* | -0,26 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-galaktozid | -0,37 ^{ns} | 0,20 ^{ns} | -0,02 ^{ns} | -0,45* | -0,18 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-rutinozid | -0,32* | 0,38* | -0,18 ^{ns} | -0,61* | -0,45* |
| kvercetin-3-O-glukozid | -0,36 ^{ns} | 0,20 ^{ns} | -0,20 ^{ns} | -0,59* | -0,20 ^{ns} |
| kvercetin-3-O-ramnozid | 0,13 ^{ns} | 0,32 ^{ns} | -0,19 ^{ns} | -0,65* | -0,13 ^{ns} |

4.7.9. Utvrđivanje odnosa između sadržaja fenolnih jedinjenja i osnovnih faktora sredine istraživanih lokaliteta

Sinteza specifičnih sekundarnih metabolita u populacijama sa međusobno udaljenih staništa, odnosno sadržaj odabranih hemijskih jedinjenja, je deo adaptivnog odgovora biljaka na kompleks ekoloških faktora koji su karakteristični za svako stanište. Da bi utvrdili odnose između sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja i osnovnih faktora sredine primenjena je analiza glavnih komponenti sa sledećim varijablama: svojstva s1-s6 (sadržaj fenolnih jedinjenja), orografska karakteristika (nadmorska visina), pokrovnost vegetacije i faktori sredine (prosečna temperatura, prosečna količina padavina i prosečna insolacija tokom vegetacijskog perioda).

Rezultati prikazani na slici 139 pokazuju razdvajanje jedinki vrste *R. canina* duž dve PCA ose (PC1 48,02%, PC2 18,27%). Grupisanju individua 1-10 (populacija sa Avale) najviše doprinose temperatura, insolacija i pokrovnost. Na grupisanje individua iz populacije sa Zlatarskog jezera u većoj meri utiču nadmorska visina i količina padavina. Takođe njihov položaj je određen visokim sadržajem svih ispitivanih fenolnih jedinjenja (posebno sadržajem kvercetin-glukonorida, -galaktozida i -glukozida). Jedinke koje pripadaju populaciji sa Ozrena zauzimaju intermedijaran položaj u odnosu na ostale populacije. Međusobni odnosi između sadržaja ispitivanih jedinjenja i sredinskih faktora na nivou celokupnog uzorka vide se na osnovu njihovih korelacija: sadržaji svih fenolnih jedinjenja su pozitivno korelisani sa

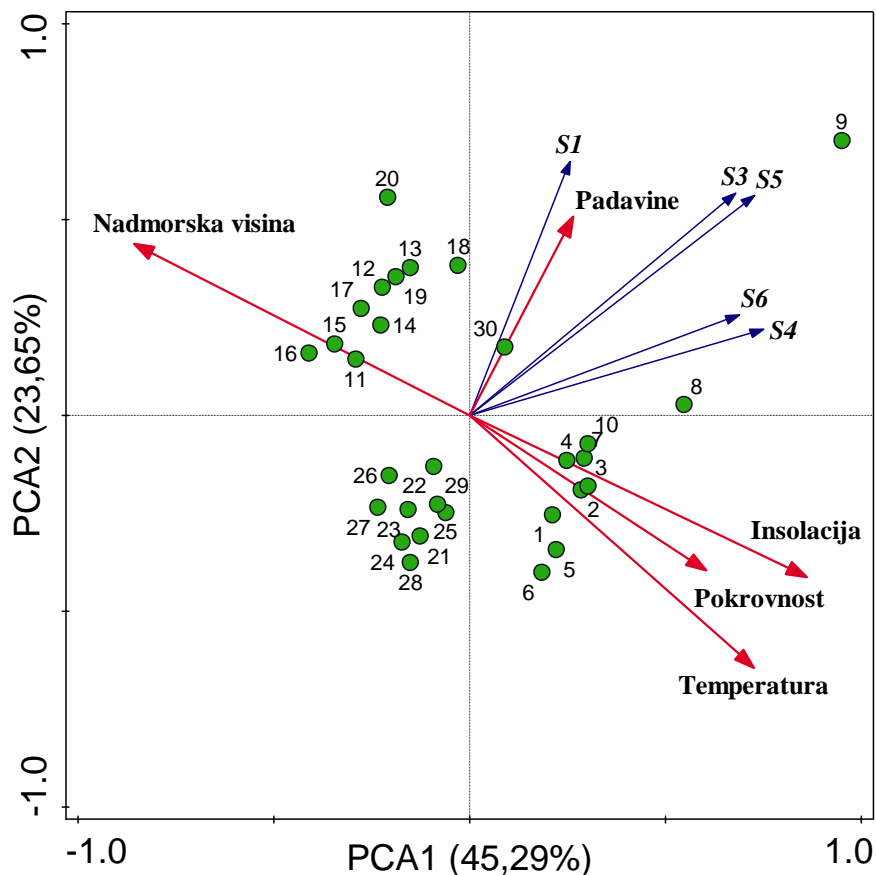
nadmorskom visinom i prosečnom količinom padavina, a negativno sa ostalim ispitivanim faktorima.



Slika 139. Analiza glavnih komponenti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) i osnovnih faktora sredine kod jedinki vrste *R. canina*

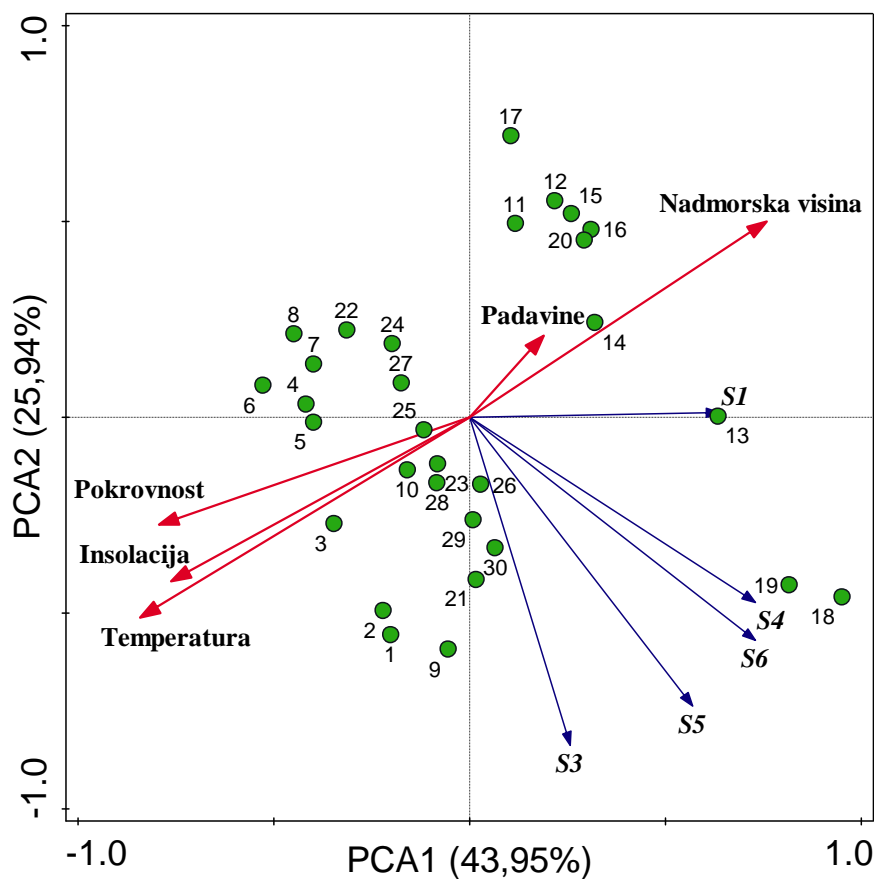
Rezultati prikazani na slici 140 pokazuju razdvajanje jedinki vrste *C. monogyna* duž dve PCA ose (PC1 45,29%, PC2 23,65%). Grupisanju individua 1-10 (populacija sa Avale) najviše doprinose temperatura, insolacija i pokrovnost. Na grupisanje individua iz populacije sa Zlatarskog jezera u najvećoj meri utiče nadmorska visina. Jedinke koje pripadaju populaciji sa Ozrena zauzimaju intermedijaran položaj i na njihovo izdvajanje utiče manji sadržaj svih ispitivanih fenolnih jedinjenja. Odnosi između sadržaja ispitivanih jedinjenja i sredinskih faktora na nivou celokupnog uzorka vide se na osnovu njihovih korelacija: sadržaji svih fenolnih jedinjenja su pozitivno korelisani sa prosečnom količinom padavina. Takođe se može uočiti da je sadržaj kvercetin-rutinozida i –ramnozida negativno korelisani sa nadmorskom

visinom staništa istraživanih populacija, a pozitivno sa insolacijom, pokrovnošću vegetacije i prosečnom temperaturom.



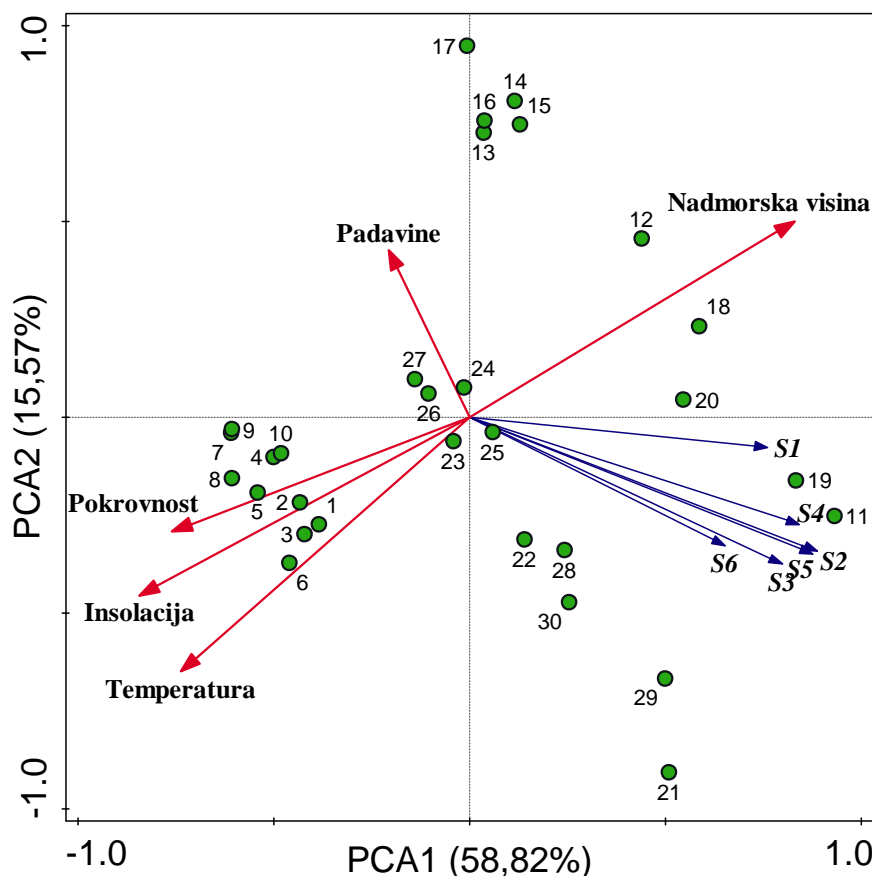
Slika 140. Analiza glavnih komponenti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) i osnovnih faktora sredine kod jedinki vrste *C. monogyna*

Rezultati prikazani na slici 141 pokazuju razdvajanje jedinki vrste *P. spinosa* duž dve PCA ose (PC1 43,95%, PC2 25,94%). Grupisanje individua je manje izraženo nego kod prethodnih vrsta; u istoj grupi se nalaze jedinke sa Avale i sa Ozrena, i na njihov položaj najviše utiču temperatura, insolacija i pokrovnost. Na grupisanje individua iz populacije sa Zlatarskog jezera u većoj meri utiču nadmorska visina (značajno) i količina padavina (manje značajno). Najveći stepen pozitivne korelacije je uočen između sadržaja neohlorogene kiseline i nadmorske visine.



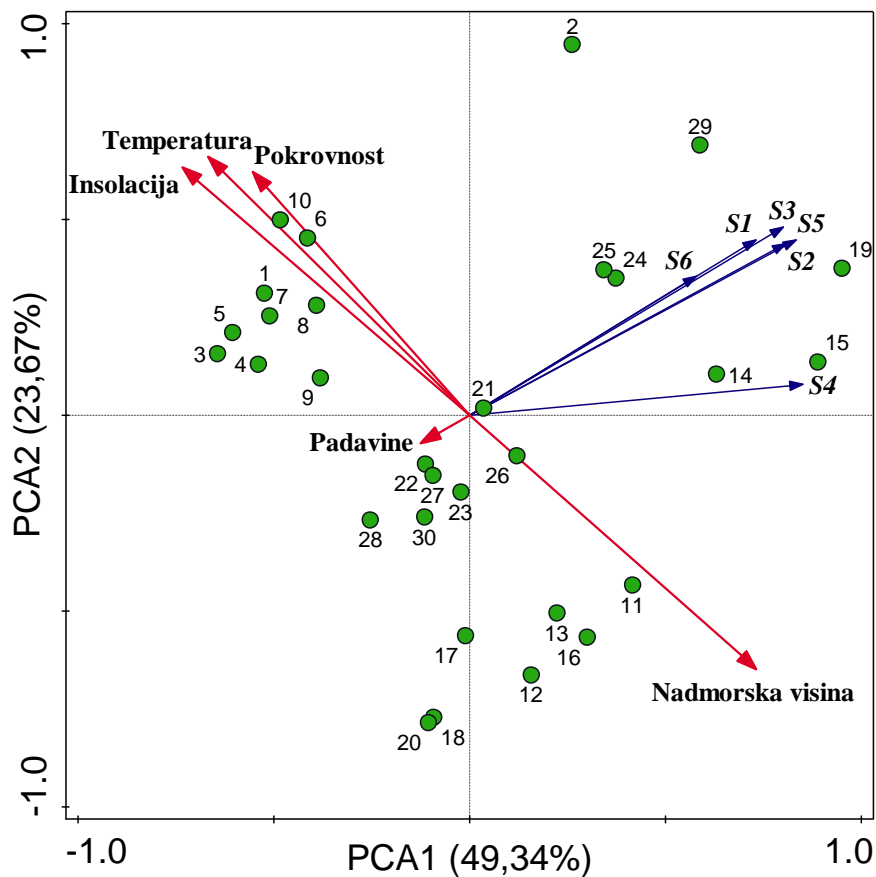
Slika 141. Analiza glavnih komponenti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) i osnovnih faktora sredine kod jedinki vrste *P. spinosa*

Rezultati prikazani na slici 142 pokazuju razdvajanje jedinki vrste *C. mas* duž dve PCA ose (PC1 58,82%, PC2 15,57%). Grupisanju individua 1-10 (populacija sa Avale) najviše doprinose temperatura, insolacija i pokrovnost vegetacije. Varijabilnost jedinki sa Zlatarskog jezera i sa Ozrena je veoma izražena, i njihov položaj je određen većim sadržajem fenolnih jedinjenja, a od sredinskih faktora relativno značajan uticaj imaju nadmorska visina i količina padavina. Međusobni odnosi između sadržaja ispitivanih jedinjenja i sredinskih faktora na nivou celokupnog uzorka vide se na osnovu njihovih korelacija: sadržaji svih fenolnih jedinjenja (najizraženije sa neohlorogenom kiselinom) su pozitivno korelisani sa nadmorskom visinom.



Slika 142. Analiza glavnih komponenti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) i osnovnih faktora sredine kod jedinki vrste *C. mas*

Rezultati prikazani na slici 143 pokazuju razdvajanje jedinki vrste *C. sanguinea* duž dve PCA ose (PC1 49,34%, PC2 23,67%). Izraziti uticaj na grupisanje individua 1-10 (populacija sa Avale) daju temperatura, insolacija i pokrovnost, položaj individua sa Zlatarskog jezera je uslovljen nadmorskom visinom, a jedinki sa Ozrena prosečnom količinom padavina. Kod ove vrste, sva ispitivana fenolna jedinjenja su izrazito pozitivno korelisana međusobno, i negativno korelisana sa prosečnom količinom padavina na staništu. Uticaj ostalih sredinskih faktora na pozicije svih jedinki je približno jednak, a uočljiva je izrazita negativna korelisanost nadmorske visine sa temperaturom, insolacijom i pokrovnosću vegetacije.



Slika 143. Analiza glavnih komponenti sadržaja odabranih fenolnih jedinjenja (s1-s6) i osnovnih faktora sredine kod jedinki vrste *C. sanguinea*

Na osnovu urađenih analiza, uočljivo je da je varijabilnost ukupnog uzorka kod svake vrste relativno visoka, jer prve dve PC ose objašnjavaju 60-70% ukupne varijabilnosti.

5. DISKUSIJA

Fitohemijška istraživanja obuhvataju kombinacije različitih kvalitativnih i kvantitativnih analiza uzoraka biljnog porekla. Kvalitativno-analitički pristup je usmeren na karakterizaciju sekundarnih metabolita prisutnih u biljnom uzorku, kroz potvrđivanje prisustva poznatih jedinjenja i prepoznavanje i definisanje nepoznatih jedinjenja, i obezbeđuje informacije o prisustvu pojedinih komponenti. Kvantitativne analize, koje su zahtevnije kako u izboru analitičke metode, tako i u obradi i tumačenju dobijenih rezultata, obezbeđuju više informacija o sastavu uzoraka biljnog porekla i omogućavaju da se upoređuju grupe i individue koje se međusobno razlikuju po određenim parametrima (taksonomskoj kategorizaciji, geografskom poreklu, genetičkoj strukturi, stepenu ugroženosti, odgovoru na promenjene uslove sredine, uticaju stresa, itd.). Takođe, kvantitativna fitohemijška istraživanja omogućavaju da se uporede podaci dobijeni primenom različitih metodologija, utvrdi kompatibilnost sa definisanim parametrima, i time obezbeđuje pouzdanost rezultata (Scalabrin 2015).

Hemijška karakterizacija i kvantifikacija („chemical fingerprinting“) pojedinačnih metabolita predstavlja kombinovanje tehnika analitičke hemije, biohemije i obrade podataka u cilju dobijanja preciznih informacija o prisutnim komponentama u ispitivanom uzorku. Kada je u pitanju proučavanje fenotipskih promena kod biljaka i traženje odgovora na reakcije biljnog metabolizma u različitim uslovima, podaci dobijeni kvantifikacijom pojedinačnih metabolita mogu sveobuhvatnije da objasne funkcionalni i adaptivni odgovor biljaka u odnosu na proteomičke i genetičke analize (Bedair i Sumner 2008, Glauser i sar. 2013). U biljnoj fiziologiji i ekofiziologiji, ovakav pristup se često primenjuje, jer doprinosi upoznavanju biljnog metabolizma i rasvetljavanju pojedinih biosintetičkih puteva (Kruger i Ratcliffe 2012, Van Meulebroek i sar 2012), kao i izučavanju adaptivnog odgovora biljaka na delovanje faktora spoljašnje sredine (Fiehn 2002, Kroymann 2011, Kumar i Pandey 2013). Sekundarni biljni metaboliti se proizvode u specifičnim delovima biljke u određenim razvojnim stadijumima, i to uglavnom u malim količinama. Ukupna količina sekundarnih metabolita je često manja od 1% suve težine biljke i u velikoj meri podložna uticaju različitih unutrašnjih i spoljašnjih faktora. Zbog toga, kvantifikacija i procena varijabilnosti pojedinih sekundarnih metabolita može biti veoma značajna u sagledavanju njihove ekološke funkcije (Nuutila i Oksman-Caldentey 2003, Kroymann 2011). Primenjena u populaciono-ekološkim istraživanjima, kvantifikacija sekundarnih metabolita omogućava da se utvrdi hemijška distanca između

različitim populacija, proceni adaptivni kapacitet vrste, kao i da se sa velikom preciznošću identifikuje geografsko poreklo biljnog uzorka. Podaci dobijeni u kvantitativnoj analizi podležu obradi koja podrazumeva upotrebu multivarijantnih statističkih analiza (PCA i CA), kao i složenijih statističkih procedura kojima se razdvajaju grupe (uzoraka) i procenjuje uticaj pojedinih komponenti na distinkciju između njih. Istovremeno, ova istraživanja pružaju mogućnost da se utvrditi i pouzdanost odabranih hemijskih karaktera u razdvajanju grupa, odnosno varijabilnost ili stabilnost pojedinih metabolita u promeljivim uslovima (Bundy i sar. 2009). Teoretski, svaki od analiziranih metabolita može biti korišćen kao kriterijum za razdvajanje između različitih grupa (vrsta, populacija, tretmana), mada je u praksi pokazano da ipak nisu svi podjednako relevantni, odnosno dokazano je da se u statističkim procedurama dobijaju pouzdanije pretpostavke ukoliko se razmatra samo jedna, najrelevantnija varijabla (Barnard i sar. 2013). Zbog toga, izbor sekundarnih metabolita kao relevantnih faktora razdvajanja grupa, i mogućih indikatora za različite adaptivne strategije, predstavlja važan korak u fitohemijskim studijama.

U ovom radu, kombinovane su analitičke tehnike, kojima su identifikovana odabrana fenolna jedinjenja u plodovima pet šumskih drvenastih vrsta sa različitih staništa, sa hemometrijskim analizama, što je dalo brojne informacije značajne za fitohemijsko profilisanje ispitivanih vrsta, njihovih populacija i procenu njihovog adaptivnog odgovora i potencijala.

Odavno se zna da su nutritivna i lekovita vrednost hrane neraskidivno povezane, kao i da je ispitivanje hemijskog sastava jestivih prirodnih proizvoda, a među njima posebno onih koji nisu temeljno istraživani, a označeni su kao lekoviti u tradicionalnim izvorima, neophodno da bi se dobila šira perspektiva u prevenciji i tretmanu različitih medicinskih stanja. Jestivi delovi biljaka, koji pored svoje osnovne hranljive uloge, ispoljavaju i dodatne zdravstvene efekte kojima mogu da se preduprede ili ublaže posledice (uglavnom hronične) bolesti uklapaju se u koncept „funkcionalne hrane“ (hranljive namirnice koje pozitivno dopirnose jednoj ili većem broju telesnih funkcija i smanjuju rizik od pojave bolesti) (Heinrich i Prieto-Garcia 2008, Heinrich i sar. 2012). Kod divljih vrsta voća, njihovo delovanje kao „funkcionalne hrane“ se zasniva na prisustvu određene količine biološki aktivnih komponenti, prirodnih antioksidanata.

Određivanje fenolnog profila biljaka za koje je već indikovano pozitivno zdravstveno delovanje koje je povezano sa visokim sadržajem fenolnih jedinjenja (Li i sar. 2016), i utvrđene korelacije između sadržaja fenolnih jedinjenja i biološkog delovanja ekstrakata (Lobo i sar. 2010) daje novu dimenziju u sagledavanju odnosa pojedinih metabolita i očekivanog

delovanja. Zbog toga se primenjuju ciljane analize kojima se dokazuje prisustvo i količina pojedinačnih jedinjenja.

Slobodne fenolne kiseline i derivati kvercetina se često istražuju sa ovog aspekta jer su u biološkim sistemima lako dostupni, odnosno efikasno se usvajaju i metabolišu. Da bi se namirnice biljnog porekla okarakterisale kao korisne za zdravlje, mora se uzeti u obzir ne samo njihov fitohemijski sastav, već i količina lako dostupnih, biološki aktivnih i korisnih metabolita, kao i njihovi međusobni odnosi u jestivom delu biljke.

Neohlorogena kiselina je konstatovana u ekstraktima plodova svih ispitivanih vrsta. Kada se upoređuju ispitivane vrste, najveći sadržaj ove fenolne kiseline je utvrđen kod vrste *C. mas* ($22,05 \pm 14,85 \mu\text{g/g SvT}$, u ukupnom uzorku), relativno visoke koncentracije su detektovane kod vrsta *C. monogyna* ($7,58 \pm 8,27 \mu\text{g/g SvT}$) i *C. sanguinea* ($5,86 \pm 4,92 \mu\text{g/g SvT}$), dok je kod ostale dve vrste zabeležena manja količina ove kiseline: *P. spinosa* ($2,02 \pm 1,29 \mu\text{g/g SvT}$) i *R. canina* ($1,23 \pm 1,00 \mu\text{g/g SvT}$). Hlorogena i neohlorogena kiselina se obično nalaze u velikom broju biljaka. Obzirom da pokazuju antimikrobnu aktivnost, plodovi bogati ovim kiselinama su otporni na bolesti izazvane gljivama proporcionalno njihovom sadržaju u kori i spoljašnjem delu ploda (Villarino i sar. 2011). Takođe, dokazana su njihova antioksidativna svojstva u vezivanju jona metala, inhibiciji oksidacije lipida, inhibiciji enzima koji učestvuju u obazovanju slobodnih radikala i u eliminaciji slobodnih radikala (Kim i sar. 2003). Biološka iskoristljivost neohlorogene kiseline je relativno dobra, jer spada u hidroksicinamične kiseline prisutne u slobodnoj formi, koje se apsorbuju u tankom crevu mnogo brže nego konjugovani oblici (Kim i sar. 2003). S obzirom na to da se ovim metabolitima pripisuju izrazita antioksidativna svojstva, njihov sadržaj je kvantifikovan u većem broju plodova koji se koriste u ishrani. Izrazito bogat prirodni izvor neohlorogene kiseline je *Aronia melanocarpa* čiji plodovi sadrže $29,08 \mu\text{g/g SuT}$ (Oszmiański i Wojdylo 2005).

Prema našim rezultatima, kao vrsta bogata ovim prirodnim antioksidantom može se smatrati *C. mas*, jer je sadržaj neohlorogene kiseline u plodovima dreva bio $22,05 \pm 14,85 \mu\text{g/g SvT}$ u ukupnom uzorku (sa lokaliteta Zlatarsko jezero $30,82$), što je značajno iznad vrednosti kod kultivisanih vrsta čiji se plodovi koriste u ishrani i smatraju korisnim kao izvori antioksidanata (*Prunus domestica* $1,4\text{--}4,6 \mu\text{g/g SvT}$, *P. persica* $30\text{--}82 \mu\text{g/g SvT}$, *P. avium* $10,6 \mu\text{g/g SvT}$, *P. cerasus* $15,8 \mu\text{g/g SvT}$) (Jakobek i sar. 2009, Usenik i sar. 2013). Upoređivanjem sadržaja neohlorogene kiseline kod ispitivanih vrsta, sledeća po sadržaju je bila *C. monogyna* ($7,58 \pm 8,27 \mu\text{g/g SvT}$), zatim *C. sanguinea* ($5,76 \pm 4,76 \mu\text{g/g SvT}$), *P. spinosa* ($2,02 \pm 1,29 \mu\text{g/g}$), dok

je najniži sadržaj zabeležen kod *R. canina* ($1,23 \pm 1,00 \mu\text{g/g SvT}$). Iako su vrednosti koje su zabeležene kod vrste *P. spinosa* bile manje u odnosu na ispitivane vrste, ovo fenolno jedinjenje je karakteristično kako za ovu vrstu, tako i za druge vrste roda *Prunus*, i u poređenju sa dostupnim podacima, prisutno u relativno visokoj koncentraciji. Različite vrste roda *Prunus* su poznate po visokom sadržaju neohlorogene kiseline, za koju se smatra da u velikoj meri doprinosi pozitivnim zdravstvenim efektima njihovih plodova. U suvom stanju, plodovi šljive (*P. domestica*) imaju najveći antioksidativni kapacitet u odnosu na druge vrste suvog voća (Kimura i sar. 2008), a ta sposobnost je posledica prisustva veće količine hlorogene i neohlorogene kiseline nego prisustva vitamina C i E (Kayano i sar. 2002). Pozitivni efekti konzumiranja plodova bogatih neohlorogenom i hlorogenom kiselinom se ogledaju u prevenciji oksidacije lipoproteina LDL za 86-97%, što u krajnjoj liniji omogućava zaštitu od pojave nekih degenerativnih oboljenja (Fang i sar. 2002). Pokazano je da je neohlorogena kiselina dominantna u plodovima *P. domestica* u odnosu na ostale antioksidanse, a za njom sledi hlorogena kiselina (Lucas i sar. 2004). U svežim plodovima šljive neohlorogena kiselina je prisutna u količini od $810 \mu\text{g/g}$, u suvim plodovima $1310 \mu\text{g/g}$, i $225 \mu\text{g/g}$ svežeg soka (Stacewicz-Sapuntzakis i sar. 2001). Izomeri neohlorogena, kriptohlorogena i hlorogena kiselina su bili prisutni u plodovima *P. domestica* u odnosu 78,7:18,4:3,9, i svi su pokazali jaku antioksidativnu aktivnost (Nakatani i sar. 2000). Ispitivanja divlje vrste *P. spinosa* su potvrdila prisustvo ove kiseline u plodovima, a nekim studijama je pokazano da je ona bila dominantno jedinjenje (Jaiswal 2013, Guimarães i sar. 2013).

Od **glikozida kvercetina** analiziranih u ovom radu, u plodovima svih ispitivanih vrsta u količini dovoljnoj za kvantifikaciju su konstatovani -rutinozid, -glukozid, -galaktozid i -ramnozid, dok -glukuronid nije konstatovan u plodovima gloga i trnjine. Kvercetin i njegovi derivati su fiziološki aktivni molekuli koji imaju brojne pozitivne zdravstvene efekte na ljudsko zdravlje, pre svega delujući antioksidativno, prevencijom oksidacije lipoproteina LDL, vezivanjem metala i hvatanjem slobodnih kiseonikovih radikala (Graefe i sar. 2001). Međutim, ovi efekti u velikom stepenu zavise od biološke dostupnosti, odnosno apsorpcije flavonoida nakon konzumiranja (Graefe i sar. 1999). Često se ukazuje da se flavonoidi iz hrane ne mogu apsorbovati upravo zbog toga što su vezani sa šećerima u formu glikozida, i da samo flavnoidi bez šećerne komponente (aglikoni) mogu da prođu kroz crevni zid. Hidroliza šećerne komponente se obavlja u debelom crevu, pod delovanjem crevne flore (Hollman i sar. 1995). Dokazano je međutim, da se kvercetin glikozidi efikasno apsorbuju kod ljudi zahvaljujući postojanju natrijum-glukoznog transportera u crevnom traktu, koji ima veći afinitet za

kvercetin glikozide u odnosu na ostale glikozide (Hollman i sar. 1999, Gee i sar. 1998), kao i da pokazuju znatan antioksidativni potencijal nakon apsorpcije (Graefe i sar. 2001). Zbog odgovarajuće farmakokinetike kvercetin glikozida (efikasna apsorpcija i spora eliminacija tokom dana izlučivanjem), smatra se da ova jedinjenja mogu značajno da doprinesu zaštiti od oksidacije u krvnoj plazmi (Hollman i sar. 1997). Od kvercetin 3-*O*-glikozida, najefikasnije se apsorbuju -glukuronid, -glukozid i -galaktozid, a nešto manje efikasno -rutinozid i -ramnozid (Arts i sar. 2004).

Kvercetin glikozidi se u većoj količini nalaze u plodovima voća, jabukama, kruškama, breskvama, trešnjama, kao i u bobičastom voću (borovnice, jagode, kupine, maline). Pored toga, utvrđeno je da su i divlje vrste voća takođe bogati prirodni izvori ovih jedinjenja: divlja borovnica, brusnica, divlja kupina, divlja jagoda, šipurak, crveni glog, jarebika, zova, trnjina, dren, a u studijama u kojima je vršena kvantifikacija pojedinih glikozida utvrđeno je da je njihova količina veća u odnosu na srodne kultivisane vrste (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012, Ruiz-Rodríguez i sar. 2014). Prema literaturnim podacima (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012), najveće količine **kvercetin-galaktozida** sadrže plodovi visokožbunaste američke borovnice ($64,1 \pm 5,2 \mu\text{g/g SvT}$), aronije ($63,6 \pm 3,3 \mu\text{g/g SvT}$), marele ($55,1 \pm 4,8 \mu\text{g/g SvT}$), kineskog gloga ($43,0 \pm 3,3 \mu\text{g/g SvT}$), brusnice ($35,6 \pm 2,1 \mu\text{g/g SvT}$), divlje kupine ($29,6 \pm 3,4 \mu\text{g/g SvT}$), crvenog gloga ($28,1 \pm 0,85 \mu\text{g/g SvT}$) i divlje borovnice ($24,4 \pm 1,4 \mu\text{g/g SvT}$). Prema rezultatima dobijenim u ovoj studiji, plodovi vrsta *C. monogyna* i *C. sanguinea* sadrže veoma visoke količine ovog jedinjenja ($335,41 \pm 204,95 \mu\text{g/g SvT}$, odnosno $264,77 \pm 275,02 \mu\text{g/g SvT}$ u ukupnom uzorku iz svih populacija). *R. canina*, sa vrednošću od $39,44 \pm 48,65 \mu\text{g/g SvT}$, takođe spada u vrste bogate kvercetin-3-*O*-galaktozidom, dok su kod vrsta *P. spinosa* i *C. mas* zabeležene manje količine ovog jedinjenja ($9,61 \pm 7,02 \mu\text{g/g SvT}$, odnosno $5,67 \pm 4,09 \mu\text{g/g SvT}$).

Najveće količine **kvercetin-glukozida** se nalaze u plodovima gajene zove ($46,2 \pm 1,6 \mu\text{g/g SvT}$), aronije ($43,8 \pm 1,3 \mu\text{g/g SvT}$), kineskog gloga ($36,4 \pm 3,2 \mu\text{g/g SvT}$), merale ($28,5 \pm 2,6 \mu\text{g/g SvT}$) i divlje zove ($19,6 \pm 1,8 \mu\text{g/g SvT}$) (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012). Rezultati dobijeni u ovoj studiji pokazuju da plodovi vrsta *C. sanguinea* i *C. monogyna* imaju veoma visoke količine ovog jedinjenja ($320,81 \pm 251,43 \mu\text{g/g SvT}$, odnosno $200,43 \pm 202,39 \mu\text{g/g SvT}$ u ukupnom uzorku iz svih populacija). U plodovima *R. canina* zabeležena je relativno visoka koncentracija kvercetin-3-*O*-glukozida ($33,08 \pm 41,22 \mu\text{g/g SvT}$), dok je znatno manja

količina ovog jedinjenja zabeležena kod vrsta *P. spinosa* ($12,47 \pm 6,14 \mu\text{g/g SvT}$) i *C. mas* ($4,29 \pm 3,03 \mu\text{g/g SvT}$).

Po visokoj količini **kvercetin-rutinozida** u plodovima ističu se gajena zova ($493,1 \pm 34,5 \mu\text{g/g SvT}$) i divlja zova ($397,3 \pm 28,3 \mu\text{g/g SvT}$), crni dud ($76,6 \pm 5,6 \mu\text{g/g SvT}$), aronija ($42,4 \pm 1,1 \mu\text{g/g SvT}$), ribizla ($36,9 \pm 2,9 \mu\text{g/g SvT}$), jarebika ($32,8 \pm 2,4 \mu\text{g/g SvT}$) i crveni glog ($30,8 \pm 4,2 \mu\text{g/g SvT}$) (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012). Na osnovu rezultata ove studije, relativno velike količine ovog jedinjenja su prisutne u plodovima vrsta *P. spinosa*, *C. sanguinea* i *C. monogyna* ($55,92 \pm 37,99 \mu\text{g/g SvT}$, $42,12 \pm 27,32 \mu\text{g/g SvT}$, odnosno $27,54 \pm 34,36 \mu\text{g/g SvT}$ u ukupnom uzorku iz svih populacija). U plodovima *C. mas* i *R. canina* konstatovane su značajno manje količine ovog jedinjenja ($5,33 \pm 4,31 \mu\text{g/g SvT}$, odnosno $3,68 \pm 2,95 \mu\text{g/g SvT}$).

Kao dominantan derivat kvercetina, **kvercetin-glukuronid** je prisutan kod divlje kupine ($52,9 \pm 2,4 \mu\text{g/g SvT}$), borovnice ($30,4 \pm 1,8 \mu\text{g/g SvT}$), pitome maline ($11,9 \pm 0,8 \mu\text{g/g SvT}$), a nalazi se u relativno velikim količinama i u plodovima šipurka ($8,5 \pm 2,4 \mu\text{g/g SvT}$), aronije ($5,6 \pm 0,15 \mu\text{g/g SvT}$), pitome kupine ($4,4 \pm 0,29 \mu\text{g/g SvT}$), divlje maline ($2,7 \pm 0,23 \mu\text{g/g SvT}$) i visokožbunaste američke borovnice ($2,5 \pm 0,4 \mu\text{g/g SvT}$) (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012). Kod vrsta ispitivanih u ovom radu, zabeležene su veoma velike količine -glukuronida, koje prevazilaze do sada objavljene podatke kod vrsta koje se smatraju bogatim prirodnim izvorima ovog jedinjenja. Vrsta *C. sanguinea* se ističe po veoma velikim količinama kvercetin-3-*O*-glukuronida u ekstraktima plodova ($982,50 \pm 342,62 \mu\text{g/g SvT}$ u ukupnom uzorku, a približno slične količine su bile prisutne na svim lokalitetima). Kod vrsta *C. mas* i *R. canina* zabeležene su relativno visoke vrednosti, koje odgovaraju podacima poznatim za vrste bogate ovim jedinjenjem ($81,14 \pm 94,95 \mu\text{g/g SvT}$, odnosno $36,15 \pm 34,42 \mu\text{g/g SvT}$), dok u plodovima *P. spinosa* i *C. monogyna* nije detektovano prisustvo -glukuronida.

Od analiziranih derivata kvercetina, **kvercetin-ramnozid** je bio najmanje zastupljen kod ispitivanih vrsta. Prema literaturi, -ramnozid je dominantan kvercetin glikozid kod američke brusnice ($72,1 \pm 5,7 \mu\text{g/g SvT}$), a zastupljen je i kod marale ($30,9 \pm 2,2 \mu\text{g/g SvT}$), divlje borovnice ($8,2 \pm 0,36 \mu\text{g/g SvT}$) i crvene ribizle ($2,3 \pm 0,54 \mu\text{g/g SvT}$) (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012). U poređenju sa ovim podacima, na osnovu rezultata dobijenih u ovim istraživanjima može se reći da plodovi *P. spinosa* i *R. canina* sadrže velike količine ovog jedinjenja ($51,2 \pm 42,56 \mu\text{g/g SvT}$, odnosno $44,15 \pm 50,17 \mu\text{g/g SvT}$), dok je kod ostalih ispitivanih vrsta ovo

jedinjenje prisutno u veoma malim količinama (*C. sanguinea* $0,25 \pm 0,25$ $\mu\text{g/g}$ SvT, *C. monogyne* $0,08 \pm 0,11$ $\mu\text{g/g}$ SvT i *C. mas* $0,05 \pm 0,11$ $\mu\text{g/g}$ SvT).

5.1. Ukupan sadržaj fenola u analiziranim vrstama

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ukupnih fenola kod analiziranih vrsta prikazani u ovoj studiji mogu su uporediti sa nekim drugim rezultatima iz literature dobijenim primenom iste ili u manjem stepenu modifikovane metode. Egea i sar. (2010) su analizirajući plod *R. canina* iz Španije naveli vrednost od $609,19 \pm 69,81$ mg GAE/100g SvT; Barros i sar. (2011) navode vrednost od $149,35 \pm 6,64$ mg GAE/100g SvT ekstrakta za uzorke iz Portugala; Daels-Rakotoarison i sar. (2012) navode vrednost od $197,24$ mg GAE/100 g SuT ploda za uzorke iz Francuske. Za vrstu *C. monogyne* Egea i sar. (2010) su analizirajući plod iz Španije naveli vrednost od $216,61 \pm 28,19$ mg GAE/100g SvT; Barros i sar. (2011b) navode vrednost od $274,27 \pm 5,91$ mg GAE/100g SvT ekstrakta za uzorke iz Portugala; Ruiz-Rodríguez i sar. (2014) su određivali ukupan sadržaj fenola u plodovima iz centralne Španije tokom tri godine (2007-2009) i utvrdili da se on kreće u rasponu od $584,63 \pm 8,45$ do $1374,04 \pm 1,4$ mg GAE/100g SvT. Za vrstu *P. spinosa* Egea i sar. (2010) su analizirajući plodove iz Španije naveli vrednost od $127,33 \pm 4,29$ mg GAE/100g SvT; Radovanović i sar. (2013) su za uzorke iz regiona Vlasine (jugoistočna Srbija) naveli vrednost od $7959,9 \pm 1,95$ mg GAE/kg SvT; Veličković i sar. (2014) su za uzorke iz jugoistočne Srbije utvrdili da ukupni sadržaj fenola varira od $15,33$ do $20,94$ mg GAE/g SvT. Za vrstu *C. mas* Radovanović i sar. (2013) su za uzorke iz jugoistočna Srbije naveli vrednost od $8625,89 \pm 1,45$ mg GAE/kg SvT.

5.2. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima *R. canina*

Fitohemijski sastav plodova vrste *R. canina* je izučavan u većem broju studija, i utvrđeno je prisustvo fenolnih kiselina, antocijanidina (cijanidin-3-*O*-glukozida) (Hvattum 2002), flavonola (kvercetin, rutin, (+) katehin, (-) katehin), flavanona (hesperidin, eriodictiol, taksifolin), derivata dihidrokalkhona (floridzin)), tanina (Atanassova i Christova-Bagdassarian 2009), flavonoida (Kumarasamy i sar. 2003), flavona (apigenin), lignana, pektina, karotenoida (Hodisan i sar. 1997, Böhm i sar. 2003), masnih kiselina (oleinske i palmitinske) (Zlatanov 1999, Szentmihályi i sar. 2002, Nowak 2005) i voćnih kiselina (askorbinske, malične i limunske) (Uggla i sar. 2003). Smatra se da su plodovi šipurka, od svih ispitivanih plodova voća i povrća, najbogatiji vitaminom C (Ercisli 2007), ali takođe je utvrđeno da količina ovog vitamina može značajno da varira u zavisnosti od varijabilnosti biljnog materijala, metoda

ekstrakcije, a naročito ukoliko se izražava u odnosu na suvu težinu ploda (Daels-Rakotoarison i sar. 2002). Visok sadržaj vitamina C u plodovima *R. canina* je korelisan sa antioksidativnim i prooksidativnim delovanjem ekstrakta plodova (Kılıçgün i Altınar 2010, Aptin i sar. 2013). U mnogim studijama je utvrđen ukupan sadržaj fenola i/ili flavonoida u plodovima *R. canina*, korišćenjem spektrofotometrijske metode, i pokazano je da je antioksidativno delovanje ekstrakata plodova značajno korelirano sa ovim vrednostima (Nowak i Gawlik-Dzikib 2007, Montazeri i sar. 2011). Biološki aktivna jedinjenja iz plodova *R. canina* iz prirodnih populacija (α -tokoferol, β -karoten, askorbinska kiselina) su pokazali aktivnost u eliminisanju slobodnih radikala (DPPH), redukcijom potencijala, inhibiciji obezbojavanja β -karotena i peroksidaciji lipida (Barros i sar. 2011), polifenoli i vitamin C su ispoljili antiradikalnu aktivnost (testiranjem DPPH) (Tumbas i sar. 2012, Roman i sar. 2013), a fenoli i karotenoidi su ispoljili isti efekat (testiranjem ABTS, H_2O_2) (Egea i sar. 2010).

U ovom radu, primenom ciljane detekcije odabranih fenolnih jedinjenja, u ukupnom uzorku plodova *R. canina* zabeleženo je prisustvo svih šest jedinjenja. Prema količinama prisutnim u ekstraktima plodova, jedinjenja su detektovana u sledećem redosledu: Q-3-O-Rha ($44,15 \pm 50,17 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-O-Gal ($39,44 \pm 48,65 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-O-GlcA ($36,15 \pm 34,42 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-O-Glc ($33,08 \pm 41,22 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-O-Rut ($3,68 \pm 2,95 \mu\text{g/g SvT}$) i 5-O-CQ ($1,23 \pm 1 \mu\text{g/g SvT}$). U poređenju sa dosadašnjim fitohemijskim studijama *R. canina*, jedinice iz populacija koje smo analizirali sadrže jedinjenja koja su već detektovana kod ove vrste. Međutim, do sada nije publikovano puno podataka koji se odnose na kvantitativnu analizu pojedinih jedinjenja. Naime, često se navodi da je određeno jedinjenje bilo prisutno u najvećoj količini (ili se navodi ukupna količina nekoliko srodnih derivata), bez kvantifikacije pojedinih jedinjenja, što treba uzeti u obzir prilikom poređenja. Takođe, uglavnom se rade ciljane analize, pa dostupni podaci zavise od selekcije jedinjenja i izbora standarda. Na osnovu literature u kojoj su prikazani rezultati kvantifikacije, dobijeni istom metodom kao i u ovom radu, može se uočiti da je kod različitih populacija dominantna drugačija vrsta glikozida. Prema podacima iz Slovenije, u ekstraktima plodova *R. canina* iz prirodnih populacija, dominantan je bio -galatkozid, dok -ramnozid, koji je prema našim rezultatima prisutan u najvećoj količini, nije ni bio detektovan u tim uzorcima (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012), ali je bio prisutan u populacijama iz Portugala (Guimarães i sar. 2013). Kvercetin-3-O-galaktozid, u uzorcima koji su analizirani u ovoj studiji, drugi po količini od ispitivanih derivata kvercetina, u drugim studijama je konstatovan u mnogo manjim količinama (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012); takođe, količina kvercetin-3-O-glukuronida u plodovima jedinki iz populacija istraživanih u ovoj

studiji bila je značajno veća u odnosu na objavljene podatke za populacije iz Slovenije (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012, Cunja i sar. 2015) i Portugala (Guimarães i sar. 2013). Kvercetin-3-*O*-glukozid, prema dobijenim rezultatima, je bio prisutan u relativno velikoj količini u poređenju sa rezultatima prikazanim za populaciju sa našeg prostora (metanolni ekstrakt, Nađpal i sar. 2016), kao i onim saopštenim od strane drugih autora (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012, Guimarães i sar. 2013). Nasuprot tome, prema rezultatima ovog istraživanja, količina kvercetin 3-*O*-rutinozida je bila manja u odnosu na ranije saopštene podatke (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012, Guimarães i sar. 2013).

Komparativnom analizom četiri vrste roda *Rosa* (*R. glauca*, *R. canina* ssp. *canina*, *R. sempervirens*, *R. rubiginosa*) i tri kultivara, Cunja i sar. (2014) su konstatovali najveći ukupan sadržaj fenola kod vrste *R. canina*, što potvrđuje široko prihvaćeno prepoznavanje ove vrste kao korisne u odnosu na ostale vrste iz roda *Rosa*. Takođe, identifikovali su više vrsta derivata kvercetina u listovima svih ispitivanih vrsta (-arabinofuranozid, -galaktozid, -glukozid, -glukuronid, -ramnozid, -ksilozid, -rutinozid). Sadržaj kvercetin 3-*O*-glukuronida u plodu *R. canina*, kao i sadržaji drugih flavonoida, varira tokom perioda sazrevanja, i manji je kod potpuno zrelog ploda ($13,7 \pm 2,7$ $\mu\text{g/g}$ SuT) u odnosu na period početka zrenja ($17,2 \pm 2,1$ $\mu\text{g/g}$ SuT) (Cunja i sar. 2015). Derivati kvercetina su bili naročito prisutni u listovima kod *R. sempervirens* i *R. canina*, a dominantan je bio -rutinozid, koji je prema rezultatima ove studije u plodu prisutan u najmanjoj količini u odnosu na ostale ispitivane derivate kvercetina. Kod kultivara *R. hybrid*, Shetty i sar. (2011) su takođe identifikovali nekoliko kvercetin glikozida, sa dominantnim prisustvom -rutinozida i -ramnozida. U navedenoj studiji (Cunja i sar. 2014), kod svih vrsta i kultivara je zabeleženo prisustvo *trans*-5-kafeoilhinske kiseline (hlorogene), dok su Shetty i sar. (2011) kod *R. hybrid* zabeležili prisustvo i hlorogene i neohlorogene kiseline. Od fenolnih kiselina hlorogena je bila najzastupljenija kod *R. hybrid* (Shetty i sar. 2011), kao i kod *R. canina*, *R. glauca*, *R. rubiginosa* i jednog kultivara, dok je neohlorogena bila dominantna kod drugog kultivara (Cunja i sar. 2014). Potvrđivanjem visokog sadržaja fenolnih jedinjenja u listovima, ove vrste se smatraju pogodnima za dalja istraživanja osetljivosti, odnosno otpornosti na različite bolesti, i mogu biti potencijalno važna za ukrštanja.

Nekoliko dosadašnjih studija je potvrdilo prisustvo hlorogene kiseline u ekstraktima plodova različitih vrsta roda *Rosa* (*R. canina*, *R. dumalis*, *R. gallica*, *R. dumalis* ssp. *boissieri* i *R. hirtissima*, kao i kultivara), i zabeležene vrednosti su se kretale u rasponu $7,55 \pm 0,26$ do $12,11 \pm 0,53$ $\mu\text{g/g}$ SuT (Demir i sar. 2014). U odnosu na ostale prisutne hidrosicinamične kiseline,

hlorogena je bila dominantna, a ovakav raspon u količini hlorogene kiseline kod različitih vrsta, autori su objasnili kao rezultat delovanja različitih faktora okruženja (svetlosti, temperature, zemljišnih nutrijenata) i zrelosti ploda koja može da utiče na metabolizam i konverziju fenola. U ekstraktima pupoljaka *R. canina* identifikovane su hlorogena i neohlorogena kiselina, a od 16 konstatovanih flavnola, potvrđeno je prisustvo sledećih kvercetin glukozida: kvercetin glukuronid, -galaktozid, -glukozid, -galoil, -pentozid i -ramnozid. Zavisno od uzorka, dominantni su bili -rutinozid, -galaktozid, odnosno -glukuronid (Ieri i sar. 2015). Nowak i Tuzimski (2005) su dokazali prisustvo kvercetin-ramnozida, -glukozida i -galaktozida u ekstraktima listova. Ciljana identifikacija flavnol glikozida i fenolnih kiselina u plodovima *R. canina* iz prirodnih populacija primenom HPLC-DAD/-ESI-MS tehnike je potvrdila prisustvo kvercetin-pentozida, -heksuronida, -glukozida, -glukuronida, 3-kafeoilhinske kiseline i kvercetina (Stänilä i sar. 2015).

Kvercetin (od flavnoida) i elagična kiselina (od fenolnih kiselina) su bili dominantne komponente u plodovima *R. canina* iz Finske (Koponen i sar. 2007) i iz Tunisa (Hosni i sar. 2010). U pogledu kvantifikacije pojedinih derivata kvercetina u plodovima šipurka, za sada ne postoji puno podataka. Mikulič-Petkovšek i sar. (2012) su u opsežnoj studiji, koja je obuhvatila 28 vrsta bobičastih plodova (divljih i kultivisanih vrsta), identifikovali i kvantifikovali pet kvercetin glukozida u metanolnom ekstraktu ploda *R. canina*. Dominantan je bio -galaktozid ($9,7 \pm 2,41 \mu\text{g/g SvT}$), zatim -glukuronid ($8,5 \pm 2,4 \mu\text{g/g SvT}$), -rutinozid ($6 \pm 1,5 \mu\text{g/g SvT}$), -glukozid ($4,1 \pm 0,61 \mu\text{g/g SvT}$) i -arafidozid ($1,0 \pm 0,12 \mu\text{g/g SvT}$). U drugoj studiji koju su publikovali Nađpal i sar. (2016), metanolni ekstrakt plodova *R. canina* je sadržao visoku koncentraciju -ramnozida ($95,21 \pm 3,29 \mu\text{g/g SuT}$) i -glukozida ($9,41 \pm 0,36 \mu\text{g/g SuT}$). U plodovima *R. canina* iz prirodnih populacija Guimarães i sar. (2013) su identifikovali i kvantifikovali sledeće derivate kvercetina: -glukozid ($6,61 \pm 0,11 \mu\text{g/g SuT}$), -rutinozid ($4,71 \pm 0,10 \mu\text{g/g SuT}$), -ramnozid ($4,61 \pm 0,10 \mu\text{g/g SuT}$), -glukuronid ($2,51 \pm 0,11 \mu\text{g/g SuT}$). Svi navedeni podaci mogu se upoređivati kada se uzmu u obzir razlike u decimalnom prikazu, kao i prikazu težine jedinjenja u odnosu na suhu/svežu težinu ploda.

Donekle drugačiji podaci se dobijaju kada se rezultati prikažu u odnosu na težinu ekstrakta. U radu koji su objavili Sofić i sar. (2010), HPLC-ED analizom kvantifikovan je kvercetin-rutinozid u vodenim ekstraktima listova i plodova 50 lekovitih biljaka, među kojima su bile i divlje vrste voća. Izražno u $\mu\text{g/g}$ ekstrakta, *R. canina* je bila među vrstama sa relativno visokim sadržajem rutina ($10000 \mu\text{g/g}$ ekstrakta), dok je većina ostalih vrsta imala vrednost nižu od

5000 µg/g ekstrakta. Kvalitativna i kvantitativna HPLC analiza frakcija ekstrakta *R. canina* sa našeg područja (Tumbas i sar. 2012) je pokazala prisustvo flavonoida (najzastupljeniji kvercetin 296,5 µg/kg SuT, kampferol 53,38 µg/kg SuT i rutin 63,35 µg/kg SuT; rezultati su izraženi kao težina jedinjenja prema težini osušenog čaja šipka), a od fenolnih kiselina najzastupljenija je bila elagična.

Analiza flavonoida (HPLC-DAD-ESI-MS metodom) u ekstraktima listova *R. canina* dobijenih pomoću dva rastvarača (etanol i metanol) je potvrdila prisustvo sledećih derivata kvercetina: kvercetin di-*O*-heksozida, kvercetin-glukozida i kvercetin-ramnozida (Ouerghemmi i sar. 2016). Konstatovana jedinjenja su bila prisutna samo u tragovima (ili u vrlo malim količinama) u etanolnom ekstraktu, dok su u metanolnom ekstraktu kvantifikovana u većoj količini. U radu su upoređivane tri vrste roda *Rosa*: *R. canina*, *R. moschata* i *R. sepmervirens*, i pokazano je da ispitivani flavonoidi (15 komponenti) mogu biti dobri hemotaksonomski markeri, obzirom da se *R. canina* karakteriše većim sadržajem derivata kampferola, dok su ostale dve vrste imale veći sadržaj derivata kvercetina. Pored toga, autori su utvrdili da su ispitivani flavonoidi efikasnije ekstrahovani upotrebom metanola.

5.2.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda *Rosa*

U okviru roda *Rosa* (Rosaceae) opisano je preko 200 vrsta koje su široko rasprostranjene u Evropi, Aziji, na Srednjem Istoku i u Severnoj Americi (Li i sar. 2013). Pošto se plodovi mnogih vrsta koriste za jelo, u biljnoj medicini i kozmetici, njihov hemijski sastav se izučava već duži niz godina. Objavljeni podaci dokazuju da su plodovi različitih vrsta roda *Rosa* veoma bogati brojnim organskim i neorganskim jedinjenjima: mineralima, vitaminima, šećerima, fenolnim jedinjenjima, karotenoidima, tokoferolom, bioflavonoidima, taninima, organskim kiselinama, voćnim kiselinama, aminokiselinama, isparljivim uljima i pektinom (De Vries 1980, Muhitch i Fletcher 1984, Zhao i sar. 1988, Razungles i sar. 1989, Biacs i Daood 1994, Chai i Ding 1995, Izhaki 1998, Demir i Özcan 2001, Cutter 2003, Uggla i sar. 2005, Ercisli i sar. 2007). U Srbiji se sreće 21 vrsta roda *Rosa*, od kojih su dve u obliku sorti, a 19 vrsta je prisutno u prirodnim populacijama (*R. agrestis*, *R. andegravensis*, *R. arvensis*, *R. caesia*, *R. canina*, *R. dumetorum*, *R. foetida*, *R. gallica*, *R. glutinosa*, *R. micrantha*, *R. nitidula*, *R. robustifolia*, *R. pendulina*, *R. pomifera*, *R. rubiginosa*, *R. rubrifolia*, *R. spinossisima*, *R. tomentosa*, *R. vosagiaca*). *R. canina* je veoma polimorfna vrsta u okviru koje je opisan veći broj podvrsta, varijeteta i formi, kao i nekoliko hibrida sa drugim ružama (Mratinić i Kojić 1998).

Iako je *R. canina*, kao lekovita vrsta sa jestivim plodovima, najviše ispitivana u pogledu karakterizacije flavonoida i derivata kvercetina, dostupni su podaci i za druge vrste. Sadržaj flavonoida i askorbinske kiseline u plodovima 11 vrsta *Rosa* (iz sekcije Caninae) je bio dobar hemotaksonomski marker koji je potvrdio podelu na tri podsekcije unutar ove grupe (Adamczak i sar. 2012). U ekstraktima plodova *R. dumalis*, *R. mollis* i *R. sherardii* HPLC-ESI-MS analizom je utvrđeno prisustvo dva kvercetin-heksuronida, -ramnozida, -galaktozida i -rutinozida (Salminen i sar. 2005).

5.3. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima *C. monogyna*

Od velikog broja vrsta roda *Crataegus* (1250) koje naseljavaju umerene i suptropske krajeve severne hemisfere, u Srbiji se sreće 8 vrsta, od kojih se jedna gaji kao dekorativna (*C. crus-galli*), a ostalih 7 se sreće u prirodnim populacijama (*C. calycina*, *C. heldreichii*, *C. lanciniata*, *C. monogyna*, *C. nigra*, *C. oxycanta*, *C. pentagyna*). Sve vrste su u narodu poznate pod imenom glog. Iako cvetovi, plodovi i listovi različitih vrsta predstavljaju važnu sirovinu za farmaceutsku industriju, pregledom dostupne literaturne može se zaključiti da su populacije sa teritorije Srbije relativno malo izučavane. Plodovi i cvetovi vrste *C. monogyna* imaju dokazano pozitivno delovanje na zdravlje ljudi, a za njihov najpoznatiji efekat u relaksaciji srčanog mišića i srčanoj funkciji su odgovorni flavonoidi (u najvećoj meri *O*-glikozidi, luteolin-7-glukozid, hiperozid, rutin) (Schüssler i sar. 1995).

Prema rezultatima prezentovanim u ovoj studiji, od analiziranih fenolnih jedinjenja, u ukupnom uzorku plodova vrste *C. monogyna* se nalazi pet fenolnih jedinjenja u sledećem redosledu: Q-3-*O*-Gal ($335,41 \pm 204,95 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Glc ($200,43 \pm 202,39 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Rut ($27,54 \pm 34,36 \mu\text{g/g SvT}$), 5-*O*-CQ ($7,58 \pm 8,27 \mu\text{g/g SvT}$) i Q-3-*O*-Rha ($0,08 \pm 0,11 \mu\text{g/g SvT}$), dok je Q-3-*O*-GlcA bio identifikovan samo u ekstraktima plodova jedinki iz populacije sa Ozrena, ali u izuzetno malim količinama koje su bile nedovoljne za kvantifikaciju. Identifikovana jedinjenja su već poznati konstituenti plodova gloga, a količine prisutnih jedinjenja u različitim populacijama variraju. Sličan raspored i odnosi između kvercetin derivata su utvrđeni kod populacija iz Litvanije (-galatkozid>-rutinozid>-ramnozid, Bernatoniene i sar. 2009), i u dve studije iz Portugala (-glukozid>-rutinozid, Rodrigues i sar 2012; -glukozid>-rutinozid, i relativno visok sadržaj neohlorogene kiseline, Barros i sar. 2012).

U plodovima vrste *C. monogyna* dokazano je prisustvo masnih kiselina, tokoferola, vitamina C (Morales i sar. 2013), antocijana (Rodrigues i sar. 2012), flavonoida (Bahorun i sar. 1994, Blumenthal i sar. 2000, Rehwald i sar. 1994), oligomernih protocijanidina (Blumenthal i sar. 2000, Rehwald i sar. 1994), triterpenskih kiselina (Leung i Foster 1996), organskih kiselina (Gao i sar. 1995), sterola i malih količina kardioaktivnih amina. Od svih navedenih jedinjenja, smatra se da flavonoidi i oligomerni protocijanidini pokazuju najizraženiju biološku aktivnost (Chang i sar. 2002, Martino i sar. 2008).

Ispitivanje sadržaja fenolnih jedinjenja u plodovima *C. monogyna* je bilo predmet mnogih studija; primenom spektrofotometrijske metode je utvrđen ukupan sadržaj fenola i korelisan sa antioksidativnim delovanjem ekstrakta plodova, pri čemu je utvrđena visoka pozitivna korelisanost između ova dva parametra (Bahorun i sar. 1994, Kiselova i sar. 2006, Dragović-Uzelac i sar. 2007, Bernatonienė i sar. 2008, Egea i sar. 2010, Çalışkan i sar. 2012, Rodrigues i sar. 2014).

Ciljanom identifikacijom i kvantifikacijom jedinjenja (HPLC-DAD-ESI/MS metodom) u metalnom ekstraktu plodova *C. monogyna*, Rodrigues i sar (2012) su, pored ostalih fenolnih jedinjenja, kvantifikovali sadržaj hidrokisicinamične kiseline - hlorogene ($600,0 \pm 20,0 \mu\text{g/g}$ SuT), kvercetin-glukozida ($510,0 \pm 20,0 \mu\text{g/g}$ SuT), kvercetin-heksozida ($210,0 \pm 10,0 \mu\text{g/g}$ SuT), kvercetin acetil-heksozida ($30,00 \pm 1,00 \mu\text{g/g}$ SuT) i kvercetin-rutinozida ($20,02 \pm 1,00 \mu\text{g/g}$ SuT). HPLC DAD i MS analiza fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodovima *C. monogyna* nije potvrdila postojanje hlorogene kiseline, a od kvercetin derivata konstatovan je samo kvercetin -rutinozid (Simirgiotis 2013).

Iz različitih biljnih organa *C. monogyna* izolovani su brojni flavoni i flavonoli sa 1,2-dihidroksibenzenovom grupom na B-prstenu. Kvercetin-glukozid (hiperozid) je izolovan u kalusoj kulturi ćelija (Bahorun i sar 1994), a takođe je prisutan kao osnovna komponenta cvetova (Rohr i sar 1999). Ređe prisutan derivat flavona vezan sa glukozom i ramnozom je izolovan iz listova (Nikolov i sar. 1981). U listovima je utvrđeno prisustvo kafene i hlorogene kiseline ($1370\text{-}35800 \mu\text{g/g}$, odnosno $9250\text{-}46370 \mu\text{g/g}$ ekstrakta), kao i drugih fenolnih kiselina (Öztürk i Tunçel 2011). Dokazivanjem derivata hidrokisicinamične kiseline HPLC-DAD-ESI/MS analizom, u cvetovima je potvrđeno prisustvo kafeoilhinskih kiselina (3- i 4-*O*-kafeoil derivata), međutim one nisu i izolovane (Rohr i sar 1999). Primenom iste metode, Bernatoniene i sar. (2009) su utvrdili prisustvo hlorogene kiseline ($34600 \mu\text{g/ml}$ ekstrakta), hiperozida ($29320 \mu\text{g/ml}$ ekstrakta), rutina ($26400 \mu\text{g/ml}$ ekstrakta), kvercetina ($12600 \mu\text{g/ml}$ ekstrakta),

i kvercitrina (4900 µg/ml ekstrakta) u etanolnom ekstraktu ploda *C. monogyna*. Analiza fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova *C. monogyna* (metanolni ekstrakt) HPLC-DAD-ESI/MS metodom koju su uradili Barros i sar. (2012), potvrdila je prisustvo neohlorogene kiseline (2330 µg/g SuT), kvercetin-glukozida (4660 µg/g SuT), kvercetin-rutinozida (880 µg/g SuT) i kvercetin acetil-heksozida (450 µg/g SuT).

5.3.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda *Crataegus*

Fitohemijaska ispitivanja plodova vrsta roda *Crataegus* iz Azije, Evrope i Amerike su pokazala da oni sadrže terpenoide, polifenole (katehine, uglavnom epikatehin, polimerne i oligomerne proantocijanidine, cijanidin 3-*O*-galaktozid, idein, kafenu i hlorogenu kiselinu) i flavonoide (kvercetin 3-*O*-galaktozid, viteksin 2'-*O*-ramnozid, acetilviteksin 2'-*O*-ramnozid, flavon-C-glikozide, hiperozid, kvercetin), steroide, lignane, vitamine, antocijanine (Froehlicher i sar. 2009, Shao-Jiang i sar. 2011, Calişkan i sar. 2012; Edwards i sar. 2012, Ruiz-Rodríguez i sar. 2014, Wu i sar. 2014). Lignani (Huang i sar. 2014) i lignan glikozidi (Gao i sar. 2010) su označeni kao važni hemotaksonomski markeri kod vrsta roda *Crataegus*.

Do sada je izolovano više od 50 flavonoida iz vrsta roda *Crataegus* (Nikolov i sar. 1982, Dauguet i sar. 1993, Yang i Le 2012), a utvrđeno je i da sadržaj aglikona iznosi 0,18% od ukupne količine flavonoida. Hiperozid je osnovni flavonol u plodovima gloga (Tadić i sar. 2008), a pored njega su prisutni *O*-glukozidi kao što su luteolin-7-glukozid i rutin, i C-glukozidi kao što su viteksin, viteksin ramnozid i monoacetilviteksin ramnozid (Schussler i sar. 1995).

Hlorogena kiselina je detektovana u plodovima i listovima svih ispitivanih vrsta roda *Crataegus* (Yang i Liu 2012), dok je prisustvo neohlorogene potvrđeno u plodovima *C. grayana* (Liu i sar. 2011, Yang i Liu 2012).

Osnovne fenolne komponente u plodovima vrste *C. pinnatifida* (identifikovane HPLC metodom) su bile epikatehin, hlorogena kiselina, procijanidin B2, hiperozid i izokvercitrin (Wen i sar. 2015). Iste komponente su identifikovane u etanolnim ekstraktima plodova *C. pinnatifida* Bge. var. *major*, kao i cijanidin-3-*O*-galaktozid (Liu i sar. 2010).

Sa područja jugoistočne Srbije, ispitivana je vrsta *C. oxycantha*, čiji su plodovi analizirani u pogledu ukupnog sadržaja fenola i flavonoida, kao i antimikrobne efikasnosti. Dobijene vrednosti su potvrdile da ova vrsta sadži fenolna jedinjenja u količinama koje su u rangu visoko cenjenjih lekovitih biljaka (Kostić i sar. 2012).

5.4. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima *P. spinosa*

U plodovima vrste *P. spinosa* sa Avale, Zlatarskog jezera i sa Ozrena (u ukupnom uzorku), zabeleženo je prisustvo pet fenolnih jedinjenja u sledećem redosledu prema količinama prisutnim u ekstraktima: Q-3-*O*-Rut ($55,92 \pm 37,99 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Rha ($51,20 \pm 42,56 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Glc ($12,47 \pm 6,14 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Gal ($9,61 \pm 7,02 \mu\text{g/g SvT}$) i 5-*O*-CQ ($2,02 \pm 1,29 \mu\text{g/g SvT}$). Kvercetin-glukuronid nije detektovan u ekstraktima plodova, a ovo jedinjenje prema dostupnim literaturnim podacima do sada nije zabeleženo kod vrste *P. spinosa*. Sva jedinjenja koja su identifikovana i kvantifikovana u ovom radu se pominju u ranijoj literaturi kao fenolna jedinjenja prisutna u plodu trnjine. Kvantifikacijom pojedinih jedinjenja u plodovima trnjine sa naših prostora (Vlasine) utvrđeno je da je kvercetin-glikozid bio prisutan u približno dvostruko većoj količini nego -rutinozid (odnos 2,3:1) (Radovanović i sar. 2013), dok prema našim podacima -glukozida bilo pet puta manje nego -rutinozida. Kvercetin-rutinozid je takođe bio dominantan u plodovima trnjine iz Portugala, i njegova količina je bila desetostruko veća u odnosu na količinu -glukozida (Guimarães i sar. 2013).

Na osnovu fitohemijskih ispitivanja različitih biljnih organa *P. spinosa*, utvrđeno je prisustvo velikog broja jedinjenja. U svežim cvetovima *P. spinosa* nalaze se cijanogeni glikozidi, flavonoidi, rutin i hiperiozid (Olszewska i Wolbis 2001). Od flavonoida, iz cvetova trnjine izolovani su kampferol, kvercetin, kamferol 3-*O*- α -L-arabinofuranozid, kvercetin 3-*O*- α -L-arabinofuranozid, kvercetin-*O*- α -D-ksilopiranozid, kampferol 3-*O*- α -L arabinofuranozide-7-*O*- α -L-ramnopiranozid (Sakar i Kolodziej 1993, Olszewska i Wolbis 2002, Erturk i sar. 2012). Koštice sadrže toksični glikozid amigdalini koji stvara cijanovodonik. Kvantitativne studije populacija iz Poljske su pokazale da cvetovi sadrže velike količine flavonoida (oko 2,7% aglikona i 3,8% glikozida) (Olszewska i sar. 2001), dok je u populaciji iz Rumunije zabeleženo 1,2% aglikona (Tamas 1985). Takođe, utvrđeno je da se u cvetovima nalaze protocijanidini A-tipa (Kolodziej i sar. 1991) i fenolne kiseline (Olszewska i Wolbis 2001). Od kvercetina, kampferola i njihovih heterozida u cvetovima *P. spinosa* iz populacija sa teritorije Poljske, najzastupljeniji su bili flavonoidi u obliku monoglikozida, uglavnom kampferol i kvercetin 3-*O*-arabinozidi, dok je u listovima bilo najviše kampferol 3,7-*O*-diramnozida (Horhammer i sar. 1957). Struktura ovih jedinjenja je određivana različitim hemijskim i instrumentalnim tehnikama (UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS). Poznato je da cvetovi i listovi trnjine sadrže kompleks flavonoida, derivata flavonola: kampferola, kvercetina i njihovih glikozida za

arabinozom, ramnozom i ksilozom (Tamas 1985), kao i antocijane (cijanidin-3-rutinozid, peonidin-3-rutinozid i cianidin-3-glukozid) koji imaju važnu ulogu u antioksidativnom delovanju ekstrakata različitih biljnih delova trnjine (Veličković i sar. 2014). U cvetu i listu trnjine, ekstrahovanim etanolom, potvrđeno je prisustvo hidroksicimentnih kiselina, a HPLC metodom je dokazano prisustvo hlorogene kiseline, kvercetin-pentozilheksozida (1 i 2) i kvercetin-rutinozida, kao i derivati kampferola, miricetina, katehin, procijanidin, p-kumarinska kiselina i 3-p-kumaroilkininska kiselina (Fadić 2016).

Veličković i sar. (2014) su ispitali fenolni sastav plodova *P. spinosa* uzorkovanih iz jugoistočnog dela Srbije primenom HPLC analize i utvrdili njihovu antimikrobnu aktivnost. U etanolnim i etanolno-vodenim ekstraktima utvrđeno je prisustvo fenolnih kiselina (neohlorogene i kafene), flavonoida (kvercetin i miricetin) i antocijana (cijanidin-3-O-glukozid, cijanidin-3-O-rutinozid, peonidin-3-O-glukozid). Još jedna analiza sadržaja fenola i flavonoida u plodovima *P. spinosa* sa našeg područja je pokazala da je izolovanje ovih jedinjenja kada se kao rastvarač koristi 50% etanol (Arsić i sar. 2016). Plodovi *P. spinosa* iz prirodnih populacija, sa Vlasine, su analizirani u pogledu ukupnog sadržaja fenola i flavonola, a HPLC metodom je utvrđen sadržaj fenolnih i hidroksicinamičnih kiselina, kao i pojedinih flavonola (kvercetin-glikozid $32,02 \pm 1,42 \mu\text{g/g SvT}$; rutin $13,86 \pm 1,44 \mu\text{g/g SvT}$; kvercetin $1,16 \pm 0,21 \mu\text{g/g SvT}$) (Radovanović i sar. 2013).

U zavisnosti od količina polifenola kod plodova samoniklih voćaka, ispoljava se i njihova antioksidativna aktivnost, što je potvrđeno u studiji sa šest različitih šumskih vrsta u Bugarskoj; među njima, *P. spinosa* je imala najmanji sadržaj polifenola u plodovima, i najslabiju antioksidativnu efikasnost (u poređenju sa *Sambucus ebulus*, *Crataegus monogyna*, *Rosa canina*, *Berberis vulgaris* i *Vaccinium myrtillus*) (Kiselova i sar. 2005), a sličan redosled u sadržaju polifenola je utvrđen i prilikom ispitivanja sedam vrsta spontane flore u Poljskoj (Jabłońska-Ryś i sar. 2009). U drugoj studiji, utvrđen je visok ukupni sadržaj fenola u plodovima *P. spinosa* i pokazano da je pozitivno korelisan sa izraženim antioksidativnim delovanjem ekstrakata (Ruiz-Rodríguez i sar. 2014). Visok antioksidativni potencijal soka napravljenog od svežih plodova *P. spinosa* dokazan je različitim analitičkim metodama: test 5-lipoksigenaze test, DPPH antiradikalna aktivnost, ORAC kapaciteti apsorpcije kiseonikovih radikala (Fraternali i sar. 2009). Takođe je pokazano da i različiti ekstrakti plodova trnjine imaju visok antioksidativni potencijal (Paulovicsová i sar. 2009).

Identifikacija i karakterizacija fenola, u prvom redu hlorogenih kiselina, proantocijanidina i flavonoid glikozida metodom LC-MS u plodovima više varijeteta i hibrida vrsta *P. salicina* i *P. domestica*, kao i dve prirodne populacije *P. spinosa* i *P. cerasifera* (ukupno 35 uzoraka) je pokazala da plodovi *P. spinosa* sadrže hlorogenu i neohlorogenu kiselinu (i još dva derivata hlorogene), kvercetin-pentozid, -galaktozid i -rutinozid, kao i katehin i epikatehin (Jaiswal 2013). I kod divlje *P. spinosa*, i kod ostalih ispitivanih kultivara, dominantna hidroksicinamična kiselina je bila neohlorogena. Generalno visoke vrednosti hlorogenih kiselina i proantocijanidina saopštene u navedenom radu potvrđuju da vrste roda *Prunus* predstavljaju jedan od najbogatijih prirodnih izvora ovih jedinjenja.

U studiji Guimarães i sar. (2013) publikovani su rezultati kvantifikacije fenolnih jedinjenja u plodovima *P. spinosa*, 3-*O*-kafeoilhinske kiseline ($220,9 \pm 1,1 \mu\text{g/g SuT}$) i nekoliko kvercetin glikozida: kvercetin-rutinozida ($156,3 \pm 3,3 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin-pentozida ($88,4 \pm 2,6 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin-heksozil-ramnozida ($71,7 \pm 4,2 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin-pentozil-heksozida ($68,3 \pm 2,9 \mu\text{g/g SuT}$), ($228,3 \pm 2,9 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin heksozida ($47,0 \pm 5,0 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin-pentozil-heksozida ($13,6 \pm 0,4 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin-glukozida ($13,6 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$), kvercetin-pentozil-glukozida ($13,6 \pm 0,2 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin-ramnozida ($13,0 \pm 0,2 \mu\text{g/g SuT}$), kvercetin-acetil-rutinozida ($10,0 \pm 0,1 \mu\text{g/g SuT}$) kvercetin-acetil-heksozida ($19,0 \pm 0,5 \mu\text{g/g SuT}$). Prema rezultatima navedene studije, sve fenolne kiseline identifikovane u plodovima *P. spinosa* bile su iz grupe hidroksicinamičnih kiselina, a pet od njih su bile derivati hinske. U poređenju sa plodovima *R. canina*, koji su takođe analizirani u ovoj studiji, plodovi *P. spinosa* su imali značajno veće količine fenolnih kiselina i flavonoida, a dominantna jedinjenja su bila 3-*O*-kafeoil hinska i kvercetin-rutinozid.

Identifikovanjem i kvantifikovanjem pojedinih polifenola iz metanolnog ekstrakta plodova *P. spinosa* primenom HPLC/DAD i HPLC/MS detekcije, pokazalo se da su svi prisutni flavonoli derivati kvercetina ili kampferola, a od derivata kvercetina, konstatovani su kvercetin-rutinozid i kvercetin (Pinacho i sar. 2015). Određivanjem flavonoida HPLC metodom, utvrđeno je prisustvo kvercetina u ekstraktima cvetova *P. spinosa* (u rasponu od $0,33 \pm 3,6\%$ do $1,39 \pm 3,0\%$) (Oszlewska i sar. 2001), kao i kvercetin 3-*O*-*a*-*L*-arabinofuranozida (Oszlewska i Wolbis 2001). Neohlorogena kiselina, kvercetin-rutinozid, -galaktozid, -glukozid, -ksilozid, -arabinozid i -ramnozid su fenolna jedinjenja čije je prisustvo potvrđeno u plodovima *P. spinosa* iz Finske (Riihinen 2005).

U radu Mikulič-Petkovšek i saradnika (2016), analizirana su fenolna jedinjenja u plodovima četiri vrste roda *Prunus*: *P. spinosa*, *P. padus*, *P. mahaleb* i *P. avium*. Za svaku vrstu, sakupljeni su plodovi sa pet različitih lokaliteta, koji su analizirani kao zbirni uzorak. Pokazano je da su u plodovima *P. spinosa* prisutne hlorogena i neohlorogena kiselina, kao i 15 derivata kvercetina (kvercetin-triglikozid, kvercetin acetil-heksozid, kvercetin acetil-rutinozid, kvercetin heksozil-pentoizid (1, 2 i 3), kvercetin heksozil-ramnoizid, kvercetin-ksilozid, kvercetin ramnozil-heksozid, -galaktozid, -glukozid, -ramnoizid, -rutozid).

5.4.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda *Prunus*

Rod *Prunus* (Rosaceae) obuhvata oko 175 vrsta rasprostranjenih širom sveta (Rashid i sar. 2007). U Srbiji, rod *Prunus* obuhvata 15 vrsta, od kojih su 6 gajene u obliku sorti, 2 kao dekorativne, a 9 vrsta se nalaze u sponatnoj flori (*P. amygdalus*, *P. avium*, *P. cerasifera*, *P. fruticosa*, *P. laurocerasus*, *P. mahaleb*, *P. padus*, *P. spinosa*, *P. tenella*). Većina divljih vrsta se koriste u voćarskoj proizvodnji kao generativne podloge za kalemljenje, a njihovi plodovi se koriste u ishrani (Mratinić i Kojić 1998). Fitohemijskim ispitivanjima različitih vrsta ovog roda utvrđeno je da se u plodovima mogu naći visoke koncentracije različitih flavonoida. Po sadržaju flavonola, plodovi vrste *P. spinosa* su među najbogatijima u okviru ovog roda, uključujući i hibridne forme (Zdorenko 1990a,b, Zdorenko i sar. 1990). Kod vrste *P. armeniaca* je konstatovano prisustvo rutina, izokvercitrina i nikotiflorina, a rutin je prisutan u najvećim koncentracijama (Schmitzer i sar. 2011, Sanz i sar. 2010, Rashid i sar. 2007). Analiza flavonoida u plodovima *P. mume* je potvrdila prisustvo -glukozida, -galaktozida i -neohesperidozida (Nakamura i sar. 2013, Yoshikawa i sar. 2002, Jang i sar. 2016). U kori plodova *P. salicina* i *P. domestica* konstatovani su izokvercitrin, reinoutrin, kvercitrin, hiperozid, rutin, gvajaveren i izoramnetin-rutinozid (Tomas-Barberan i sar. 2001, Treutter i sar. 2012). U plodovima *P. cerasus* su identifikovani kampferol, kvercetin, kvercetin-glukozid, izoramnetin-rutinozid (Piccolella i sar. 2008), a flavonoidi derivati katehina kod *P. domestica*, *P. mume*, *P. cerasus* i *P. persica* (Tomas-Barberan i sar. 2001, Piccolella i sar. 2008, Treutter i sar. 2012). Komparativne studije različitih vrsta su potvrdile da se flavonoidi u okviru roda *Prunus* javljaju kao osnovne strukture kampferola, kvercetina i katehina, kao i da postoje mono-, di-, ili tri-glikozidna jedinjenja monoacetilovana sa sirćetnom kiselinom (Jang i sar. 2016). U plodovima *P. domestica*, od kvantifikovanih fenolnih jedinjenja, najveći sadržaj ima neohlorogena kiselina, a od flavonoida rutin (Raynal i sar. 1989, Donovan i sar. 1998), a Slimestad i sar. (2009) su konstatovali i prisustvo kvercetin-glukozida. Neohlorogena kiselina

je takođe najzastupljenija kod vrste *P. salicina* (ispitano 11 kultivara iz Južne Afrike), a detektovano je i osam kvercetin glikozida (od kojih su pomoću odgovarajućih standarda identifikovani kvercetin-rutinozid, -glukozid, -arabinozid i -ramonozid) (Venter i sar. 2013).

Kod četiri vrste roda *Prunus* koje rastu kao spontana flora u Sloveniji (*P. spinosa*, *P. padus*, *P. mahaleb* i *P. avium*) identifikovano je 87 različitih fenolnih jedinjenja u ekstraktima plodova primenom HPLC-MS metode, i utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike u količini hidroksicinamičnih kiselina i flavonola između ispitivanih vrsta (Mikulič-Petkovšek i sar. 2016).

Divlje vrste roda *Prunus* imaju veći ukupni sadržaj fenola u odnosu na druge vrste voća (Chen i sar. 2014). Takođe, postoji velika varijabilnost u sadržaju derivata cinamične kiseline i flavonol glikozida kod divljih predstavnika roda *Prunus*, zbog čega se prirodne populacije smatraju naročito značajnim za ishranu ljudi, i kao genetički resurs za ukrštanja (Ruiz-Rodríguez i sar. 2013).

5.5. Uporedna analiza sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod predstavnika familije Rosaceae

Tri vrste ispitivane u ovom radu, *R. canina*, *P. spinosa* i *C. monogyna*, pripadaju familiji Rosaceae koja obuhvata preko 100 rodova i 3000 vrsta. Mnoge od vrsta se koriste u ishrani i u druge svrhe, pa je po ekonomskoj važnosti familija Rosaceae na trećem mestu u zemljama umerenog regiona (Dirlewanger i sar. 2002). Prema tipu ploda, familija se deli na šest podfamilija; rod *Rosa* pripada podfamiliji Rosodae, rod *Prunus* podfamiliji Spiraeoideae, a rod *Crataegus* podfamiliji Pyrodae (Potter i sar. 2007). Vrste familije Rosaceae su veoma bogate specifičnim metabolitima, koji imaju veliki značaj u ljudskoj ishrani i farmakologiji. Brojna hemijska jedinjenja su izolovana iz vrsta ove familije, i njihovi biosintetski putevi su u velikoj meri rasvetljeni. U novije vreme, metabolomičke studije se usmeravaju na nove uloge genske regulacije u primarnom i sekundarnom metabolizmu i izučavaju se složeni metabolički mehanizmi koji stoje u osnovi produkcije metabolita korisnih za zdravlje ljudi (Shulaev i sar. 2008). Distanca između pet voćnih drvenastih vrsta iz familije Rosaceae u odnosu na biosintezu enzima polifenol oksidaze, koji učestvuje u metabolizmu fenola je procenjena u radu Haruta i sar. (1999). Autori su pokazali da se proteinske sekvence ovih enzima kod vrsta *Pyrus pyrofolia*, *Pyrus communis*, *Prunus persica*, *Pseudocdonia sinensis* i *Eriobotrya japonica* poklapaju u 85,3-97,5%, na osnovu čega je zaključeno da su polifenoloksidaze u familiji

Rosaceae slične u pogledu strukture i funkcionalnosti. Pojedini fenolni konstituenti u listovima vrsta porodice Rosaceae, određivani metodom papirne hromatografije, bili su različito prisutni kod drvenastih i zeljastih predstavnika porodice. Drvenasti predstavnici porodice posedovali su leuko-antocijanidine i flavonole, a trihidroksi kiseline su detektovane samo u podporodici Rosoidae. Ipak, neki drvenasti i zeljasti predstavnici su bili izuzetak u ovoj generalnoj podeli (Bate-Smith 1961). Kao hemijska jedinjenja koja mogu da budu hemotaksonomski markeri u okviru porodice Rosaceae, na uzorku od 80 biljaka (62 vrste, 15 hibrida, 1 varijetet i 2 citotipa) testirana je hlorogena kiselina (koja je bila prisutna u svim uzorcima) i hidrolizabilni tanini (monomeri su široko rasprostranjeni kod zeljastih, ali ne i kod drvenastih predstavnika) (Okuda i sar. 1992).

Histohemijska analiza 30 rodova porodice Rosaceae (koja je obuhvatila predstavnike svih podporodica), pokazala je da je prisustvo flavan-3-ola uobičajeno u korenu svih vrsta iz porodice, a primenom polukvantitativne LC-MS analize pokazano je da se distribucija flavan-3-ola odvija po različitim šemama (Hoffmann i sar. 2012). Kod vrsta iz podporodica Maloidae i Rosoidae zabeležene su velike razlike u sadržaju ulja u semenu, a taj sadržaj je bio varijabilan i u okviru rodova i kultivara iste vrste. Kvalitativni profil masnih kiselina i njihovo kvantitativno učešće su bili relativno slični kod vrsta iz obe subporodice (Fromm i sar. 2012a). Ipak, u drugom istraživanju utvrđeno je da se vrste iz ovih podporodica značajno razlikuju u kvalitativnom i kvantitativnom sastavu tokoferola i karotenoida (Fromm i sar. 2012b). Uporedne analize sadržaja ukupnih fenola i flavonoida u plodovima *R. canina* i *C. monogyna* pokazale su da etanolni ekstrakti plodova šipurka sadrže veće količine ovih bioaktivnih jedinjenja, kao i da ispoljavaju veću antioksidativnu aktivnost (DPPH i sposobnost redukcije Fe^{3+}), dok su ekstrakti belog gloga bili efikasniji u vezivanju jona Fe^{2+} (Predescu i sar. 2016).

Uporedna studija šest vrsta porodice Rosaceae u pogledu fizičko-hemijskih osobina plodova i njihove antioksidativne aktivnosti koju su uradili Egea i sar. (2010), je pokazala da se ukupni sadržaj fenola i ukupni sadržaj karotenoida značajno razlikuju kod vrsta *R. canina* (kod koje su zabeležene najveće vrednosti), *C. monogyna* (sa manjim vrednostima), i *P. spinosa* (najmanje vrednosti oba parametra). U navedenom radu testirana je i antioksidativna aktivnost ekstrakata plodova preko kapaciteta „hvatanja“ H_2O_2 , pri čemu su utvrđene visoke vrednosti koje se nisu značajno razlikovale od vrednosti zabeleženih kod *R. canina* i *C. monogyna*, dok je kod *P. spinosa* antioksidativna aktivnost bila značajno manja; primenom TEAC testa, sve vrste su pokazale različitu aktivnost: *R. canina*>*P. spinosa*>*C. monogyna*.

Rezultati dobijeni u našim istraživanjima, srednje vrednosti i standardne devijacije sadržaja šest svojstava analiziranih kod *R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa* su međusobno upoređivani primenom odgovarajućih statističkih testova (ANOVA II). Utvrđeno je da postoje statistički značajne razlike među vrstama, među populacijama i u njihovoj interakciji za sledeća svojstva: sadržaj neohlorogene kiseline, sadržaj kvercetin-glukuronida, sadržaj kvercetin-galaktozida i sadržaj kvercetin-glukozida. Za dva ispitivana svojstva: sadržaj kvercetin-rutinozida i sadržaj kvercetin-ramnozida, razlike su značajne samo između vrsta. Pojedina jedinjenja su, po visokom sadržaju, bila karakteristična za vrste: kvercetin-glukuronid i kvercetin-ramnozid su konstatovani u većoj količini u plodovima jedinki vrste *R. canina* u odnosu na ostale dve ispitivane vrste iz familije Rosaceae; plodovi jedinki vrste *C. monogyna* su bili bogatiji u sadržaju kvercetin-galaktozida i kvercetin-glukozida, a plodovi jedinki vrste *P. spinosa* bogatiji su u sadržaju neohlorogene kiseline, kvercetin-rutinozida i kvercetin-ramnozida. Samim tim, neka od navedenih jedinjenja daju najveći doprinos razdvajanju vrsta, što je potvrđeno i analizom glavnih komponenti (PCA): sadržaji kvercetin-galaktozida, kvercetin-glukozida (duž prve ose), kvercetin-glukuronida i kvercetin-rutinozida (duž druge ose). Najzad, opšta slika o razdvajanju vrsta na osnovu ispitivanih hemijskih jedinjenja se dobija tumačenjem grafika (Slika 104 i 105). Uočava se da su vrste veoma jasno razdvojene, što potvrđuje da su odabrana fenolna jedinjenja po svom sadržaju specifična za vrstu i veoma dobri hemotaksonomski pokazatelji. Pored toga, uočljivo je da je vrsta *P. spinosa* mnogo kompaktnije prikazana u odnosu na ostale dve vrste, što je posledica relativno male intra- i inter- populacione varijabilnosti kod ove vrste. Kod vrste *R. canina* 7 jedinki se izdvaja od cele grupe (vrste), a 6 od njih pripadaju populaciji sa Zlatarskog jezera. Kod vrste *C. monogyna* samo dve jedinke (iz populacije sa Avale) se razlikuju od ostalih koje su grupisane. Na osnovu grafičkog prikaza klaster analize možemo uočiti da su populacije vrste *C. monogyna* najviše međusobno slične. Umeren stepen sličnosti se može konstatovati kod populacija vrste *P. spinosa*, dok su populacije vrste *R. canina* sa različitih staništa najviše međusobno različite u pogledu sadržaja ispitivanih hemijskih jedinjenja. Takođe, prema vrednostima eukledskih udaljenosti, uočljivo je da su vrste *R. canina* i *P. spinosa* međusobno sličnije u odnosu na *C. monogyna* u pogledu sadržaja i varijabilnosti sadržaja ispitivanih hemijskih jedinjenja.

5.6. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima *C. mas*

Prema rezultatima dobijenim analizom ekstrakata plodova vrste *C. mas*, šest selektovanih fenolnih jedinjenja je bilo prisutno u sledećem redosledu: Q-3-*O*-GlcA ($81,14 \pm 94,95 \mu\text{g/g SvT}$), 5-*O*-CQ ($22,05 \pm 14,85 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Gal ($5,67 \pm 4,09 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Rut ($5,33 \pm 4,31 \mu\text{g/g SvT}$), Q-3-*O*-Glc ($4,29 \pm 3,03 \mu\text{g/g SvT}$) i Q-3-*O*-Rha ($0,05 \pm 0,11 \mu\text{g/g SvT}$). Sve detektovane forme kvercetin glikozida su i ranije identifikovane u plodovima dreva, kao i neohlorogenska kiselina. Međutim, malo je podataka dobijenih kvantitativnom analizom. Ukupan sadržaj -ramnozida, -rutinozida i kvercetina kod populacija iz Češke je visok i varira u opsegu 120 - 360 $\mu\text{g/g SvT}$ (Sochor i sar. 2014), dok je u našim populacijama sadržaj ovih derivata veoma nizak. Dominantno prisustvo kvercetin-glukuronida, kao i u našim populacijama, je utvrđeno kod populacija iz Italije (Pawlowska i sar. 2010) i Poljske (Pyrkosz-Biardzka i sar. 2014). U populacijama sa Vlasine, redosled prisutnih derivata kvercetina je bio -glikozid>-rutin>-kvercetin, a prisustvo -glukuronida nije utvrđivano (Radovanović i sar. 2013). Ni u drugoj studiji, sa populacijama iz jugoistočne Srbije, nije ispitivano prisustvo ovog derivata, dok su detektovani -glukozid, -galaktozid i -rutinozid (Milenković-Andelković i sar. 2015).

Fitohemijaska karakterizacija plodova *C. mas* se bazira na opsežnim podacima o prisustvu vitamina, polifenola, antocijanina, flavonoida, tanina, iridoida, karboksilnih kiselina (Seeram i sar. 2002, Jayaprakasam i sar. 2006, Pawlowska i sar. 2010, Rop i sar. 2010, Deng i sar. 2013, Krivoruchko i sar. 2014, Rudrapaul i sar. 2015, Szumny i sar. 2015). Od svih hemijskih konstituentata prisutnih u plodovima *C. mas*, najviše su izučavane fenolne kiseline i flavonoidi, zbog njihovog poznatog antioksidativnog potencijala. Analiza jestivih delova 42 različite vrste voća i povrća, u cilju dokazivanja ukupnog sadržaja fenola i flavonoida, pokazala je su plodovi *C. mas* među najbogatijim prirodnim izvorima ovih biološki važnih jedinjenja (Marinova i sar. 2005). Brojne *in vitro* i *in vivo* studije su dokazale da ekstrakti plodova *C. mas* ispoljavaju antimikrobno, antidijabetično, hipolipidemično, citotoksično, hepatoprotektivno, renal-protektivno, neuroprotektivno, anti-inflamatorno, antioksidativno, kardioprotektivno, anti-glaukomska, radioprotektivno delovanje (Dinda i sar. 2016).

U pogledu sastava i količine pojedinih fenolnih jedinjenja u plodovima *C. mas*, postoje različiti podaci. Pojedini autori su utvrdili prisustvo hlorogene kiseline u ekstraktima plodova (Szumny i sar. 2015), dok se u drugoj studiji navodi trostruko veća količina neohlorogene kiseline (Sochor i sar. 2014). Iako su ove kiseline izomeri, neohlorogena kiselina ima veću aktivnost

u redukciji glukoze i metabolizmu holesterola u poređenju sa hlorogenom (Forino i sar. 2015). U studiji sa populacijama sa područja Češke, najzastupljeniji flavonoidi u plodovima *C. mas* su kvercitrin, rutin i kvercetin ($120 - 360 \mu\text{g/g SvT}$) (Sochor i sar. 2014). U drugom radu, sa populacijama iz Italije, derivati kvercetina su bili uglavnom pristuni u formi -glukuronida, -ramnozida, -ksilozida i -rutinozida (Pawlowska i sar. 2010). Kvercetin-glukuronid je bio dominantna komponenta u ukupnom sadržaju flavonola (73% od prisutnih flavonola) u plodu dreva u istraživanju sprovedenom u Poljskoj (Pyrkosz-Biardzka i sar. 2014).

U uporednoj fitohemijskoj studiji listova gloga i dreva (HPLC-PDAMS/MSⁿ analiza), identifikovano je više fenolnih komponenti u ekstraktu dreva (derivati kafene kiseline, derivati kampferola i kvercetin glikozidi: kvercetin-galaktozid, 7-*O*-ramnozid, kvercetin-glukuronid), a po količinama prisutnih fenolnih jedinjenja listovi dreva su bili značajno bogatiji u odnosu na listove gloga (u ekstraktu detektovan manji broj flavonoida, uglavnom izomera viteksina) (Badalica-Petrescu i sar. 2014).

Plodovi *C. mas* iz prirodnih populacija, sa Vlasine, su analizirani u pogledu ukupnog sadržaja fenola i flavonola, a HPLC metodom je utvrđen sadržaj fenolnih i hidroksicinamičnih kiselina, kao i pojedinih flavonola (kvercetin-3-glikozid $12,02 \pm 1,36 \mu\text{g/g SvT}$; rutin $13,86 \pm 1,44 \mu\text{g/g SvT}$; kvercetin $0,65 \pm 0,29 \mu\text{g/g SvT}$) (Radovanović i sar. 2013). U drugom radu sa populacijama iz jugoistočne Srbije, plodovi dreva su uzorkovani u uzastopnim godinama i pokazalo se da je ukupni sadržaj fenola, flavonoida i hidroksicinamičnih kiselina bio stabilan. HPLC analizom je kvantifikovan sadržaj fenolnih kiselina (galne, elagične, hlorogene), flavonola (kvercetin-glukozida, -galaktozida, rutina, luteolin-glukozida, kampferol-3-glukozida), flavan-3-ola (katehin, epikatehin, procijanidina B2) i antocijana (cijanidin-3-galaktozida, pelargonidin-3-glukozida, delphinidin-3-galaktozida). Sadržaj fenolnih komponenti je određen u plodovima uzorkovanim u dve uzastopne sezone, i pokazalo se da nije bilo značajnog variranja u njihovom sadržaju (Milenković-Andelković i sar. 2015).

U studiji koju su uradili Sima i Sarbu (2016) prikazani su rezultati analize polifenola i flavonoida u ekstraktima plodova vrsta koje se više ili manje koriste kao lekovite (HPLC metodom i UV detekcijom), kao i njihova antioksidativna aktivnost (DPPH). Analiza je obuhvatila plodove šest vrsta: *Hippophae rhamnoides*, *Vaccinium myrtillus*, *Vaccinium oxycoccos*, *Rosa canina*, *Rubus fruticosus*, *Rubus idaeus*, kao i dve vrste koje se manje koriste u ishrani: *Cornus mas* i *Prunus spinosa*. Hemijske analize su kombinovane sa hemometrijskim tehnikama obrade dobijenih rezultata (multivarijantne tehnike koje obrađuju velike setove

podataka i omogućavaju interpretaciju koja isključuje međusobnu korelisanost varijabli). Hemometrijskim metodama je utvrđeno da postoje male razlike u fenolnom/flavonoidnom sastavu kod vrsta *Hippophae rhamnoides*, *Prunus spinosa*, *Rubus idaeus* i *Cornus mas*, koje su bile grupisane u malu grupu (klaster) i izdvojene od velike grupe u kojoj su se našle ostale vrste, a po antioksidativnoj aktivnosti one su slične vrstama *Rosa canina* i *Hippophae rhamnoides* (koje su imale najveće vrednosti).

5.7. Sadržaj selektovanih fenolnih jedinjenja u plodovima *C. sanguinea*

Sva ispitivana jedinjenja su detektovana u ukupnom uzorku plodova vrste *C. sanguinea*. Utvrđeno je da je količina Q-3-O-GlcA u svim uzorcima bila veoma visoka ($989,50 \pm 342,62$ $\mu\text{g/g}$ SvT), kako u poređenju sa svim jedinjenjima kvantifikovanim u ovom radu, tako i u poređenju sa literaturnim podacima za isto jedinjenje kod do sada ispitanih vrsta. Redosled konstatovanih fenolnih jedinjenja, prema njihovoj koncentraciji u ekstraktima bio je sledeći: Q-3-O-GlcA ($989,50 \pm 342,62$ $\mu\text{g/g}$ SvT), Q-3-O-Glc ($320,81 \pm 251,43$ $\mu\text{g/g}$ SvT), Q-3-O-Gal ($264,77 \pm 275,02$ $\mu\text{g/g}$ SvT), Q-3-O-Rut ($42,12 \pm 27,32$ $\mu\text{g/g}$ SvT), 5-O-CQ ($5,76 \pm 4,76$ $\mu\text{g/g}$ SvT) i Q-3-O-Rha ($0,25 \pm 0,25$ $\mu\text{g/g}$ SvT).

Vrsta *C. sanguinea* nije do sada detaljnije fitohemijski ispitivana. Poznato je da se u sočnom delu ploda nalazi visok sadržaj lipida (24,9%), relativno visok sadržaj proteina (6,4%), a procenat vlakana i ugljenih hidrata iznosi 10,3%, odnosno 53,58% (Snow i Snow 1988). Postoji nekoliko podataka o sadržaju ukupnih fenola, antocijana i tanina u listovima (Karolewski i sar. 2010, Stanković i Topuzović 2012, Yousfbeyk i sar. 2014). Različite, do sada fitohemijski ispitane, vrste roda *Cornus* su bogate brojnim sekundarnim metabolitima, a najviše pažnje je posvećeno hemijskoj karakterizaciji predstavnika koji imaju jestive plodove. Ipak, imajući u vidu da je za sve do sada ispitivane vrste sa sočnim i intenzivno obojenim plodovima potvrđeno da imaju visok sadržaj prirodnih antioksidanata, uglavnom polifenola, odnosno flavonoida (Mikulič-Petkovšek i sar. 2012), postoje jasne indikacije da bi se u različitim biljnim organima sviba, pre svega plodovima, moglo očekivati prisustvo istih ili sličnih metabolita kao i kod bliskih vrsta. Ukupni sadržaj fenola, određen spektrometrijski, u metanolnim ekstraktima plodova sviba sa našeg područja (centralna Srbija) je prema podacima Stanković i Topuzović (2012) $34,19 \pm 0,25$ μg ekvivalenata galne kiseline/g ekstrakta, dok su Yousfbeyk i sar. (2014) utvrdili da je sadržaj fenola $88,56 \pm 0,04$ μg ekvivalenata galne kiseline/g ekstrakta (populacije iz Turske). Pored toga, pojedini autori su pokazali da ekstrakti listova i plodova sviba imaju značajan antioksidativni kapacitet (Hozoori i sar. 2012, Stanković i Topuzović 2012), koji se

takođe povezuje sa visokim sadržajem fenolnih jedinjenja. Od ispitivanih metanolnih ekstrakata plodova i listova 38 vrsta u pogledu antioksidativne aktivnosti primenom različitih metoda (neutralisanje slobodnih radikala, neutralisanje H₂O₂ i vezivanje Fe²⁺ jona), metanolni ekstrakti plodova dve vrste roda *Cornus* (*C. mas* i *C. sanguinea*) su pokazali naj snažnije delovanje (Serteser i sar. 2009).

Plodovi sviba nisu otrovni, ali se zbog kiselog i oporog ukusa ne mogu koristiti u svežem stanju. Kuvanjem se ovaj ukus ublažava, pa se biljka može smatrati potencijalno jestivom, obzirom da su semena veoma bogata proteinima i uljima (Snow i Snow 1988).

Svib spada u šumske vrste koje su u veoma malom stepenu izložene herbivoriji, što se povezuje sa visokim sadržajem fenola u listovima. U studiji koja je ispitala zavisnost sadržaja fenola u listovima od uslova na staništu je pokazano da je izlaganje svetlosti uzrokovalo povećan sadržaj fenola u listovima sviba. Sadržaj fenola je gradualno opadao sa smanjivanjem dostupne svetlosti od ivičnih delova ka unutrašnjosti šume. Ovi rezultati su ukazali na dinamiku sinteze fenola u zavisnosti od svetlosti, kao i na fotosintetičku efikasnost sviba u uslovima senke i efikasnost alokacije fotosintata u uslovima ograničenih resursa na staništu (Dudt i Shure 1994).

5.7.1. Sadržaj fenolnih jedinjenja u plodovima vrsta roda *Cornus*

Rod *Cornus* sadrži oko 50 vrsta grupisanih u četiri osnovne grupe (Fan 2001), koje se razlikuju prema građi cvasti. U Srbiji se mogu naći četiri vrste iz ovog roda: *C. mas*, *C. sanguinea*, *C. australis* i *C. hungarica* (Jovanović 1973). Uporedna ispitivanja plodova različitih vrsta ovog roda su pokazala razlike u prisustvu polisaharida, antocijana i triterpenoida (Yang i sar. 1999, Seeram i sar. 2002, Vareed i sar. 2006, Lee i sar. 2009), kao i različitih klasa polifenola, flavonoida i derivata hidroksicinamičnih kiselina (Hatano i sar. 1989, Jurikova i sar. 2012, Forman 2015a, Forman 2015b). Feng i sar. (2011) su kombinujući razvojne i filogenetske karakteristike pri definisanju morfoloških evolucionih procesa vrsta roda *Cornus* napravili podelu na 4 grupe sa različitim razvojnim putevima pri formiranju cvetova na biljci, pri čemu su vrste *C. mas* i *C. sanguinea* svrstane u različite grupe. U podeli na podrodove u okviru ovog roda razmatrane su morfološke karakteristike polena, anatomije drveta i cveta, citološke karakteristike i razvoj cvasti, kao i genetički parametri (Fan i sar. 2011). Vrste *C. mas* i *C. sanguinea* pripadaju različitim podrodovima: *Cornus* (*C. mas*) i *Kraniopsis* (*C. sanguinea*), koji se između ostalih karakteristika odlikuju i specifičnim hemijskim sastavom. Hemotaksonomska ispitivanja su pokazala da se na osnovu prisustva iridioda izdvajaju dve

grupe: u prvoj su dva podroda (uključujući *Kraniopsis*), a u drugoj ostali podrodovi (uključujući i *Cornus*). Odsustvo iridoida, uz istovremeno prisutan salidorsid (i njemu bliska oksidovana forma), je hemijska karakteristika koja ukazuje na dominantno prisustvo derivata šikiminske kiseline u prvoj grupi, dok u drugoj grupi dominiraju iridoidini glikozidi (povezani sa mevalonskom kiselinom). Grupisanje podrodova na ovaj način odgovara i karakteristikama njihovih cvasti (Jensen i sar. 1975). Kod vrsta podroda *Kraniopsis* (i vrste *C. sanguinea*) nisu konstatovani iridoidi (korninlin i sekoiridoidi) dok su C₈ glikozidi bili prisutni, dok je kod vrste *C. mas* (podroda *Cornus*) utvrđeno prisustvo sekoiridoida i odsustvo C₈ glikozida (Bate-Smith i sar. 1975).

5.8. Uporedna analiza sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod predstavnika roda *Cornus*

U ekosistemima Srbije sreću se četiri vrste roda *Cornus* (familija Cornaceae, red Cornales), od kojih je jedna gajena kao dekorativna forma (*C. alba*), a ostale tri se sreću kao spontana flora: *C. austalis*, *C. mas*, *C. sanguinea*. Drvo ovih vrsta roda *Cornus* je veoma čvrsto i ima primenu u drvnoj industriji, spadaju u medonosne i meliorativne biljke, a listovi i plodovi imaju značaj u ishrani i narodnoj medicini (Mratinić i Kojić 1998). Do sada je publikovan mali broj studija koje su bile fokusirane na fitohemijsku analizu plodova ovih biljaka.

Iako su sva ispitivana fenolna jedinjenja utvrđena kod obe vrste *Cornus*, njihove količine i udeo u ukupnom sastavu ekstrakta su se značajno razlikovali. Pojava i divezitet flavonoidnih jedinjenja u plodovima vrsta iz familije Cornaceae je i ranije istraživana (Rieger i sar. 2008). Ispitivanje sastava flavonoida u plodovima *C. mas* je ukazalo na visoke koncentracije kverciturona, kvercitrina, reinutrina i rutozida (Pawlowska i sar. 2010), a i publikovani rezultati iz ove studije potvrđuju prisustvo istih jedinjenja (Bajić-Ljubičić i sar. 2018); dok su kod vrste *C. sanguinea*, u velikoj količini prisutni kvercituron, izokvercitin i kvercitrin (Popović i sar. 2017).

Sva analizirana fenolna jedinjenja doprinose diferenciranju vrsta, kao i diferenciranju populacija unutar svake vrste. Sadržaj fenolnih jedinjenja kod obe vrste nije jedini uzrok razdvajanja, već i distribucija i njihove uzajamne korelacije doprinose specifičnom profilu svake analizirane populacije. Srednje vrednosti za šest svojstava analiziranih kod *C. mas* i *C. sanguinea* su upoređivane primenom ANOVA II testa, i utvrđeno je postojanje statistički

značajnih razlika među vrstama, među lokalitetima i u njihovoj interakciji za sledeća svojstva: sadržaj neohlorogene kiseline, kvercetin-rutinozida i kvercetin-glukozida. Plodovi jedinki koje pripadaju vrsti *C. sanguinea* u odnosu na vrstu *C. mas* su bogatiji u sadržaju svih analiziranih svojstava, osim po sadržaju neohlorogene kiseline. Najveći doprinos razdvajanju vrsta potiče od razlika u sadržaju neohlorogene kiseline, kvercetin-glukozida, kvercetin-galaktozida, kvercetin-glukuronida i kvercetin-rutinozida, što ukazuje da su nabrojana jedinjenja dobri pokazatelji diferencijacije između vrsta u okviru roda *Cornus*. Ove vrednosti (sadržaji ispitivanih jedinjenja), zajedno sa njihovim međusobnim odnosima doprinose pozicioniranju individua na grafičkom prikazu, pa tako dobijamo izuzetno dobro razdvajanje vrsta u prostoru prve tri PCA ose. Opšti utisak veoma jasnog razdvajanja vrsta potvrđuje i klaster analiza, na kojoj je takođe uočljivo i to da kod obe vrste populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena imaju velike sličnosti, dok su populacije sa Avale izdvojene (Slika 112).

Dobijeni rezultati potvrđuju osetljivost odabranih fenolnih jedinjenja u diferencijaciji vrsta i njihovih populacija koje rastu na različitim staništima. Pored toga, uočljivo je da su pojedini hemijski karakteri stabilni kod jedne vrste (*C. sanguinea*), dok njihova količina u većoj meri zavisi od staništa kod druge vrste (*C. mas*). Ova razlika između vrsta ukazuje na razlike u adaptivnom odgovoru svake od njih. Različite vrste imaju različite mehanizme kojima se kontrolišu ekspresija flavonoidnih gena (Jaakola i sar. 2004), i količina sintetisanih flavonoida kod određene vrste može biti limitirana na određenom nivou, tako da dalje delovanje različitih pritisaka sredine prestaje da bude efikasno nakon određene granice. Korišćenje molekularnih markera bi moglo da da odgovor koliki je udeo genetičkih i sredinskih faktora na fitohemijske varijacije između divljih populacija kod obe ispitivane vrste (Jaakola i Hohtola 2010).

Iako možemo reći da količine (vrednosti i varijabilnost) selektovanih fenolnih jedinjenja potvrđuju jasno razdvajanje dve vrste, kod razdvajanja populacija unutar vrsta razdvajanje nije toliko jasno. Kod vrste *C. mas*, geografsko poreklo plodova je bilo značajan faktor koji je uticao na ukupan sadržaj i kvantitavni udeo analiziranih fenolnih jedinjenja. Prikazane varijacije šest ispitivanih jedinjenja mogu se delimično pripisati fenotipskoj plastičnosti populacija sa različitih staništa, kao i genetičkoj varijabilnosti u prirodnim populacijama (Nikolova i Ivancheva 2005). Kod vrste *C. sanguinea*, nisu uočene razlike ni u ukupnom sadržaju ispitivanih jedinjenja, ni u proporcionalnom učešću svake od njih u ukupnoj količini, između ispitivanih populacija (tj. srednje vrednosti količine ispitivanih fenolnih jedinjenja nisu bile statistički značajno različite, osim za jedno jedinjenje, kvercetin-rutinozid).

Iako je publikovan određen broj istraživanja koja potvrđuju postojanje razlike u sastavu i količini hemijskih konstituenata kod različitih populacija u okviru vrste (Zidorn i sar. 2005, Jaakola i sar. 2004, Prado i sar. 2012), postoje i studije koji dokazuju da uslovi rasta i fenotipska aklimatizacija kod udaljenih populacija ne izazivaju promene u genetički regulisanoj biosintezi flavonoida i u njihovoj hemijskoj ekspresiji (Nikolova i Ivancheva 2005). Mi ističemo da analiziranje samo šest jedinjenja može biti nedovoljno da bi se dobila pouzdana informacija za hemijsko profilisanje i razlikovanje između udaljenih populacija *C. sanguinea*. Ipak, imajući u vidu brojne adaptivne funkcije koje se pripisuju fenolnim jedinjenjima, pre svega flavonoida, njihova međupopulaciona i ekogeografska varijabilnost odražava ne samo aktuelne, već i prethodni uticaj faktora okruženja na staništu. Drugim rečima, različit set faktora okruženja tokom vremenskog perioda bi mogao da uzrokuje slično aktuelno stanje kao što je dokumentovano u ovim rezultatima (Popović i sar. 2018).

5.9. Korelisanost između ispitivanih svojstava kod populacija sa različitim staništa

Korelaciona analiza je rađena u cilju da se utvrdi da li su pojedina jedinjenja korelisana u pogledu sadržaja u plodovima kod ispitivanih vrsta u odnosu na stanište, kao i da li postoje razlike u stepenu korelisanosti sadržaja ispitivanih jedinjenja u odnosu na populaciju i vrstu. Postojanje ili odsustvo korelacija između istih jedinjenja može biti dobar pokazatelj očekivane količine datog jedinjenja u određenim uslovima koji dominiraju na staništu, pa tako biti od značaja za izbor populacija kada se obavljaju ciljane analize. Sa druge strane, korelisanost između različitih jedinjenja može biti indikativna za povezanost njihovih biosintetskih puteva, odnosno učešće u sličnom adaptivnom mehanizmu (Ciu i sar. 2006, Son i sar. 2016). U oba slučaja, ove značajne informacije mogu da ukažu na specifičnosti kod različitih vrsta, kao i na distribuciju pojedinih jedinjenja u različitim populacijama na određenom širem geografskom području u okviru rasprostranjenja vrste. Kod vrste *R. canina* utvrđen je veoma mali broj međusobnih korelacija između jedinjenja iz sve tri ispitivane populacije, svega dve značajne korelacije između svojstava kvercetin-rutinozida (sa Avale) i neohlorogene kiseline (sa Zlatarskog jezera i Ozrena), kao i jedna pozitivna korelisanost sadržaja istog jedinjenja sa dva različita staništa (neohlorogene kiseline sa Zlatarskog jezera i Ozrena). Kod vrste *C. monogyna*, nije bilo značajnih korelacija između sadržaja ispitivanih jedinjenja u populacijama sa Avale i Zlatarskog jezera, a u relativno malom broju značajnih korelacija (6) kod populacija sa Avale

i Ozrena, odnosno Zlatarskog jezera i Ozrena, uglavnom su bili pozitivno korelisani sadržaji kvercetin-rutinozida i kvercetin-ramnozida, kao i sadržaji neohlorogene kiseline i kvercetin-rutinozida. Takođe, utvrđeno je da u jednom slučaju postoji pozitivna korelisanost istog jedinjenja (neohlorogene kiseline) na Zlataru i Ozerenu. Kod vrste *P. spinosa*, od 5 značajnih korelacija, uočava se pozitivna korelisanost neohlorogene kiseline (A) sa kvercetingalaktozidom i kvercetin-glukozidom (O, Z); kvercetin-rutinozida (A) sa kvercetingalaktozidom (Z). I kod ove vrste, jedino jedinjenje za koje se može utvrditi korelisanost u pogledu njegovog sadržaja na različitim staništima je neohlorogena kiselina (Z i O). Najveći broj značajnih korelacija između sadržaja fenolnih jedinjenja u plodovima uzorkovanim na različitim staništima je utvrđen kod vrste *C. mas*. Iako uzorci sa Avale nisu bili značajno korelisani u pogledu sadržaja pojedinih jedinjenja sa drugim staništima, veliki broj korelacija (15) je utvrđen između uzoraka za Zlatarskog jezera i Ozrena. Sadržaj kvercetin-glukozida u uzorcima sa Zlatara bio je pozitivno korelisan sa sadržajem četiri ostala fenolna jedinjenja u uzorcima sa Ozrena, isto kao i sadržaj kvercetin-rutinozida; dok su sadržaji kvercetingalaktozida i kvercetin-glukuronida bili pozitivno korelisani sa tri ostala jedinjenja. Može se uočiti da se kod svih ispitivanih jedinjenja njihov sadržaj značajno koreliše u uzorcima sa dva različita staništa (sadržaj istog jedinjenja pozitivno korelisan). Slično su pokazali i rezultati korelacione analize kod vrste *C. sanguinea*. Uzorci sa Avale nisu korelisani sa uzorcima sa drugih staništa. U velikom broju korelacija (25) uočava se da se ista jedinjenja pozitivno koreliše u uzorcima sa Zlatarskog jezera i Ozrena, kao i da se neohlorogena kiselina i kvercetin-glukuronid u uzorcima sa jednog staništa pozitivno koreliše sa svim ostalim jedinjenjima u uzorcima sa drugog staništa. Kod svih ispitivanih vrsta, sadržaj neohlorogene kiseline u plodovima uzorkovanim sa Zlatarskog jezera je pozitivno korelisan sa sadržajem istog jedinjenja u plodovima uzorkovanim na Ozrenu. Na osnovu urađenih analiza, može se zaključiti da se kod vrsta *R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa* ne može očekivati da količina nekog od ispitivanih jedinjenja bude indikator očekivanog sadržaja tog jedinjenja na drugom (sličnom ili različitom) staništu. Sa druge strane, kod vrsta roda *Cornus*, gde je utvrđen veliki broj pozitivnih korelacija, može se sa većom sigurnošću očekivati određena količina ciljanog jedinjenja na staništu sa uslovima sličnim kao na ispitivanim staništima. Ovome u prilog govori i rezultat da je najveći broj korelacija u pogledu sadržaja pojedinih jedinjenja utvrđen između uzoraka sa Zlatarskog jezera i Ozrena, dok uzorci sa Avale najčešće nisu uopšte bili korelisani sa ostalim uzorcima. Pojedini orografski i klimatski parametri su približniji između lokaliteta Zlatarsko jezero i Ozren, dok se stanište na Avali nalazi u široj gradskoj zoni i izloženo je

izvesnom stepenu zagađenja i degradacije. Imajući u vidu ove opšte uslove, naši rezultati mogu ukazati da na delimično degradovanom staništu nije očekivano da se pojedina jedinjenja nađu u količini koja je karakteristična za populacije sa izolovanih i zaštićenih lokaliteta. Kao jedinjenje koje je kod svih vrsta imalo pozitivne korelacije u uzorcima sa različitih staništa ističe se neohlorogena kiselina, koja se u ovom smislu može smatrati najpouzdanijim parametrom. Postojanje inter-korelacija između različitih biljnih karakteristika, pre svega morfoloških i hemijskih, u plodovima vrste *Rhamnus alaternus* je ukazalo na izvesne biosintetske puteve koji uključuju različite klase organskih jedinjenja (nestrukturane ugljene hidrate, lipide i proteine) (Izhaki i sar. 2002). Mali stepen korelisanosti, koji je utvrđen između sekundarnih metabolita u ovoj studiji, je prema autorima rezultat njihovih mnogostrukih adaptivnih funkcija, zbog kojih njihov sadržaj u velikoj meri varira ne samo na nivou različitih populacija, već i u okviru jedinke, različitih biljnih organa i tkiva.

Uporedna analiza utvrđenih korelacija između vrsta koje pripadaju porodici Rosaceae pokazala je da u samo jednom slučaju postoji pozitivna korelisanost između vrsta *R. canina* i *C. monogyna* (neohlorogene kiseline i kvercetin-ramnozida), kao i između *R. canina* i *P. spinosa* (samo kvercetin-rutinozida kod obe vrste), dok između vrsta *C. monogyna* i *P. spinosa* nema značajnih korelacija u pogledu sadržaja ni jednog od ispitivanih jedinjenja. Uporedna analiza korelacija između dve vrste roda *Cornus* pokazuje da je jedina značajna korelisanost u pogledu sadržaja neohlorogene kiseline kod obe vrste. Mali broj značajnih korelacija između ispitivanih jedinjenja u okviru roda, odnosno porodice, ukazuje da korelisanost njihovog sadržaja u plodovima nema analitičkog značaja na višim taksonomskim nivoima, i da je najpouzdanija kod različitih populacija u okviru vrste.

5.10. Varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod ispitivanih vrsta

Unutarspezijska varijabilnost kod biljnih vrsta predstavlja važan činilac sa ekološkog i evolucionog aspekta, obzirom da mnoge vitalne funkcije biljke mogu značajno da variraju kod različitih fenotipova (kompetitivna sposobnost, oprašivanje, izloženost herbivorama) (Cariveau i sar. 2004). Osnovni uslov postojanja fenotipskih razlika između populacija je njihova prostorna distribucija (Baraza i sar. 2006). Unutar populacija, prostorna distribucija takođe može imati uticaja na postojanje razlika (Klinkhamer i sar. 2001), uz ograničeni protok gena koji omogućava da se ispolje različiti odgovori na prisutne selekzione pristiske (Andrew i sar. 2007).

Razlike između različitih fenotipova koje se ispoljavaju na hemijskom nivou, kao razlike u koncentraciji i/ili sastavu pojedinih sekundarnih metabolita definišu različite hemotipove u okviru biljne vrste. Ove razlike u sekundarnom metabolizmu često imaju izrazitu ekološku ulogu, u odbrani ili zaštiti od nepovoljnih uticaja abiotičkih činilaca, i uglavnom su nasledne (Carroll i sar. 2000, Orians i sar. 2003). Intraspecijska varijabilnost na hemijskom nivou je najčešće deo kompleksnog funkcionalnog odgovora biljke na delovanje sredinskih faktora, koji se istovremeno ispoljava na više različitih nivoa (oblik i građa lista, dodatne morfološke strukture, prilagođenost fotosintetičkog aparata prekomernoj ili nedovoljnoj svetlosti, vodni režim biljke, i sl.). Varijabilnost određene biljne osobine može se ispoljiti na više nivoa (1) na populacionom nivou, kao posledica genetičke strukture populacija ili plastičnog odgovora na faktore okruženja (Sandquist i Ehleringer, 1997), ili kao varijabilnost unutar populacije koja se ispoljava tokom određenog vremenskog perioda kao posledica promena u okruženju, odnosno sezonska ili višegodišnja varijabilnost (na pr. količina padavina) (Turner i sar. 2008), (2) kao varijabilnost unutar populacije (između individua) koja je posledica koegzistencije različitih genotipova i različite plastičnosti postojećih genotipova u odnosu na faktore okruženja, stres, dostupnost resursa, poremećaje i/ili biotičke interakcije (Bolnick i sar. 2003), (3) kao individualna varijabilnost (unutar-individualna), koja je uzrokovana prostornom heterogenošću (listovi sunce/senka, Richardson i sar. 2001), vremenska varijabilnost fenoloških ili ontogenetskih faza, specifični odgovor na spoljašnje sezonske promene (Coleman i sar. 1994), ili odgovor pojedinih tkiva/organa na prethodno pretrpljen stres (bolest, povredu). Osobine biljaka pokazuju veoma različit stepen intraspecijske varijabilnosti, i u ekologiji se često postavlja pitanje relevantnosti pojedinih karaktera kao pokazatelja varijabilnosti na različitim organizacionim nivoima (međupopulaciona varijabilnost je više izražena kada je geografska udaljenost uzoraka veća, jer je povećana i genetička i ekološka udaljenost između populacija, dok je unutarpopulaciona varijabilnost više izražena na nivou biljne zajednice) (Albert i sar. 2011). Kada se ispituje intraspecijska (morfološka, ekofiziološka i hemijska) varijabilnost podrazumeva se poštovanje određenih standardizovanih protokola prilikom izbora populacija (populacije koje rastu na sličnim staništima, u odgovarajućim biljnim zajednicama), individua (zrele individue, zdrave, u istoj fenološkoj fazi i bez oštećenih delova), i samih listova/plodova (ista razvojna faza listova/plodova, iste orijentacije u odnosu na svetlost, slične pozicije u okviru krune i bez oštećenja) (Cornelissen i sar. 2003), što je naročito značajno kod drveća gde je unutar-individualna varijabilnost velika (Messier i sar. 2010).

Hemijska varijabilnost geografski udaljenih populacija vrste *Pinus halepensis* je izučavana preko polifenolnih markera, i utvrđene razlike su potvrdile da su količine proantocijanidina i flavonola u listovima ove vrste dobri hemotaksonomski markeri na osnovu kojih se izdvaja nekoliko sličnih grupa u okviru šireg geografskog područja rasprostranjenja *P. halepensis* (Kaundun i sar. 1998), kao i da mogu dati informacije značajne za određivanje sistematskih kategorija u okviru roda *Pinus* (Kaundun i Lebreton 2010). Razlike u količini fenolnih jedinjenja kod populacija *P. nigra* istog porekla na različitim staništima autori su tumačili kao posledicu uticaja okruženja (Kaundun i sar. 1998). Nasuprot tome, Oleszek i sar. (2002) su analizirali populacije *P. sylvestris* koje su različitog porekla, ali rastu na istom staništu. Oni su utvrdili da je količina flavonoid glukozida u semenima zavisila od porekla semena, pa su shodno tome zaključili da dugotrajno delovanje sličnih faktora okruženja na staništu nije uticalo na promenu genetičke regulacije biosinteze flavonoida.

Intraspecijska varijabilnost u prirodnim populacijama *Tilia cordata* u Poljskoj, ispitivana na osnovu sastava i količine fenolnih jedinjenja (fenolnih kiselina i flavonoida) i sastava etarskog ulja cvetova, je bila relativno visoka u pogledu količine detektovanih jedinjenja, dok se sastav ekstrakata, odnosno etarskih ulja iz različitih populacija nije značajno razlikovao (Kosakowska i sar. 2015).

Međupopulaciona varijabilnost fitohemijskih karaktera u okviru vrste najčešće se povezuje sa geografskom udaljenošću populacija, iako nije redak slučaj da se nakon multivarijantnih analiza utvrdi postojanje individua koje po svom fitohemijskom profilu više nalikuju individua iz udaljenih populacija. Postojanje ovih „outliner“-a u okviru pojedinih populacija se, pored mogućeg postojanja različite genetičke osnove i adaptivne sposobnosti, objašnjava i suptilnim razlikama u zrelosti ploda koje zavise od fiziološkog stanja individue (Mudge i sar. 2016).

5.10.1. Intra- i inter-populaciona varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste *R. canina*

Varijabilnost sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja u različitim populacijama vrste *R. canina* je analizirana na osnovu pokazatelja deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartalne razlike, minimalne i maksimalne vrednosti) i uz primenu parametarskih i neparametarskih testova (ANOVA i Kruskal-Wallis). Navedeni statistički pokazatelji su ukazali da postoje statistički značajne razlike između populacija u pogledu sadržaja kvercetin-glukuronida i kvercetin-galaktozida u analiziranim uzorcima

plodova, kao i između medijana u pogledu sadržaja kvercetin-glukozida. Najveće vrednosti navedenih jedinjenja su zabeležene među individua koje pripadaju populaciji sa Zlatarskog jezera, a najmanje u populaciji na Ozrenu. Prilikom analize varijabilnosti pojedinih svojstava, važno je utvrditi i njihovu međusobnu povezanost (način grupisanja), kao i način grupisanja pojedinih individua, da bi se procenio doprinos pojedinih svojstava na ukupnu varijabilnost u ispitivanom uzorku. Analiza osnovnih komponenti (PCA) je pokazala da najvažniju ulogu u ukupnoj varijabilnosti uzorka imaju sadržaji kvercetin-galaktozida, kvercetin-glukozida i kvercetin-glukuronida u plodovima *R. canina*. Intrapopulaciona (individualna) varijabilnost u ispitivanom uzorku plodova šipurka se može proceniti na osnovu grafičkog prikaza (Slika 79) na kome se vidi grupisanje individua (21 individua, uokvireno elipsom), uz pojavu manjeg broja individua izvan obeleženog polja (9 individua). Interpopulaciona (međupopulaciona) varijabilnost koja je analizirana pomoću hijerarhijske klaster analize je ukazala na veće sličnosti između populacija sa Avale i Ozrena u pogledu količine ispitivanih jedinjenja, dok je populacija sa Zlatarskog jezera jasno izdvojena.

Dostupni literaturni podaci u pogledu varijabilnosti sadržaja određenih hemijskih jedinjenja se odnose na razlike između populacija, i uglavnom se povezuju (korelišu) sa razlikama u genotipu i pojedinim sredinskim faktorima. U pogledu individualne (intrapopulacione) varijabilnosti, za sada nema relevantnih podataka. Postojanje značajne intrapopulacione varijabilnosti koje je pokazano u ovom radu može ukazati na složenu genetičku strukturu unutar populacija i/ili na individualni adaptivni odgovor u zavisnosti od sredinskih pritisaka kojima su pojedine individue bile izložene.

Varijabilnost hemijskih i biometričkih parametara u zavisnosti od genotipa i nadmorske visine populacija (400-1600 m nv.) je ispitivana kod 11 vrsta roda *Rosa* u severoistočnom regionu Rumunije (Rosu i sar. 2011). Rezultati su pokazali da je sadržaj askorbinske kiseline u okviru svake vrste varirao u odnosu na genotip, ali ne i u odnosu na nadmorsku visinu. Sadržaj karotena (koji čine čak 48% od ukupne količine karotenoida u crvenim plodovima vrsta roda *Rosa*) je bio značajno veći kod populacija koje su rasle na visinama od preko 700 m. Ukupni sadržaj šećera se razlikovao od vrste do vrste, i nije pokazao variranje u odnosu na genotip ili nadmorsku visinu, kao i sadržaj proteina koji je generalno bio veoma nizak. Autori su takođe zaključili da su dužina i širina plodova imali veće vrednosti unutar populacija kada su vrste uzorkovane iz centralnog dela u odnosu na one sa ivičnih delova populacije.

Roman i sar. (2013) su analizirali sadržaj biološki aktivnih supstanci u plodovima različitih „biotipova“ vrste *R. canina* (8 varijeteta uzorkovanih sa staništa koja su se razlikovala po nadmorskoj visini 275-1250 m, srednjoj godišnjoj temperaturi 8,7°C - 10,8°C i po tipu vegetacije). Rezultati su pokazali da postoji velika varijabilnost u sadržaju biološki aktivnih jedinjenja kod različitih biotipova. Sadržaj vitamina C je varirao u odnosu na nadmorsku visinu, pri čemu su najveće vrednosti zabeležene kod plodova jedinki koje su rasle na većim visinama. Varijabilnost sadržaja je bila ispoljena i na individualnom nivou (intrapopulaciona), i u odnosu na različite lokalitete (interpopulaciona). Razlike u ukupnom sadržaju fenola kod biotipova *R. canina* su takođe bile izražene u zavisnosti od staništa populacije. Od sadržaja vitamina C i ukupnih fenola zavisio je i kvalitet samih plodova, odnosno njihova biološka vrednost i antioksidativna aktivnost, pa autori ukazuju na važnost geografskog porekla plodova u određivanju njihove primene. Slične rezultate su dobili Soare i sar. (2015), koji su analizirajući plodove *R. canina* iz 24 populacije sponatane flore (u manjem rasponu nadmorske visine 148-191 m n.v.) utvrdili visoku interpopulacionu varijabilnost sadržaja vitamina C i kiselosti plodova. Oprica i sar. (2015) su utvrdili da je količina vitamina C u plodovima jedinki *R. canina* koje su rasle na većoj nadmorskoj visini (razlika 200 m) bila dvostruko veća; međutim, u analiziranim plodovima jedinki iz različitih populacija nije utvrđena značajna razlika u sadržaju ukupnih fenola i flavonoida. Postojanje povezanosti između sadržaja biološki aktivnih jedinjenja (vitamin C, ukupni sadržaj fenola, antocijana, kao i antioksidativna aktivnost) u plodovima četiri vrste roda *Rosa* (najveće vrednosti su utvrđene kod *R. canina*) i nadmorske visine je pokazana analizom uzoraka sa dva lokaliteta u Turskoj (1950 i 2010 m n.v.) (Sevindik 2016).

5.10.2. Intra- i inter-populaciona varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste *C. monogyna*

Na osnovu srednjih vrednosti, standardnih devijacija, medijana, interkvartalnih razlika, minimalnih i maksimalnih vrednosti sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *C. monogyna* urađeno je poređenje populacija primenom parametarskih i neparametarskih testova. Dobijeni rezultati su ukazali da postoje statistički značajne razlike među populacijama u pogledu sadržaja kvercetin-3-*O*-galaktozida, kvercetin-rutinozida, kvercetin-glukozida i kvercetin-ramnozida. Za sva četiri navedena fenolna

jedinjenja najveće vrednosti zabeležene su u plodovima jedinki koji pripadaju populaciji sa Avale.

Jedinjenje koje je najviše doprinelo ukupnoj varijabilnosti sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja u plodovima jedinki iz tri istraživane populacije belog gloga (analiza glavnih komponenti, PCA) je kvercetin-glukozid. Takođe, dobijeni rezultati su pokazali da ukupnoj varijabilnosti doprinose i sadržaji kvercetin-galaktozida, kvercetin-glukuronida (koje je konstatovan samo u populaciji sa Ozrena) i kvercetin-ramnozida. U pogledu intrapopulacione (individualne) varijabilnosti, uočljivo je grupisanje velikog broja jedinki (relativno mala varijabilnost), dok je svega 7 jedinki izvan grafički definisane grupe. Hijerarhijska klaster analiza je pokazala da su populacije međusobno slične, sa tendencijom izdvajanja populacije sa Ozrena.

Populaciona varijabilnost vrste *C. monogyna* je, na osnovu raspoloživih literaturnih podataka, ispitivana pomoću genetičkih markera koji su ukazali na to da je individualna varijabilnost veća nego međupopulaciona. Populaciona varijabilnost vrsta *C. monogyna* (21 populacija) i *C. laevigata* (9 populacija) je ispitivana na osnovu hloroplastne *DNK* primenom PCR-RFLP metode i mikrosatelita (Fineschi i sar. 2005). Populaciono genetička analiza *P. spinosa*, urađena takođe primenom PCR-RFLP metode, je pokazala da je najveći deo ukupnog *cpDNK* diverziteta bio lociran unutar populacije, dok je diferencijacija između populacija bila niska u poređenju sa drugim šumskim vrstama (Mohanty i sar. 2002). Nizak stepen diferencijacije je očekivan u prirodnim populacijama onih vrsta koje se oprašuju i rasejavaju posredstvom insekata i životinja, kao što je slučaj kod vrsta iz familije Rosaceae. Ferrazzini i sar. (2008) su pokazali da je unutarpopulaciona varijabilnost izraženija nego međupopulaciona i kod vrste *C. monogyna*.

Podataka o hemijskoj varijabilnosti (intra- i inter- populacionoj) vrste *C. monogyna* za sada još uvek nema. Varijabilnost sadržaja fenolnih jedinjenja kod vrste *C. pinnatifida* Bge. var. *major* N.E.Br. je analizirana kvantifikacijom odabranih jedinjenja kod 37 kultivara ove vrste LC-MS metodom i uporednom analizom rezultata (Ciu i sar. 2006). Utvrđeno je da 9 fenolnih komponenti ispoljava veliki stepen divergencije (31-54%). Autori su ispitivali da li postoje korelacije između sadržaja ovih jedinjenja, i utvrdili da su količine hemijskih komponenti iz iste klase fenolnih jedinjenja značajno korelisane ($p < 0,01$); izrazito visok stepen korelacije je utvrđen između četiri procijanidina ($p < 0,001$), kao i između dve triterpenske kiseline ($p < 0,001$). Korelacije između drugih klasa jedinjenja su bile manje izražene, kao u slučaju

procijanidina i flavonoida, ili između procijanidina i hlorogene kiseline, što ukazuje na to da je sinteza flavonoida i hlorogene kiseline nezavisna od sintetičkog puta procijanidina i triterpenskih kiselina kod ove vrste. Međutim, korelacija između količine hlorogene kiseline i flavonoida je značajna ($p < 0,001$), što može ukazati da je sinteza ovih komponenti povezana kod *C. pinnatifida*.

5.10.3. Intra- i inter-populaciona varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste *P. spinosa*

Osnovni pokazatelji deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartalne razlike, minimalne i maksimalne vrednosti) u pogledu sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja u analiziranim plodovima jedinki iz tri populacije *P. spinosa* ukazuju na relativno visoku homogenost podataka (svega 3,9% autlajera). Kada su analizane razlike između populacija (ANOVA i Kruskal-Wallis testovi), pokazalo se da statistički značajne razlike postoje samo u pogledu sadržaja neohlorogene kiseline u plodovima trnjine; najveći sadržaj ovog jedinjenja je utvrđen u jedinkama iz populacije sa Zlatarskog jezera, manji kod jedinki sa Ozrena, i najmanji kod jedinki sa Avale. PCA analiza dopirnosna pojedinih komponenti je potvrdila da su za ukupnu varijabilnost analiziranog uzorka najznačajnija svojstva bili sadržaji kvercetin-glukozida, kvercetin-galaktozida, kvercetin-ramnozida i neohlorogene kiseline. Individualna (intrapopulaciona varijabilnost) ukazuje na grupisanje individua unutar dve osnovne grupe (po 9 individua), dok je veći broj individua negrupisan, već rasut oko ove dve grupe (12 individua). Male razlike (statistički nisu značajne, osim za sadržaj neohlorogene kiseline) između analiziranih hemijskih komponenti unutar populacija i među populacijama doprinose ovakvom grupisanju u prostoru prve tri PC ose. Slične vrednosti (pre nego razlike) sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja, kao i njihove varijabilnosti, ukazuju na relativnu (fitohemijsku) bliskost ispitivanih populacija, sa tendencijom izdvajanja populacije sa Avale, što je i potvrđeno klaster analizom.

U radovima drugih autora ispitivana je varijabilnost pojedinih fenolnih komponenti u plodovima vrsta roda *Prunus*, primenom istih statističkih metoda koje su korišćene i u ovom radu. Treutter i sar. (2012) su analizirali varijabilnost fenolnih komponenti u plodovima *P. domestica* (27 kultivara i klonova, uključujući i hibrid *P. cerasifera* i *P. spinosa*) primenom HPLC metode za identifikaciju komponenti. Dominantni antocijanini su bili cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-rutinozid, peonidin-3-glukozid i peonidin-3-rutinozid, dominantni flavonoid je bio rutin, a od hidroksicinamičnih kiselina najzasupljenije su bile neohlorogena i

hlorogena. Za ispitivanje varijabilnosti između uzoraka, primenjena je složena hemometrijska analiza, PCA, koja je od ukupnog broja fenolnih komponenti (50) diskriminirala četiri osnovne koje doprinose razdvajanju grupa (cijanidin-glukozid, cijanidin-rutinozid, peonidin-glukozid i peonidin-rutinozid). Pored ovih jedinjenja, značajan doprinos razdvajanju grupa je bila količina neohlorogene kiseline. Autori su pokušali da identifikuju varijabilnost manje prisutnih fenolnih jedinjenja, pa su primenili PCA analizu u kojoj je bilo isključeno 5 dominantnih fenola; rezultat je pokazao da od manje zastupljenih fenolnih jedinjenja, diskriminaciji grupa unutar uzorka najviše doprinose rutin, kvercetin i n-hlorogena kiselina. Zaključeno je da se kvantitativni fenolni profil plodova može koristiti za diferencijaciju varijeteta i utvrđivanje geografskog porekla, ali da on ne daje dovoljno informacija za razdvajanje hibrida. Ustvari, hemometrijska analiza je potvrdila intraspecijsku heterogenost *P. domestica*, koja potiče od *P. cerasifera* i *P. spinosa*, i najverovatnije *P. salicina*.

Genetički diverzitet između prirodnih populacija *P. spinosa* sa više staništa evropskih listopadnih šuma (ocenjen na osnovu diverziteta hloroplastne *DNK*) smatra se niskim u poređenju sa drugim šumskim vrstama i ukazuje na lokalizaciju ove vrste u oblasti južne Evrope u periodu glacijacije (Mohanty i sar. 2002). Visok genetički interpopulacioni diverzitet *P. spinosa* je utvrđen primenom RAPD tehnike, kod prirodnih populacija u Turskoj (Erturk i sar. 2009). Imajući u vidu da se vrsta oprašuje i rasejava posredstvom ptica i životinja, njen genetički materijal je u velikoj meri heterozigotan. Takođe, u prirodnim uslovima i bez pritiska veštačke selekcije, varijabilnost nuklearne *DNK* se održava na relativno visokom nivou.

5.10.4. Intra- i inter-populaciona varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste *C. mas*

Deskriptivno-statistički parametri (srednje vrednosti, standardne devijacije, medijane, interkvartalne razlike, minimalne i maksimalne vrednosti) sadržaja šest odabranih fenolnih jedinjenja (označenih kao svojstvo) u analiziranim plodovima kod jedinki iz tri populacije *C. mas* pokazuju da su podaci relativno homogeni (odnosno izdvojili relativno mali broj autlereja, 3,9%). Analize dobijenih rezultata (parametarski i neparametarski testovi) pokazale su da postoje statistički značajne razlike među populacijama u pogledu sadržaja neohlorogene kiseline, kvercetin-glukuronida, kvercetin-galaktozida, kvercetin-rutinozida i kvercetin-glukozida. Najveći sadržaj svih navedenih jedinjenja je konstatovan kod jedinki iz populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena (među njima nema statistički značajnih razlika), a najmanje

vrednosti kod jedinki iz populacije sa Avale. Na osnovu analize glavnih komponenti (doprinos pojedinih jedinjenja ukupnoj varijabilnosti uzorka), uočeno je da su za ukupnu varijabilnost uzorka najvažniji sadržaji jedinjenja kvercetin-glukuronida i kvercetin-glukozida. Na osnovu sadržaja svih ispitivanih jedinjenja, kao i na osnovu varijabilnosti njihovog sadržaja, moguće je izvršiti pozicioniranje svih jedinki duž tri ose i grafički odrediti grupisanje individua. Tako je dobijen okvir (elipsa) u kome je grupisan veći broj individua, dok je je 11 jedinki ostalo rasuto izvan obeležene površine (7 od njih pripada populaciji sa Avale). Klaster analiza je pokazala da su populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena međusobno slične, kao i da se jasno izdvaja populacija sa Avale.

Varijabilnost u okviru prirodnih populacija vrste *C. mas* u Srbiji je, na osnovu dosadašnjih studija, procenjena kao visoka i ukazano je na njenu važnost kao genetičkog potencijala u ukupnom biodiverzitetu, kao i za buduće programe ukrštanja. U studiji koju su uradili Bijelić i sar. (2011), analizirane su morfometrijske i hemijske karakteristike plodova 18 genotipova drena sa područja Vojvodine, a primenom multivarijantne analize prikazano je grupisanje uzoraka prema sličnostima u hemijskom sastavu. Razlike u pogledu hemijskog sastava (ukupne količine fenola i antocijana, kao i antioksidativne aktivnosti etanolnih ekstrakata plodova) između 10 populacija *C. mas* sa područja Vojvodine ukazale su na visok sadržaj biološki aktivnih jedinjenja, kao i na korelisanost sa antioksidativnom aktivnošću i omogućila grupisanje ispitivanih populacija u dve grupe prema njihovom hemijskom profilu (Popović i sar. 2012). U Crnoj gori, na lokalitetu Gornje Polimlje, ispitivano je više populacija *C. mas* (31 populacija) koje rastu na različitim nadmorskim visinama (540-1125 m n.v.), i utvrđena je velika varijabilnost u pogledu vremena sazrevanja i morfoloških osobina plodova (Jaćimović i Božović 2014). Slično poređenje prirodnih populacija *C. mas* u Bosni i Hercegovini su uradili Islamović i sar. (2014), uzorkujući plodove drena sa različitih nadmorskih visina (875 i 1200 m n.v.). Plodovi su se značajno razlikovali u pogledu biometrijskih parametara, ali ne i u pogledu hemijskih (kiselost, sadržaj redukujućih šećera, ukupni sadržaj fenola i antocijana). U radu sa drugom vrstom roda *Cornus* (*C. stolonifera*) pokazano je da se količina pojedinih kvercetin glikozida menja u toku sazrevanja ploda, pa tako sadržaj rutina u plodu varira od 7460 (jul) do 1877 µg/g SuT ploda (oktobar) (Isaak i sar. 2013).

5.10.5. Intra- i inter-populaciona varijabilnost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod vrste *C. sanguinea*

Varijabilnost između populacija vrste *C. sanguinea* je ispitivana na osnovu pokazatelja deskriptivne statistike (srednje vrednosti, standardne devijacije i medijane), a međusobno poređenje populacija je rađeno poređenjem srednjih vrednosti sadržaja hemijskih jedinjenja (ANOVA) ili medijana (Kruskal-Wallis test). Statistički značajne razlike između ispitivanih populacija u pogledu sadržaja fenolnih jedinjenja su utvrđene samo za jedno jedinjenje, kvercetin-3-*O*-rutinozid, koje je bilo najviše zastupljeno u plodovima jedinki iz populacija sa Ozrena i Zlatarskog jezera (među njima nema statistički značajne razlike), a najmanji u populaciji sa Avale. Analiza doprinosa pojedinih jedinjenja (odnosno njihovog sadržaja) ukupnoj varijabilnosti ispitivanog uzorka (PCA) pokazuje da su na razdvajanje jedinki najviše dopirneli sadržaji kvercetin-galaktozida (duž prve ose) kao i kvercetin-rutinozida i neohlorogene kiseline (duž druge ose). Na osnovu svih raspoloživih podataka (sadržaja i varijabilnosti ispitivanih parametara) bilo je moguće izvršiti prostorno pozicioniranje (grupisanje) svih individua, što je pokazalo da se veliki broj jedinki grupiše u relativno homogenu površinu (elipse), dok svega 5 jedinki ostaje izvan ovog grafičkog prikaza. Ovakav raspored individua duž tri ose može ukazati na relativno malu individualnu varijabilnost u ukupnom uzorku, a na osnovu odabranih hemijskih parametara. Klaster analiza je pokazala da su populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena međusobno slične, kao i da se izdvaja populacija sa Avale.

Na osnovu pregleda dostupne literature može se zaključiti da vrsta *C. sanguinea* nije detaljno ispitivana sa fitohemijskog stanovišta, pa tako nemamo podatke o sadržaju pojedinih fenolnih jedinjenja u plodovima, kao ni o intra- i inter- populacionoj varijabilnosti kod ove vrste. Ovde prikazani rezultati statističkih analiza ukazuju da je hemijska varijabilnost između individua sviba u pogledu sadržaja šest ispitivanih jedinjenja relativno mala. Istovremeno, međupopulaciona varijabilnost, iako veća, ukazuje na veliku sličnost između populacija sa Zlatarskog jezera i Ozrena, dok je populacija sa Avale relativno udaljena po sadržaju ispitivanih hemijskih parametara.

5.11. Diskriminacija ispitivanih vrsta i populacija na osnovu sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja

Od početka 20 veka, primenom različitih fizičko-hemijskih metoda izvršena je karakterizacija velikog broja fenolnih jedinjenja, dok sve izraženiji napredak kako u tehnikama hromatografije, tako i u alatima za identifikaciju, posebno usavršavanje različitih oblika masene spektrometrije, omogućavaju identifikaciju i karakterizaciju i jedinjenja izrazito složene strukture koja se odlikuju niskom stabilnošću, a koja se sintetišu u biljkama u veoma malim količinama (Whiting 2001).

Iako je u ovom radu određivan kvantitativni sadržaj samo šest odabranih fenolnih jedinjenja, na osnovu njihove ukupne količine u analiziranim uzorcima moguće je utvrditi kakve su relativne razlike između ispitivanih vrsta. Rezultati pokazuju da su uzorci plodova *C. sanguinea* najbogatiji u pogledu sadržaja ispitivanih jedinjenja, za njima slede plodovi *C. monogyna*, *R. canina*, *P. spinosa* i *C. mas*.

I pored toga što je utvrđeno da je u plodovima sviba jedno od jedinjenja, kvercetin-ramnozid, prisutno u veoma malim količinama, oni sadrže najveću ukupnu količinu analiziranih jedinjenja. U uzorcima ove vrste sa Zlatarskog jezera konstatovana je najveća količina ovih jedinjenja, za njima slede uzorci sa Ozrena (7,8% manja količina) i uzorci sa Avale (33,7% manja količina). Ukupna količina analiziranih jedinjenja je 2,8 puta manja kod analiziranih plodova *C. monogyna*. U uzorcima belog gloga nije prisutan kvercetin-glukuronid, dok je kvercetin-ramnozid prisutan u veoma malim količinama. Uzorci sa Avale sadrže najveći ukupni sadržaj analiziranih jedinjenja, za njima slede uzorci sa Zlatarskog jezera (34,2% manja količina) i uzorci sa Ozrena (64,7% manja količina). U odnosu na *C. monogyna* ukupna količina analiziranih jedinjenja je 10,2 puta manja kod analiziranih plodova *R. canina*, iako su kod ove vrste sva analizirana jedinjenja bila prisutna u količinama koje je bilo moguće kvantifikovati. Uzorci plodova šipurka sa Zlatarskog jezera su najbogatiji, za njima slede uzorci sa Ozrena (7,8% manja količina) i uzorci sa Avale (33,7% manja količina). Takođe u odnosu na svib, ukupna količina analiziranih jedinjenja je 12,3 puta manja kod analiziranih plodova *P. spinosa* (nije prisutan kvercetin-glukuronid). U uzorcima trnjine sa Zlatarskog jezera konstatovana je najveća količina ovih jedinjenja, za njima slede uzorci sa Ozrena (25% manja količina) i uzorci sa Avale (36,2% manja količina). Najmanja ukupna količina analiziranih jedinjenja (kvercetin-ramnozid je prisutan u veoma malim količinama) konstatovana je u uzorcima plodova *C. mas* (13,6 puta manja u odnosu na *C. monogyna*).

Uzorci plodova dreva sa Zlatarskog jezera su najbogatiji, za njima slede uzorci sa Ozrena (6,3% manja količina) i uzorci sa Avale (87,7% manja količina).

Poređenje srednjih vrednosti svih šest svojstava analiziranih u plodovima vrsta *R. canina*, *C. monogyna*, *P. spinosa*, *C. mas* i *C. sanguinea* pomoću ANOVA II testa je pokazalo da postoje statistički značajne razlike među vrstama za svako analizirano svojstvo. Razlike i između vrsta i između lokaliteta su utvrđene za tri od šest analiziranih jedinjenja: sadržaj neohlorogene kiseline, kvercetin-rutinozida i kvercetin-glukozida; uočljivo je da se po visokom sadržaju ovih jedinjenja izdvajaju populacije sa Zlatarskog jezera. Pojedina jedinjenja su, prema svom sadržaju i varijabilnosti sadržaja, u velikoj meri doprinela ukupnoj varijabilnosti unutar ukupnog uzorka (plodovi svih analiziranih vrsta). Prema rezultatima PCA analize, to su kvercetin-glukozid i kvercetin-galaktozid, a nešto manji doprinos ukupnoj varijabilnosti dao je sadržaj kvercetin-ramnozida. Specifičan grafički raspored svojstava u prostoru prve tri PC ose i njihov doprinos ukupnoj varijabilnosti ukazuju na pouzdanost pojedinih jedinjenja kao hemotaksonomskih parametara u razdvajanju analiziranih vrsta, pri čemu se kao najpouzdanija označavaju ona koja daju najveći doprinos ukupnoj varijabilnosti.

Kada se analizira pozicioniranje svih ispitivanih individua u prostoru prve dve PC ose, kao i u prostoru sve tri PC ose, uočava se veoma jasno razdvajanje vrsta. Najkompaktniji grafički prikaz ima vrsta *P. spinosa* (najmanja varijabilnost), a najrazuđeniji *C. monogyna* (najveća varijabilnost). Vrsta *C. mas* je najviše distancirana u odnosu na sve ostale vrste. Rezultati klaster analize koji potvrđuju da populacije u okviru svake vrste pokazuju različit stepen sličnosti, odnosno različitosti u pogledu sadržaja i varijabilnosti ispitivanih hemijskih jedinjenja. Najveću sličnost pokazuju populacije *P. spinosa*, a najveće razlike su zabeležene među populacijama *C. mas*. Vrste *R. canina*, *C. monogyna* i *C. sanguinea* imaju umeren stepen sličnosti. Kod vrste *R. canina* populacije sa Avale i Ozrena su sličnije, a odstupa populacija sa Zlatarskog jezera. Kod vrsta *C. monogyna* i *C. sanguinea* sličnije su populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena, a populacija sa Avale je različita u odnosu na prve dve. Generalno, ovi rezultati ukazuju da se ne može utvrditi zajednički model kojim bi se objasnio sadržaj pojedinih hemijskih jedinjenja na različitim staništima, odnosno da je kod svake vrste prisutan specifičan adaptivni mehanizam hemijskog prilagođavanja kompleksnim stanišnim uslovima u okviru njenog genetičkog potencijala. Najzad, dendrogram sa slike 120, ilustruje sličnosti između ispitivanih vrsta prema sadržaju i varijabilnosti sadržaja šest fenolnih jedinjenja. Uočava se da su vrste *C. monogyna* i *C. sanguinea* najviše međusobno slične (iako taksonomski

udaljene), kao i vrste *R. canina* i *P. spinosa* (pripadnici iste familije), dok se vrsta *C. mas* nalazi izolovano i nema velikih sličnosti sa taksonomski srodnom vrstom *C. sanguinea*. Utvrđivanje sličnosti između sadržaja određenih jedinjenja u plodovima vrsta iz različitih familija, iako se njihov ukupni hromatografski profil razlikuje, ima velikog značaja za determinaciju biljnog materijala iz prirodnih populacija, kao i procenu plodova kao prirodnog izvora fenolnih jedinjenja (Määttä-Riihinen i sar. 2004, Son i sar. 2016).

5.12. Korelisanost sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja kod ispitivanih vrsta sa faktorima okruženja

Sastav i količina pojedinih fenolnih jedinjenja u plodovima biljnih vrsta mogu varirati u širokom opsegu, zavisno od fiziološkog statusa biljke i delovanja različitih spoljašnjih faktora: abiotičkih (geografska pozicija, klima, zemljište, dostupnost vode i svetlosti) i biotičkih (delovanje herbivornih organizama, mikroorganizama, kompetitivni pritisci), a takođe i u odnosu na sezonu i razvojni stadijum biljke (Mierziak i sar. 2014). Takođe, kada u okviru samog staništa postoji heterogenost resursa to se odražava na razlike u sintezi sekundarnih metabolita kod članova biljne zajednice (Hakes i Cronin 2011).

Kod gajenih vrsta, sastav i količina pojedinih hemijskih komponenti mogu se u određenoj meri predvideti, obzirom da su unapred poznate osobine kultivara i agrotehničke mere uzgajanja i zaštite; na osnovu ovih informacija mogu se očekivati određene fizičke i hemijske karakteristike plodova. Nasuprot tome, u prirodnim populacijama divljih vrsta sastav i količina hemijskih konstituenta nisu unapred poznati, i zavise od brojnih faktora. Poznato je da različite vrste stresnih faktora predstavljaju okidač za biosintetski fenilpropanoidni put kojim se obrazuju različite klase fenolnih jedinjenja (Dixon i Paiva 1995). Na svakom staništu deluje specifičan set faktora okruženja, te delovanje pojedinačnih faktora nije izolovano; efekti njihovog delovanja se dodatno usložnjavaju u kombinaciji sa starošću, kompozicijom i odnosima unutar same biljne zajednice. Imajući u vidu sve navedene uticaje, jasno je da se kod divljih vrsta može očekivati da ispolje različite stepene varijacije na nivou sekundarnih metabolita pod uticajem različitih faktora okruženja.

U ovom radu su prikazani rezultati regresione analize u kojoj su korelisani sadržaji ispitivanih jedinjenja sa stanišnim (nadmorska visina i pokrovnost vegetacije) i klimatskim uslovima (temperatura, količina padavina, insolacija), koji su pokazali da između ispitivanih vrsta

postoje značajne razlike. Kod vrste *C. mas* značajne korelacije (ukupno 21) su utvrđene za sadržaj svih šest ispitivanih jedinjenja i samo sadržaj kvercetin-ramnozida u plodovima analiziranih jedinki nije korelisan sa ispitivanim faktorima. Svih šest jedinjenja pokazuje isti trend, pozitivno su korelisan sa nadmorskom visinom, a negativno sa pokrovnošću, temperaturom i insolacijom. Kod vrste *R. canina* značajne korelacije (ukupno 15) su utvrđene za četiri jedinjenja: sadržaj neohlorogene kiseline je negativno korelisan sa temperaturom i insolacijom, a pozitivno sa količinom padavina tokom vegetacijskog perioda; ostala tri jedinjenja (kvercetin-glukonorid, -galaktozid i -glukozid) su negativno korelisana sa temperaturom i osunčanošću, a pozitivno sa količinom padavina i nadmorskom visinom. Sadržaj kvercetin-rutinozida je negativno korelisan sa pokrovnošću. Kod vrste *C. monogyna*, takođe sadržaj četiri jedinjenja je statistički značajno korelisano sa ispitivanim parametrima (ukupno 8 korelacija): kvercetin-rutinozid je pozitivno korelisan sa pokrovnošću, temperaturom i insolacijom, a negativno sa nadmorskom visinom; -ramnozid je pozitivno korelisan sa insolacijom, a negativno sa nadmorskom visinom; -glukonorid je pozitivno korelisan sa padavinama, a -glukozid sa insolacijom. Za sadržaj neohlorogene kiseline i -galaktozida nisu utvrđene statistički značajne korelacije ni za jedan od ispitivanih faktora. Nizak stepen korelisanosti (ukupno 3 statistički značajne korelacije) sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja sa ispitivanim parametrima je utvrđen kod vrsta *P. spinosa* i *C. sanguinea*. Kod *P. spinosa* sadržaj neohlorogene kiseline pozitivno je korelisan sa temperaturom i nadmorskom visinom, a negativno sa pokrovnošću i insolacijom, dok je kod *C. sanguinea* sadržaj kvercetin-rutinozida negativno korelisan sa pokrovnošću, temperaturom i insolacijom, a pozitivno sa nadmorskom visinom. U pogledu ispitivanih parametara staništa, sadržaj bar jednog od analiziranih jedinjenja kod svih vrsta bio je korelisan sa prosečnom insolacijom tokom vegetacijskog perioda, nadmorskom visinom, pokrovnošću i prosečnom temperaturom u sezoni rasta, dok je prosečna količina padavina bila korelisana sa sadržajem određenih fenolnih jedinjenja samo kod vrsta *R. canina* i *C. monogyna*.

Obzirom na značajnu ekološku ulogu fenolnih jedinjenja u različitim biljnim organima, veliki broj istraživača posebnu pažnju povećuje kvalitativnim i kvantitativnim analizama ovih jedinjenja i utvrđivanju njihove povezanosti sa sredinskim faktorima. I podaci dobijeni u ovom radu pokazali su značajan uticaj staništa na varijabilnost sadržaja ispitivanih jedinjenja kod analiziranih vrsta (Popović i sar. 2018). Postoji veliki broj podataka koji ukazuju na značajne korelacije između sadržaja pojedinih jedinjenja i abiotičkih faktora, koji uključuju sve fizičke faktore koji deluju na staništu, kao što su svetlost, ili UV zračenje, dostupnost vode,

temperatura i sastav zemljišta. Imajući u vidu kompleksnost delovanja svih abiotičkih činilaca, u mnogim od ovih studija su dobijeni različiti rezultati, odnosno isti abiotički činilac je bio na različit način korelisan sa pojedinim sekundarnim metabolitima. Pregled dostupne literature u ovoj oblasti istraživanja potvrđuje da se nadmorska visina (kao skup više faktora, temperature, UV zračenja, tipa zemljišta) najčešće pozitivno koreliše sa sadržajem različitih fenolnih jedinjenja u biljkama (Albert i sar. 2009). Sa druge strane, variranje pojedinačnih faktora (temperature, UV zračenja, vode) može da pokaže različit uticaj na sadržaj istih jedinjenja, odnosno pozitivne ili negativne korelisanosti, ili odsustvo korelacija. Sva ova istraživanja doprinose rasvetljavanju uloge sredinskih faktora kao pokretača biosintetskih puteva u metabolizmu fenola. Značajno je, sa ekološke tačke gledišta, i što brojni podaci potvrđuju da je korelisanost sadržaja fenolnih jedinjenja sa faktorima sredine najčešće specifična za vrstu, životnu formu, mikrolokaciju individue i da zavisi od opšteg ekofiziološkog stanja biljke.

U eksperimentalnim uslovima, kod kultivisanih jediniki, i u prirodnim populacijama je dokazano da su sinteza i biološka aktivnost pojedinih fenolnih jedinjenja korelisani sa stepenom UV zračenja (Prado i sar. 2012). Ova korelacija je utvrđena za kumarine, koji se sintetišu i akumuliraju prilikom izlaganja biljaka UV zračenju (Trumble i sar. 1992, Taiz i Zeiger 2006, Vialart i sar. 2012), kao i za ukupni sadržaj fenolnih jedinjenja (Ashihara i sar. 2008), odnosno flavanola i katehina (Anan i Nakagawa 1974, Ashihara i sar. 2008). Flavonoidi su jedinjenja odgovorna za UV zaštitu biljnih tkiva, i njihova akumulacija nakon izlaganja biljaka UV-zračenju je opsežno izučena (Chaves i sar. 1997, Adrian i sar. 2000, Jaakola i sar. 2004, Pezzuto 2008, Quiroga i sar. 2012).

I vodni stres spada u faktore spoljašnje sredine koji se povezuju sa indukcijom sinteze pojedinih fenolnih jedinjenja; osim što utiče na smanjenje lisne površine i indukuje opadanje listova, osmotske promene koje uzrokuje gubitak vode u tkivima mogu da pokrenu put biosinteze purinskih alkaloida (Godoy-Hernandez i Loyola-Vargas 1991, Ashihara i sar. 2008, Frischknecht i sar. 1987). Vodni stres predstavlja ključni faktor okruženja koji limitira produkciju biljaka (akumulaciju biomase), i biljke raspolažu brojnim biohemijским i fiziološkim mehanizmima kojima uspevaju da se prilagode nepovoljnim uslovima. Adaptivni odgovor biljaka podrazumeva aktiviranje stres-indukovanih gena ili regulaciju genske ekspresije (Seki i sar. 2003). Pokazano je da može da dođe do preusmeravanja fotosintetički vezanog ugljenika od sinteze primarnih metabolita ka sintezi sekundarnih metabolita kao što su flavonoidi i slična jedinjenja koja su povezana sa vrlo malim porastom ili odsustvom porasta

biljke kada je izložena vodnom i temperaturnom stresu (Kaufman i sar. 1999). Kod vrsta *Crataegus monogyna* i *C. levigata*, izloženih indukovanom vodnom deficitu, niskim temperaturama, prevelikoj količini vode i delovanju herbivora, najveći uticaj na povećanu sintezu fenolnih jedinjenja su imali vodni deficit i niske temperature (Kirakosyan i sar. 2004).

U nekoliko studija je ispitivana povezanost staništa, odnosno lokaliteta, sa sadržajem fenolnih jedinjenja, upoređivanjem populacija koje rastu na različitim nadmorskim visinama. Staništa različitih nadmorskih visina u umerenim zonama imaju različit čitav set ekoloških faktora kao što je količina padavina, srednje temperature i temperaturni ekstremi, karakteristike zemljišta, uticaj vetra, dužina trajanja snežnog pokrivača, dužina vegetacionog perioda, intenzitet radijacije i broj sunčanih dana; od svih nabrojanih faktora, smatra se da intenzitet sunčevog zračenja i temperature imaju najveći uticaj na sekundarni metabolizam biljaka (Körner 1999). Mnogobrojne studije su potvrdile značajno veći sadržaj fenolnih jedinjenja kod populacija sa većih nadmorskih visina, i ova saznanja su podstakla gajenje pojedinih lekovitih biljaka na odgovarajućim staništima radi postizanja boljeg kvaliteta.

Količina flavonoida u pupoljcima tri vrste *Crepis capillaris*, *Hieracium pilosella* i *Hypochaeris radicata* sa različitih staništa (obalskih i lociranih dublje u kopnu) je bila pozitivno korelisana sa nadmorskom visinom staništa, iako su korelacije bile manje izražene kod populacija bližih obali u odnosu na one dublje u kopnu (Zidorn i sar. 2005), a slično je pokazano i kod prirodnih populacija *Hippophaë rhamnoides* ssp. *Sinensis* (Ma i sar. 2016). U studiji u kojoj su ispitivane tri vrste (*Calluna vulgaris*, *Sambucus nigra* i *Vaccinium myrtillus*) sa različitih staništa, utvrđeno je postojanje razlike između vrsta u pogledu sinteze fenolnih jedinjenja sa porastom nadmorske visine. Kod *C. vulgaris* i *S. nigra* došlo do povećanja količine flavonoida, naročito flavonol-glikozida sa hidroksilnom grupom na B-prstenu, a količina antocijana je smanjena u plodovima *S. nigra* i *V. myrtillus* sa porastom nadmorske visine staništa (Rieger i sar. 2008).

Sa porastom nadmorske visine od 1000 m, količina flavonoida u listovima *Matricaria chamomila* se povećala za 25,5% (kvercetin-7-O-glukozida 56,9%), a ukupna količina derivata fenolnih kiselina za 31,1% (hlorogene +44,1%) (Ganzera i sar. 2008). Slično su pokazali i Albert i sar. (2009) kod vrste *Arnica montana*. U ovim studijama je potvrđeno da je uticaj sredinskih faktora izraženiji kod vrste koja je izložena njihovom delovanju i van vegetacijske sezone (*A. montana*, hemikriptofita) u odnosu na jednogodišnju terofitu *M. chamomilla*. Visoka adaptivna plastičnost pojedinih vrsta u pogledu regulacije sinteze fenolnih jedinjenja

se ogleda i u prisustvu/odsustvu supstitucije kod flavonoida (-hidroksi grupa na B-prstenu) koja se menja sa porastom nadmorske visine (Spitaler i sar. 2006). Interspecijske varijacije u količini flavonoida u odnosu na nadmorsku visinu i zagađenost staništa su specifične za vrstu (Nikolova i Ivancheva 2005) ili za određeni morfo/hemotip (Grass i sar. 2006), a kod nekih vrsta zabeležena variranja u količini pojedinih fenolnih jedinjenja duž visinskog gradijenta nisu bila jasno korelisana sa sezonskim variranjem UV-B zračenja (Bernal i sar. 2013).

Intraspecijska, međupopulaciona varijabilnost hemijskih karaktera je često ispitivana kod lekovitih ili ekonomski važnih biljnih vrsta, u cilju markiranja populacija sa najpovoljnijim sadržajem biološki aktivnih komponenti (Conforti i sar. 2005, Çirak i sar. 2007) ili radi utvrđivanja geografskog porekla biljaka ili biljnih proizvoda (Jaitz i sar. 2010, Bajoub i sar. 2015).

U ovom radu su prikazani rezultati **hemijskih kvalitativnih i kvantitativnih analiza sadržaja selektovanih fenolnih jedinjenja** u plodovima pet šumskih vrsta iz prirodnih populacija. Odabrane vrste iz prirodnih populacija sa teritorije Srbije do sada nisu detaljno fitohemijski ispitivane, i dostupni podaci na ovaj način mogu biti dopunjeni i doprineti njihovom fitohemijskom profilisanju. Takođe, dobijeni rezultati o visokim količinama pojedinih jedinjenja u plodovima vrsta prisutnih u sponatnoj flori usmeravaju pažnju na prirodne populacije kao važne izvore prirodnih antioksidanata, i kao gentičke resurse, važne za očuvanje biološkog diverziteta i moguće ukrštanje sa srodnim kultivisanim vrstama. Primenjene **hemometrijske analize** su potvrdile da su selektovana hemijska jedinjenja dobri hemotaksonomski indikatori (razdvajanje vrsta i populacija), kao i da postoji velika varijabilnost (između i unutar populacija) u pogledu sadržaja fenolnih jedinjenja. Uticaj faktora okruženja na količine ispitivanih jedinjenja je procenjen **ekološkom analizom** u odnosu na nekoliko faktora okruženja, koja je pokazala da ispitivane vrste različito reaguju na pojedine abiotičke faktore. Takođe, uočeno je da je sinteza pojedinih fenolnih jedinjenja, kao adaptivni odgovor na abiotičke faktore, specifičan i za vrstu i za samo jedinjenje. Rezultati koje smo dobili su uporedivi sa dostupnim rezultatima studija u kojima su istraživane iste, ili srodne vrste sa drugih geografskih lokaliteta i potvrđuju potrebu prikupljanja podataka koji se odnose na diverzitet i varijabilnost sadržaja fenolnih jedinjenja kod prirodnih populacija iz spontane flore.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu prikazanih rezultata kvalitativne i kvantitativne analize sadržaja odabranih hemijskih jedinjenja u plodovima pet šumskih drvenastih vrsta samoniklog voća iz tri prirodne populacije sa teritorije Srbije, mogu se izvesti sledeći zaključci kojima se obuhvataju prethodno postavljeni ciljevi ovog rada:

- U metanolnim ekstraktima svežih plodova vrsta *Rosa canina*, *Cornus mas* i *Cornus sanguinea* detektovano je prisustvo šest odabranih fenolnih jedinjenja: jedne fenolne kiseline (neohlorogena kiselina [5-*O*-kafeoilhinska kiselina]) i pet flavonoida (kvercituron [kvercetin-3-*O*-glukuronid], hiperozid [3-*O*-galaktozid], rutin [kvercetin-3-*O*-rutinozid], izokvercetin [kvercetin-3-*O*-glukozid] i kvercitrin [kvercetin-3-*O*-ramnozid]; dok kod vrsta *Crataegus monogyna* i *Prunus spinosa* jedno od ispitivanih jedinjenja nije detektovano (kvercituron [kvercetin-3-*O*-glukuronid]).
- U poređenju sa literaturnim podacima ispitivanja plodova kultivisanih i divljih vrsta koje se smatraju bogatim izvorima odabranih fenolnih jedinjenja, rezultati saopšteni u ovom radu pokazuju da se prirodne populacije pet šumskih vrsta sa teritorije Srbije odlikuju veoma visokim sadržajem ovih jedinjenja, koji u nekim slučajevima i daleko prevazilaze ranije saopštene podatke. Količina neohlorogene kiseline u plodovima *C. mas* je veoma visoka u odnosu na referentne podatke; količine kvecetin-galaktozida i -glukozida u plodovima *C. monogyna* i *C. sanguinea* su veće od do sada objavljenih podataka; količina -glukuronida u plodovima *C. sanguinea* je višestruko veća u odnosu na sve do sada istraživane vrste; relativno visok sadržaj -rutinozida je zabeležen u plodovima *P. spinosa*, *C. monogyna* i *C. sanguinea*, a relativno velike količine -ramnozida su konstatovane u plodovima *P. spinosa* i *R. canina*.
- Ispitivane vrste se značajno razlikuju kako po sadržaju analiziranih fenolnih jedinjenja u ukupnom uzorku, tako i po procentualnom učešću pojedinih jedinjenja. Razlike među vrstama, među populacijama i u njihovoj interakciji su ocenjene kao značajne na osnovu analiza koje su urađene na nivou familije (*R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa*)

i roda (*C. mas* i *C. sanguinea*), kao i u uporednoj analizi koja je obuhvatila svih pet vrsta.

- Međusobna korelisanost sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja u uzorcima sa različitim staništa je mala kod vrsta *R. canina*, *C. monogyna* i *P. spinosa*, dok je kod vrsta *C. mas* i *C. sanguinea* relativno visoka i može biti indikativan parametar za ciljane fitohemijske analize. Od ispitivanih jedinjenja, najveći stepen intra-korelisanosti pokazuje neohlorogena kiselina, koja se može smatrati najpouzdanijim karakterom za korelacione analize i procenu sadržaja.
- Kod vrste *R. canina*, utvrđeno je postojanje interpopulacione varijabilnosti, a razdvajanju populacija najviše doprinose razlike u sadržaju i varijabilnosti kvercetin-glukuronida, -galaktozida i -glukozida. Intrapopulaciona varijabilnost je relativno niska. Populacije sa Avale i Ozrena su relativno slične, dok se izdvaja populacija sa Zlatarskog jezera.
- Kod vrste *C. monogyna*, u interpopulacionoj varijabilnosti najveći uticaj imaju razlike u sadržaju i varijabilnosti kvercetin-glukozida, -galaktozida i -glukuronida. Intrapopulaciona varijabilnost je relativno visoka, a rezultati analize glavnih komponenti ukazuju na izrazito heterogen raspored individua u prostoru tri PCA ose. Populacija sa Ozrena je izdvojena, dok su u velikoj meri slične populacije sa Avale i Zlatarskog jezera.
- Kod vrste *P. spinosa*, veći broj jedinjenja, po razlikama u sadržaju i svojoj varijabilnosti doprinosi interpopulacionoj varijabilnosti: kvercetin-glukozida, -galaktozid, -glukuronid, -ramnozid i neohlorogena kiselina. Intrapopulaciona varijabilnost je mala, a rezultati analize glavnih komponenti ukazuju na postojanje dve relativno homogene grupe individua, dok je oko njih rasuto 40% ostalih individua u prostoru tri PC ose. Populacija sa Avale je jasno izdvojena u odnosu na populacije sa Ozrena i Zlatarskog jezera koje su relativno slične.
- Kod vrste *C. mas*, najveći doprinos u interpopulacionoj varijabilnosti imaju razlike u sadržaju i varijabilnosti kvercetin-glukozida i -glukuronida. Intrapopulaciona

varijabilnost je umerena. Populacija sa Avale je izdvojena, dok su u velikoj meri slične populacija sa Ozrena i Zlatarskog jezera.

- Kod vrste *C. sanguinea*, u interpopulacionoj varijabilnosti najveći uticaj imaju razlike u sadržaju i varijabilnosti kvercetin-galaktozida -rutinozida, i neohlorogene kiseline. Intrapopulaciona varijabilnost je veoma mala. Populacije sa Zlatarskog jezera i Ozrena su relativno slične, a u odnosu na njih je jasno izdvojena populacija sa Avale.
- Generalno, ispitivana fenolna jedinjenja su dobri hemijski markeri za utvrđivanje razlika između vrsta, između populacija i jedinki. Ipak, prema njihovom visokom doprinosu varijabilnosti unutar ukupnog uzorka kod svake od ispitivanih vrsta, izdvajaju se jedinjenja kvercetin-glukozid, -galaktozid i -glukuronid.
- Analiza glavnih komponenti i klaster analiza su pokazale da su na osnovu sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja međusobno najbližije jedinke vrsta *C. monogyna* i *C. sanguinea*; takođe relativno visoka sličnost postoji i između jedinki vrsta *R. canina* i *P. spinosa*, dok se od svih najviše razlikuju jedinke vrste *C. mas*.
- Diskriminantna analiza urađena je sa ciljem da se testira da li sadržaji odabranih fenolnih jedinjenja omogućavaju diskriminaciju istraživanih vrsta i njihovih populacija. Dobijeni rezultati, koji se zasnivaju na utvrđivanju najveće distance između unapred određenih grupa, su pokazali da se vrste jasno razdvajaju u dvodimenzionalnom prostoru, dok se njihove populacije u većem ili manjem stepenu preklapaju, pri čemu je preklapanje populacija sa Zlatarskog jezera i Ozrena izraženije.
- Analiza korelisanosti sadržaja ispitivanih fenolnih jedinjenja sa sredinskim faktorima pokazala je velike razlike između vrsta, jedinjenja i uticaja pojedinih faktora okruženja, ukazujući na specifičnosti svake vrste u pogledu adaptiranosti na uslove staništa.
- Najveći broj značajnih korelacija između sadržaja fenolnih jedinjenja i sredinskih faktora je utvrđen kod vrsta *C. mas* i *R. canina*. Kod vrste *C. mas* sadržaj svih jedinjenja je korelisan sa pokrovnošću vegetacije, dok sa temperaturom, insolacijom i nadmorskom visinom značajne korelacije postoje za sva jedinjenja osim za sadržaj kvercetin-ramnozida. Kod vrste *R. canina* sa analiziranim sredinskim faktorima jedino

nije bio korelisan sadržaj kvercetin-ramnozida. U poređenju sa ovim vrstama, sadržaj jedinjenja u plodovima *C. monogyna* pokazuje značajno manji stepen korelisanosti, dok je kod vrsta *P. spinosa* i *C. sanguinea* sadržaj samo jednog jedinjenja (neohlorogena kiselina, odnosno kvercetin-rutinozid) korelisan je sa analiziranim sredinskim faktorima.

- Najveći broj statistički značajnih korelacija utvrđen je između sadržaja analiziranih fenolnih jedinjenja (od jednog kod *P. spinosa* do pet kod *C. mas*) i insolacije, dok je najmanji broj jedinjenja (četiri kod *R. canina* i jedno kod *C. monogyna*) korelisan sa prosečnom količinom padavina na staništu tokom vegetacijske sezone. Na osnovu analize stepena linearne zavisnosti između sadržaja ispitivanih hemijskih parametara i najvažnijih faktora sredine u staništima, može se zaključiti da najveći uticaj ima prosečna insolacija tokom vegetacijske sezone, zatim nadmorska visina, prosečna temperatura u sezoni rasta i pokrovnost vegetacije, dok prosečna količina padavina u sezoni rasta pokazuje najmanji stepen korelisanosti sa sadržajem ispitivanih jedinjenja.
- Hemijska karakterizacija i kvantifikacija pojedinih biološki aktivnih jedinjenja i povezanost njihovog sadržaja sa pojedinim staništima prirodnih populacija predstavlja značajan pomak u dosadašnjim fitohemijskim istraživanjima, i opravdava potrebu da se prirodne populacije smatraju značajnim genetičkim i hemijskim resursom u sklopu očuvanja biodiverziteta šumskih ekosistema.

7. LITERATURA

- ADAMCZAK A, BUCHWALD W, ZIELIŃSKI J, MIELCAREK S (2012). Flavonoid and organic acid content in rose hips (*Rosa* L., sect. *Caninae* DC. EM. Christ.). *Acta Biologica Cracoviensia series Botánica*, 54(1), 105-112.
- ADRIAN M, JEANDET P, DOUILLET-BREUIL AC, TESSON L, BESSIS R (2000). Stilbene content of mature *Vitis vinifera* berries in response to UV-C elicitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 6103-6105.
- AKULA R, RAVISHANKAR GA (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1720-1731.
- ALBERT A, SAREEDENCHAI V, HELLER W, SEIDLITZ H K, ZIDORN C (2009). Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana* L. cv. ARBO. *Oecologia*, 160(1), 1-8.
- ALBERT CH, GRASSEIN F, SCHURR FM, VIEILLEDENT G, VIOLLE C (2011). When and how should intraspecific variability be considered in trait-based plant ecology?. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 13(3), 217-225.
- ANAN T, NAKAGAWA N (1974). Effect of light on chemical constituents in the tea leaves *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 48, 91-98.
- ANDREW RL, PEAKALL R, WALLIS IR, FOLEY WJ (2007). Spatial distribution of defense chemicals and markers and the maintenance of chemical variation. *Ecology*, 88(3), 716-728.
- APTIN R, GHAVAMALDIN A, AHMAD T, MARIAMALSADAT T (2013). Evaluation of biochemical compounds *Rosa canina* L. in North of Iran (Ramsar and Tonekabon heights). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7 (45), 3319-3324.
- ARON PM, KENNEDY JA (2008). Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(1), 79-104.
- ARSIĆ B, KOSTIĆ D, RANDJELOVIĆ S, RADOVANOVIĆ B, SUNARIĆ S, ILIĆ S (2016). Chemometric analysis of selected medicinal plants from Serbia. *Romanian Biotechnological Letters*, 21(1), 111-115.
- ARTS IC, SESINK AL, FAASSEN-PETERS M, HOLLMAN PC (2004). The type of sugar moiety is a major determinant of the small intestinal uptake and subsequent biliary excretion of dietary quercetin glycosides. *British Journal of Nutrition*, 91(06), 841-847.
- ASHIHARA H, SANO H, CROZIER A (2008). Caffeine and related purine alkaloids: biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. *Phytochemistry*, 69, 841-856.
- ATANASSOVA M, CHRISTOVA-BAGDASSARIAN V (2009). Determination of tannins content by titrimetric method for comparison of different plant species. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 44(4), 413-415.

- BÄCK J, AALTO J, HENRIKSSON M, HAKOLA H, HE Q, BOY M (2012). Chemodiversity of a Scots pine stand and implications for terpene air concentrations. *Biogeosciences*, 9(2), 689-702.
- BADALICA-PETRESCU M, DRAGAN S, RANGA F, FETEA F, SOCACIU C (2014). Comparative HPLC-DAD-ESI (+) MS fingerprint and quantification of phenolic and flavonoid composition of aqueous leaf extracts of *Cornus mas* and *Crataegus monogyna*, in relation to their cardiotoxic potential. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(1), 9-18.
- BAHORUN T, TROTIN F, POMMERY J, VASSEUR J, PINKAS M (1994). Antioxidant activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Planta Medica*, 60, 323-328.
- BAHORUN T, TROTIN F, VASSEUR J (1994). Comparative polyphenolic productions in *Crataegus monogyna* callus cultures. *Phytochemistry* 37, 1273-1276.
- BAJIĆ-LJUBIČIĆ J, POPOVIĆ Z, MATIĆ R, BOJOVIĆ S (2018). Selected phenolic compounds in fruits of wild growing *Cornus mas* L. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 17(1), 91-96.
- BAJOUB A, CARRASCO-PANCORBO A, OUAZZANI N, FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A. (2015). Potential of LC-MS phenolic profiling combined with multivariate analysis as an approach for the determination of the geographical origin of north Moroccan virgin olive oils. *Food Chemistry*, 166, 292-300.
- BAKKALI F, AVERBECK S, AVERBECK D, IDAOMAR M (2008). Biological effects of essential oils-a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- BARAZA E, ZAMORA R, HODAR JA (2006). Conditional outcomes in plant-herbivore interactions: neighbours matter. *Oikos*, 113, 148-156.
- BARNARD TE, BOOKSH KS, BRERETON RG, COOMANS DH, DEMING SN, HAYASHI Y, MALLET YL, MATSUDA R, NOCERINO JM, OLIVERO RA, SINGH A (2013). *Chemometrics in environmental chemistry-statistical methods* (Vol. 2). Springer.
- BARROS L, CARVALHO AM, FERREIRA IC (2011). Exotic fruits as a source of important phytochemicals: Improving the traditional use of *Rosa canina* fruits in Portugal. *Food Research International*, 44(7), 2233-2236.
- BARROS L, DUEÑAS M, CARVALHO AM, FERREIRA IC, SANTOS-BUELGA C (2012). Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1576-1582.
- BATE-SMITH EC (1961). Chromatography and taxonomy in the Rosaceae, with special reference to *Potentilla* and *Prunus*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 58(370), 39-54.
- BATE-SMITH EC, FERGUSON IK, HUTSON K, JENSEN SR, NIELSEN BJ, SWAIN T (1975). Phytochemical interrelationships in the Cornaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 3(2), 79-89.
- BEDAIR M, SUMNER LW (2008). Current and emerging mass-spectrometry technologies for metabolomics. *Trends in Analytical Chemistry*, 27(3), 238-250.
- BEECHER GR (2003). Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *The Journal of Nutrition*, 133(10), 3248S-3254S.

- BEEDLOW PA, TINGEY DT, PHILLIPS DL, HOGSETT WE, OLSZYK DM (2004). Rising atmospheric CO₂ and carbon sequestration in forests. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(6), 315-322.
- BENNETT RN, WALLSGROVE RM (1994). Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, 127(4), 617-633.
- BERENBAUM MR, ZANGERL AR (1996). Phytochemical diversity: adaptation or random variation? U: J.T. Romeo, J.A. Saunders i P. Barbosa [ur.] *Phytochemical Diversity and Redundancy in Ecological Interactions*. Plenum Press, New York, 1-24.
- BERGSTRÖM G, GROTH I, PELLMYR O, ENDRESS PK, THIEN LB, HÜBENER A, FRANCKE W (1991). Chemical basis of a highly specific mutualism: chiral esters attract pollinating beetles in Eupomatiaceae. *Phytochemistry*, 30(10), 3221-3225.
- BERNAL M, LLORENS L, JULKUNEN-TIITTO R, BADOSA J, VERDAGUER, D (2013). Altitudinal and seasonal changes of phenolic compounds in *Buxus sempervirens* leaves and cuticles. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 471-482.
- BERNARDS MA, LEWIS NG (1992). Alkyl ferulates in wound healing potato tubers. *Phytochemistry*, 31, 3409-3412.
- BERNATONIENĖ J, MASTEIKOVA R, MAJIENĖ D, SAVICKAS A, KĖVELAITIS E, BERNATONIENĖ R, DVORÁČKOVÁ K, CIVINSKIENĖ G, LEKAS CIVINSKIENĖ R, VITKEVIČIUS K, PEČIŪRA R (2008). Free radical-scavenging activities of *Crataegus monogyna* extracts. *Medicina*, 44(9), 706-712.
- BERNATONIENE J, TRUMBECKAITE S, MAJIENE D, BANIENE R, BALIUTYTE G, SAVICKAS A, TOLEIKIS A (2009). The effect of crataegus fruit extract and some of its flavonoids on mitochondrial oxidative phosphorylation in the heart. *Phytotherapy Research*, 23(12), 1701-1707.
- BIACS PA, DAOUD H (1994). A high performance liquid chromatography and photodiode-array detection of carotenoid and carotenoid ester in fruit and vegetables. *Journal of Plant Physiology*, 143, 520-525.
- BIDLACK WR, OMAJE ST, MESKIN MS, TOPHAM DK [ur.] (2000). *Phytochemicals as bioactive agents*. CRC press.
- BIJELIĆ SM, GOLOŠIN BR, TODOROVIĆ JIN, CERVIĆ SB, POPOVIĆ BM (2011). Physicochemical fruit characteristics of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes from Serbia. *Hortscience*, 46(6), 849-853.
- BINKLEY D, GIARDINA C (1998). Why do Tree Species Affect Soils? The Warp and Woof of Tree-soil Interactions. *Biogeochemistry*, 42(1-2), 89-106.
- BLANCO JA (2007). The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. *Ecological Modelling*, 209(2), 65-77.
- BLUMENTHAL M, GOLDBERG A, BRINCKMANN J (2000). *Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs*. Integrative Medicine Communications. Newton, MA.
- BLUMTHALER M, AMBACH W, ELLINGER R (1997). Increase in solar UV radiation with altitude. *Journal of photochemistry and Photobiology B: Biology*, 39(2), 130-134.

- BÖHM V, FRÖHLICH K, BITSCH R (2003). Rosehip - a "new" source of lycopene? *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), 385-389.
- BOJOVIĆ S, JURC M, DRAŽIĆ D, PAVLOVIĆ P, MITROVIĆ M, DJURDJEVIĆ L, DODD RS, AFZAL-RAFI Z, BARBERO M (2005). Origin identification of *Pinus nigra* populations in southwestern Europe using terpene composition variations. *Trees*, 19(5), 531-538.
- BOJOVIĆ S, NIKOLIĆ B, RISTIĆ M, ORLOVIĆ S, VESELINOVIĆ M, RAKONJAC L, DRAŽIĆ D (2011). Variability in chemical composition and abundance of the rare tertiary relict *Pinus heldreichii* in Serbia. *Chemistry & Biodiversity*, 8(9), 1754-1765.
- BOJOVIĆ S, ŠARAC Z, NIKOLIĆ B, TEŠEVIĆ V, TODOSIJEVIĆ M, VELJIĆ M, MARIN PD (2012). Composition of n-Alkanes in natural populations of *Pinus nigra* from Serbia - chemotaxonomic implications. *Chemistry & Biodiversity*, 9(12), 2761-2774.
- BOJOVIĆ S, JURC M, RISTIĆ M, POPOVIĆ Z, MATIĆ R, VIDAKOVIĆ V, STEFANOVIĆ M, JURC D (2016). Essential-oil variability in natural populations of *Pinus mugo* Turra from the Julian Alps. *Chemistry & Biodiversity*, 13(2), 181-187.
- BOLNICK DI, DOEBELI M (2003). Sexual dimorphism and adaptive speciation: two sides of the same ecological coin. *Evolution*, 57(11), 2433-2449.
- BONAN GB (2008). Forests and climate change: forcings, feedbacks, and the climate benefits of forests. *Science*, 320(5882), 1444-1449.
- BORISAVLJEVIĆ LJ, JOVANOVIĆ-DUNJIĆ R, MIŠIĆ V (1955). *Vegetacija Avale*. Institut za ekologiju i biogeografiju SANU. Zbornik radova, 6(3), 3-43. Beograd.
- BORS W, HELLER W, MICHEL C, SARAN M (1990). Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*, 186, 343-355.
- BOUDET AM (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68(22), 2722-2735.
- BOURGAUD, F., GRAVOT, A., MILESI, S., GONTIER, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, 161(5), 839-851.
- BOYD RK, BASIC C, BETHEM RA (2008). *Trace quantitative analysis by mass spectrometry*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester.
- BRENES-ARGUEDAS T, COLEY PD (2005). Phenotypic variation and spatial structure of secondary chemistry in a natural population of a tropical tree species. *Oikos*, 108(2), 410-420.
- BRYANT JP, PROVENZA FD, PASTOR J, REICHARDT PB, CLAUSEN TP, DU TOIT JT (1991). Interactions between woody plants and browsing mammals mediated by secondary metabolites. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 22(1), 431-446.
- BUNDY JG, DAVEY MP, VIANT MR (2009). Environmental metabolomics: a critical review and future perspectives. *Metabolomics*, 5(1), 3.
- BUSSOTTI F, GRAVANO E, GROSSONI P, TANI C (1998). Occurrence of tannins in leaves of beech trees (*Fagus sylvatica*) along an ecological gradient, detected by histochemical and ultrastructural analyses. *New Phytologist*, 138(3), 469-479.

- CALIŞKAN O, GÜNDÜZ K, SERÇE S, TOPLU C, KAMILOĞLU O, ŞENGÜL M, ERCİŞLİ S (2012). Phytochemical characterization of several hawthorn (*Crataegus* spp.) species sampled from the Eastern Mediterranean region of Turkey. *Pharmacognosy Magazine*, 8(29), 16-21.
- CALLAWAY RM (2002). The detection of neighbors by plants. *Trends in Ecology and Evolution*, 17(3), 104-105.
- CARIDI D, TRENERRY VC, ROCHFORD S, DUONG S, LAUGHER D, JONES R (2007). Profiling and quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa* L.) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, 105, 691-699.
- CARIVEAU D, IRWIN RE, BRODY AK, GARCIA-MAYEYA LS, VON DER OHE A (2004). Direct and indirect effects of pollinators and seed predators to selection on plant and floral traits. *Oikos*, 104, 15-26.
- CARROLL MJ, ZANGERL AR, BERENBAUM MR (2000). Heritability estimates for octyl acetate and octyl butyrate in the mature fruit of the wild parsnip. *Journal of Heredity*, 91, 68-71.
- CASSIDY A, HANSLEY B, LAMUELA-RAVENTOS RM (2000). Isoflavones, lignans and stilbenes - origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1044-1062.
- CHAI JT, DING ZH (1995). Nutrients composition of *Rosa laevigata* fruits. *Science Technology in Food Industry*, 3, 26-29.
- CHANG Q, ZUO Z, HARRISON F, CHOW MS (2002). Hawthorn. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 42(6), 605-612.
- CHAVES N, ESCUDERO JC, GUTIERREZ-MERINO C (1997). Role of ecological variables in the seasonal variation of flavonoid content of *Cistus ladanifer* exudates. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 579-603.
- CHEN GL, CHEN SG, ZHAO YY, LUO CX, LI J, GAO YQ (2014). Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after in vitro digestion. *Industrial Crops and Products*, 57, 150-157.
- CHEYNIER V 2012. Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochemistry Reviews*, 11(2), 153-177.
- CHOU CH (1986). The role of allelopathy in subtropical agroecosystems in Taiwan. U: A.R. Putnam, C.S. Tang [ur.] *The Science of Allelopathy*. Johan Wiley & Sons, New York, str. 57-73.
- CIPOLLINI ML (2000). Secondary metabolites of vertebrate-dispersed fruits: evidence for adaptive functions. *Revista Chilena de Historia Natural*, 73, 421-440.
- ÇIRAK C, RADUŠIENĖ J, KARABÜK BS, JANULIS V (2007). Variation of bioactive substances and morphological traits in *Hypericum perforatum* populations from Northern Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(7), 403-409.
- ĆIRIĆ A (1977). Tumač za list Prijepolje K 34-16 (OGK SFRJ 1: 100 000) Savezni Geološki zavod, Beograd.

- ĆIRIĆ A, OBRADINOVIĆ Z, NOVKOVIĆ D, POPEVIĆ A, KARAJIČIĆ LJ, JOVIĆ B, SERDAR B (1977). Osnovna geološka karta SFRJ - list Prijepolje (1: 100 000) Savezni Geološki zavod, Beograd.
- CIU T, LI JZ, KAYAHARA H, MA L, WU LX, NAKAMURA K (2006). Quantification of the polyphenols and triterpene acids in Chinese hawthorn fruit by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4574-4581.,
- CLARDY J, WALSH C (2004). Lessons from natural molecules. *Nature*, 432(7019), 829-837.
- CLAUSEN TP, BRYANT JP, REICHARDT PB (1986). Defense of winter-dormant green alder against snowshoe hares. *Journal of Chemical Ecology*, 12, 2117-2131.
- CLIFFORD MN (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 362-372.
- CLOSE DC, MCARTHUR, C (2002). Rethinking the role of many plant phenolics-protection from photodamage not herbivores? *Oikos*, 99(1), 166-172.
- CODER KD (1999). Potential Allelopathy in Different Tree Species. University of Georgia, Daniel B. Warnell School of Forest Resources. str. 1-5 (*Extension publication FOR99-003*).
- COHEN SD, KENNEDY JA (2010). Plant metabolism and the environment: implications for managing phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(7), 620-643.
- COLEMAN JS, MCCONNAUGHAY KDM, ACKERLY DD (1994). Interpreting phenotypic variation in plants. *Trends in Ecology & Evolution*, 9, 187-191.
- CONFORTI F, STATTI GA, TUNDIS R, BIANCHI A, AGRIMONTI C, SACCHETTI G, ANDREOTTI E, MENICHINI F, POLI F (2005). Comparative chemical composition and variability of biological activity of methanolic extracts from *Hypericum perforatum* L. *Natural Product Research*, 19(3), 295-303.
- COOK N, SAMMAN S (1996). Flavonoids - Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2), 66-76.
- CORNELISSEN JHC, LAVOREL S, GARNIER E, DÍAZ S, BUCHMANN N, GURVICH DE, REICH PB, TER STEEGE H, MORGAN HD, VAN DER HEIJDEN MGA, PAUSAS JG, POORTER H (2003). Handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51, 308-335.
- CÔTÉ J, CAILLET S, DOYON G, SYLVAIN JF, LACROIX M (2010). Bioactive compounds in cranberries and their biological properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(7), 666-679.
- CROFT KD (1998). The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 854(1), 435-442.
- CUNJA V, MIKULIC-PETKOVSEK M, STAMPAR F, SCHMITZER V (2014). Compound identification of selected rose species and cultivars: An insight to petal and leaf phenolic profiles. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 139(2), 157-166.

- CUNJA V, MIKULIC-PETKOVSEK M, ZUPAN A, STAMPAR F, SCHMITZER V (2015). Frost decreases content of sugars, ascorbic acid and some quercetin glycosides but stimulates selected carotenes in *Rosa canina* hips. *Journal of Plant Physiology*, 178, 55-63.
- CUSHNIE TPT, LAMB AJ (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356.
- CUTTER RR (2003). Medicinal and pharmaceutical uses. U: A.V. Roberts, T. Debener, S. Gudin S. [ur.], *Encyclopedia of Rose Science*. Academic Press, 716-726.
- CUVELIER ME, RICHARD H, BERSE C (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56(2), 324-325.
- DA RONCH F, CAUDULLO G, HOUSTON DURRANT T, DE RIGO D (2016) *Cornus mas* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. U: San-Miguel-Ayanz J, de Rigo D, Caudillo G, Houston Durrant T, Mauri A [ur.] *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg p. e01ddab+
- DAELS-RAKOTOARISON DA, GRESSIER B, TROTIN F, BRUNET C, LUYCKX M, DINE T (2002). Effects of *Rosa canina* fruit extract on neutrophil respiratory burst. *Phytotherapy research*, 16(2), 157-161.
- DAI J, MUMPER R (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- DAUGUET JC, BERT M, DOLLEY J, BEKAERT A, LEWIN G (1993). 8-methoxy-kaempferol-3-neohesperidoside and other flavonoid from bee pollen of *Crateagus monogyna*. *Phytochemistry*, 33, 1503-1505.
- DE VRIES DP (1980). Breeding research on rose pigments. II. Combining ability analyses of variance of four flavonoids in F1 population. *Euphytica*, 29, 115-120.
- DEMIR F, ÖZCAN M (2001). Chemical and technological properties of rose (*Rosa canina* L.) fruits grown wild in Turkey. *Journal of Food Engineering*, 47, 333-336.
- DEMIR N, YILDIZ O, ALPASLAN M, HAYALOGU AA (2014). Evaluation of volatiles, phenolic compounds and antioxidant activities of rose hip (*Rosa* L.) fruits in Turkey. *LWT-Food Science and Technology*, 57(1), 126-133.
- DENG S, WEST BJ, JENSEN CJ (2013). UPLC-TOF-MS characterization and identification of bioactive iridoids in *Cornus mas* fruit. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 710972.
- DEWICK PM (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons: New York, NY, USA.
- DI FERDINANDO M, BRUNETTI C, FINI A, TATTINI M (2012). Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. U: P. Ahmad i M.N.V. Prasad [ur.], *Abiotic Stress Responses in Plants*. Springer New York, 159-179.
- DICKE M, HILKER M (2003). Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology. *Basic and Applied Ecology*, 4(1), 3-14.

- DIKLIĆ N (1962). Prilog poznavanju šumskih i livadskih fitocenoza Ozrena, Device i Leskovika kod Sokobanje. *Glasnik Prirodnjačkog muzeja u Beogradu*, B 18, 49-83.
- DINDA B, KYRIAKOPOULOS AM, DINDA S, ZOUMPOURLIS V, THOMAIDIS NS, VELEGRAKI A, MARKOPOULOS C, DINDA M (2016). *Cornus mas* L. (Cornelian cherry), an important European and Asian traditional food and medicine: Ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology for its commercial utilization in drug industry. *Journal of Ethnopharmacology*, 193, 670-690.
- DINIĆ A (1975). Ekološka studija graba (*Carpinus betulus* L.) na primeru tipičnog vegetacijskog transekta na Avali. *Glasnik Instituta za botaniku i Botaničke baste Univerziteta u Beogradu*, 10(1-4), 31-76.
- DINIĆ J, NOVAKOVIĆ M, PODOLSKI-RENIĆ A, VAJS V, TEŠEVIĆ V, ISAKOVIĆ A, PEŠIĆ M (2016). Structural differences in diarylheptanoids analogues from *Alnus viridis* and *Alnus glutinosa* influence their activity and selectivity towards cancer cells. *Chemico-biological interactions*, 249, 36-45.
- DIRLEWANGER E, COSSON P, TAVAUD M, ARANZANA MJ, POIZAT C, ZANETTO A, ARÚS P, LAIGRET F (2002) Development of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 105(1), 127-138.
- DIXON RA, PAIVA NL (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, 7(7), 1085-1097.
- DJURDJEVIĆ L, DINIĆ A, MITROVIĆ M, PAVLOVIĆ P, TEŠEVIĆ V (2003). Phenolic acids distribution in a peat of the relict community with Serbian spruce in the Tara Mt. forest reserve (Serbia). *European Journal of Soil Biology*, 39(2), 97-103.
- DJURDJEVIĆ L, MITROVIĆ M, DINIĆ A, PAVLOVIĆ P, BOJOVIĆ S, GAJIĆ G, KOSTIĆ O (2005). Allelopathic investigations of *Quercus conferta* and *Quercus cerris* domination in oak forest at Avala Mt. (Serbia). U: *Fourth World Congress of Allelopathy*.
- DJURDJEVIĆ L, POPOVIĆ Z, MITROVIĆ M, PAVLOVIĆ P, JARIĆ S, OBERAN L, GAJIĆ G (2008). Dynamics of bioavailable rhizosphere soil phenolics and photosynthesis of *Arum maculatum* L. in a lime-beech forest. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 203(7), 590-601.
- DONALDSON JR, LINDROTH RL (2008). Effects of variable phytochemistry and budbreak phenology on defoliation of aspen during a forest tent caterpillar outbreak. *Agricultural and Forest Entomology*, 10(4), 399-410.
- DONOVAN JL, MEYER AS, WATERHOUSE AL (1998). Phenolic composition and antioxidant activity of prunes and prune juice (*Prunus domestica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1247-1252.
- DRAGOVIĆ-UZELAC V, LEVAJ B, BURSAĆ D, PEDISIĆ S, RADOJČIĆ I, BIŠKO A (2007). Total phenolics and antioxidant capacity assays of selected fruits. *Agriculturae Conspectus Scientificus (ACS)*, 72(4), 279-284.
- DUDT JF, SHURE DJ (1994). The influence of light and nutrients on foliar phenolics and insect herbivory. *Ecology*, 75(1), 86-98.

- EDREVA A, VELIKOVA V, TSONEV T, DAGNON S, GÜREL A, AKTAŞ L, GESHEVA E (2008). Stress-protective role of secondary metabolites: diversity of functions and mechanisms. *General and Applied Plant Physiology*, 34(1-2), 67-78.
- EDWARDS JE, BROWN PN, TALENT N, DICKINSON TA, SHIPLEY PR (2012). A review of the chemistry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*, 79, 5-26.
- EGEA I, SÁNCHEZ-BEL P, ROMOJARO F, PRETEL MT (2010). Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(2), 121-129.
- ERCISLI S (2007). Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chemistry* 104, 1379-1384.
- ERCIŞLI S, EŞİTKEN A (2004). Fruit characteristics of native rose hip (*Rosa* spp.) selections from the Erzurum province of Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32(1), 51-53.
- ERCISLI S, ORHAN E, ESİTKEN A (2007). Fatty acid composition of *Rosa* species seeds in Turkey. *Chemistry of Natural Compound*, 43, 605-606.
- ERTURK Y, ERCISLI S, MAGHRADZE D, ORHAN E, AGAR G (2009). An assessment of genetic variability and relationships among wild-grown blackthorn (*Prunus spinosa* L.) plants based on RAPD markers. *Genetics and Molecular Research*, 8(4), 1238-1244.
- ERTURK Y, ERCISLI S, TOSUN M (2012). Physico-chemical characteristics of wild plum fruits (*Prunus spinosa* L.). *International Journal of Plant Production*, 3(3), 89-92.
- ESPÍN J C, GARCÍA-CONES, MT TOMÁS-BARBERÁN FA (2007). Nutraceuticals: facts and fiction. *Phytochemistry*, 68(22), 2986-3008.
- ETKIN NL (2000). *Eating on the wild side: The pharmacologic, ecologic and social implications of using noncultigens*. University of Arizona Press.
- EURO+MED (2006). Euro+Med PlantBase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity. <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/>
- EUROPEAN COMMISSION (2011). Our life insurance, Our Natural Capital: An EU Biodiversity Strategy to 2020 European Commission, Brussels.
- FADIĆ K (2016). *Izolacija bioaktivnih komponenti iz cveta i lista trnine*. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu.
- FAN C (2001). Phylogenetic relationships within *Cornus* (Cornaceae) based on 26S rDNA sequences. *American Journal of Botany*, 88(6), 1131-1138.
- FANG N, YU S, PRIOR RL (2002). LC/MS/MS characterization of phenolic constituents in dried plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3579-3585.
- FENG CM, XIANG QYJ, FRANKS RG (2011). Phylogeny-based developmental analyses illuminate evolution of inflorescence architectures in dogwoods (*Cornus* sl, Cornaceae). *New Phytologist*, 191(3), 850-869.

- FERRAZZINI D, MONTELEONE I, BELLETTI P (2008). Small-scale genetic diversity in oneseed hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.). *European Journal of Forest Research*, 127(5), 407-414.
- FIGHN O (2002). Metabolomics-the link between genotypes and phenotypes. *Plant Molecular Biology*, 48(1-2), 155-171.
- FILIPOWICZ N, MADANECKI P, GOŁĘBIOWSKI M, STEPNOWSKI P, OCHOCKA JR (2009). HS-SPME/GC Analysis reveals the population variability of terpene contents in *Juniperus communis* needles. *Chemistry & Biodiversity*, 6(12), 2290-2301.
- FINESCHI S, LORETO F (2012). Leaf volatile isoprenoids: an important defensive armament in forest tree species. *Iforest-Biogeosciences and Forestry*, 5(1), 13.
- FINESCHI S, SALVINI D, TURCHINI D, PASTORELLI R, VENDRAMIN GG (2005). *Crataegus monogyna* Jacq. and *C. laevigata* (Poir.) DC. (Rosaceae, Maloideae) display low level of genetic diversity assessed by chloroplast markers. *Plant Systematics and Evolution*, 250(3), 187-196.
- FIRN RD (2003). Bioprospecting-why is it so unrewarding? *Biodiversity and Conservation*, 12(2), 207-216.
- FIRN RD, JONES CG (2003). Natural products-a simple model to explain chemical diversity. *Natural Product Reports*, 20(4), 382-391.
- FORINO M, TENORE GC, TARTAGLIONE L, NOVELLINO E, CIMINIELLO P (2015). (1S, 3R, 4S, 5R) 5-O-caffeoylquinic acid: Isolation, stereo-structure characterization and biological activity. *Food Chemistry*, 178, 306-310.
- FORMAN V, HALADOVÁ M, GRANČAI D (2015a). Quantification of some secondary metabolites in selected Cornaceae species. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*, 62(s9), 8-11.
- FORMAN V, HALADOVÁ M, GRANČAI D, FICKOVÁ M (2015b). Antiproliferative activities of water infusions from leaves of five *Cornus* L. species. *Molecules* 20 (12): 22546-22552.
- FOWLER D, CAPE JN, COYLE M, FLECHARD C, KUYLENSTIERNA J, HICKS K, DERWENT D, JOHNSON C, STEVENSON D (1999). The global exposure of forests to air pollutants. U: L.J. Sheppard [ur.] *Forest growth responses to the pollution climate of the 21st century*. Springer Netherlands, str. 5-32.
- FRATERNALE D, GIAMPERI L, BUCCHINI A, SESTILI P, PAOLILLO M, RICCI D (2009). *Prunus spinosa* fresh fruit juice: antioxidant activity in cell-free and cellular systems. *Natural Product Communications*, 4(12), 1665-1670.
- FRISCHKNECHT PM, BATTIG M, BAUMANN TW (1987). Effect of drought and wounding stress on indole alkaloid formation in *Catharanthus roseus*. *Phytochemistry*, 26, 707-710.
- FROELICHER T, HENNEBELLE T, MARTIN-NIZARD F, CLEENEWERCK P, HILBERT JL, TROTIN F, GREC S (2009). Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry*, 115, 897-903.

- FROMM M, BAYHA S, CARLE R, KAMMERER DR (2012a). Comparison of fatty acid profiles and contents of seed oils recovered from dessert and cider apples and further Rosaceous plants. *European Food Research and Technology*, 234(6), 1033-1041.
- FROMM M, BAYHA S, KAMMERER DR, CARLE R (2012b). Identification and quantitation of carotenoids and tocopherols in seed oils recovered from different Rosaceae species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(43), 10733-10742.
- FUKUMOTO LR, MAZZA G (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597-3604.
- GANZERA M, GUGGENBERGER M, STUPPNER H, ZIDORN C (2008). Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Matricaria chamomilla* cv. BONA. *Planta Medica*, 74(04), 453-457.
- GAO GY, FENG YX, QIN XQ (1995). Analysis of the chemical constituents of hawthorn fruits and their quality evaluation. *Yaoxue Xuebao*, 30, 138-143.
- GAO PY, LI L Z, PENG Y, LI F F, NIU C, HUANG XX, MING M, SONG SJ (2010). Monoterpene and lignan glycosides in the leaves of *Crataegus pinnatifida*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(5), 988-992.
- GARCIA-SALAS P, MORALES-SOTO A, SEGURA-CARRETERO A, FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
- GBIF, GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY (2012). <http://www.gbif.org/species/>
- GEE JM, DUPONT MS, RHODES MJC, JOHNSON IT (1998). Quercetinglucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(1), 19-25.
- GERSHENZON J (1984). Changes in the levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress. U: B.N. Timmermann, C. Steelink, F.A. Loewus [ur.] *Phytochemical adaptations to stress*. Springer USA, str. 273-320.
- GIADA MDLR (2013). Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. U: J.A. Morales-González [ur.] *Oxidative stress and chronic degenerative diseases-A role for antioxidants*. InTech, <https://www.intechopen.com/books/oxidative-stress-and-chronic-degenerative-diseases-a-role-for-antioxidants/food-phenolic-compounds-main-classes-sources-and-their-antioxidant-power>
- GLAUSER G, VEYRAT N, ROCHAT B, WOLFENDER JL, TURLINGS TC (2013). Ultra-high pressure liquid chromatography-mass spectrometry for plant metabolomics: A systematic comparison of high-resolution quadrupole-time-of-flight and single stage Orbitrap mass spectrometers. *Journal of Chromatography A*, 1292, 151-159.
- GODOY-HERNANDEZ G, LOYOLA-VARGAS VM (1991). Effect of fungal homogenate, enzyme inhibitors and osmotic stress on alkaloid content of *Catharanthus roseus* cell suspension cultures. *Plant Cell Reports* 10, 537-540.
- GOSTUŠKI R (1979). Lečenje lekovitim biljem. Narodna knjiga. Beograd.

- GRAEFE EU, DERENDORF H, VEIT M (1999). Pharmacokinetics and bioavailability of the flavonol quercetin in humans. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 37, 219-233.
- GRAEFE EU, WITTIG J, MUELLER S, RIETHLING AK, UEHLEKE B, DREWELow B, PFORTE H, JACOBASCH G, DERENDORF H, VEIT M (2001). Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 41(5), 492-499.
- GRASS S, ZIDORN C, BLATTNER FR, STUPPNER H. (2006). Comparative molecular and phytochemical investigation of *Leontodon autumnalis* (Asteraceae, Lactuceae) populations from Central Europe. *Phytochemistry*, 67(2), 122-131.
- GUERN J, RENAUDIN JP, BROWN SC (1987). The compartmentation of secondary metabolites in plant cell cultures. U: F. Constabel, I.K. Vasil. [ur.], *Cell culture in phytochemistry*. Academic Press, London, UK, str. 43-76.
- GUIMARÃES R, BARROS L, DUEÑAS M, CARVALHO AM, QUEIROZ MJR, SANTOS-BUELGA C, FERREIRA IC (2013). Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food Chemistry*, 141(4), 3721-3730.
- GUIMARÃES R, BARROS L, CALHELHA RC, CARVALHO AM, QUEIROZ MJR, FERREIRA IC (2014). Bioactivity of different enriched phenolic extracts of wild fruits from Northeastern Portugal: A comparative study. *Plant Foods for Human Nutrition*, 69(1), 37-42.
- GUITIAN J, GUITIAN P, SANCHEZ JM (1993). Reproductive biology of *Prunus* species (Rosaceae) in the Northwest Iberian Peninsula. *Plant Systematics and Evolution* 185,153-165.
- HADACEK, F. (2002). Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(4), 273-322.
- HAHLBROCK K, SCHEEL D (1989). Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 40(1), 347-369.
- HAKES AS, CRONIN JT (2011). Environmental heterogeneity and spatiotemporal variability in plant defense traits. *Oikos*, 120(3), 452-462.
- HALL GD, LANGENHEIM JH (1986). Temporal changes in the leaf monoterpenes of *Sequoia sempervirens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 14(1), 61-69.
- HALL GD, LANGENHEIM JH (1987). Geographic variation in leaf monoterpenes of *Sequoia sempervirens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 15(1), 31-43.
- HALLIWELL B (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, 52(8), 253-265.
- HARBORNE AJ (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall. London New York.
- HARBORNE JB (1993). Advances in chemical ecology. *Natural Product Reports*, 10(4), 327-348.
- HARBORNE JB, BAXTER H (1999). *The handbook of natural flavonoids*. Volume 1 and Volume 2. John Wiley and Sons.

- HARUTA M, MURATA M, KADOKURA H, HOMMA S (1999). Immunological and molecular comparison of polyphenol oxidase in Rosaceae fruit trees. *Phytochemistry*, 50(6), 1021-1025.
- HASSAN MA, HOGAN DL, BIRD SA, MAY CL, GOMI T, CAMPBELL D (2005). Spatial and temporal dynamics of wood in headwater streams of the Pacific Northwest. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 41(4), 899-919.
- HATANO T, OGAWA N, KIRA R, YASUHARA T, OKUDA T (1989). Tannins of cornaceous plants. I. Cornusins A, B and C, dimeric, monomeric and trimeric hydrolysable tannins from *Cornus officinalis*, and orientation of valoneoyl group in related tannins. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37(8), 2083-90.
- HAUKIOJA E (2005). Plant defenses and population fluctuations of forest defoliators: mechanism-based scenarios. *Annales Zoologici Fennici*, 42, 313-325.
- HEGNAUER R (1986). Phytochemistry and plant taxonomy-an essay on the chemotaxonomy of higher plants. *Phytochemistry*, 25(7), 1519-1535.
- HEINRICH M, BARNES J, GIBBONS S, WILLIAMSON EM (2012). *Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy*. Elsevier Health Sciences.
- HEINRICH M, PRIETO JM (2008). Diet and healthy ageing 2100: Will we globalise local knowledge systems? *Ageing Research Reviews*, 7(3), 249-74.
- HERMANN K (1976). Flavonols and flavones in food plants: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 11(5), 433-448.
- HERNÁNDEZ I, ALEGRE L, VAN BREUSEGEM F, MUNNÉ-BOSCH S (2009). How relevant are flavonoids as antioxidants in plants. *Trends in Plant Science*, 14(3), 125-132.
- HODISAN T, SOCACIU C, ROPAN I, NEAMTU G (1997). Carotenoid composition of *Rosa canina* fruits determined by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 16(3), 521-528.
- HOFFMANN T, FRIEDLHUBER R, STEINHAUSER C, SKOWRANEK K, SCHWAB W, FISCHER TC (2012). Histochemical screening, metabolite profiling and expression analysis reveal Rosaceae roots as the site of flavan-3-ol biosynthesis. *Plant Biology*, 14(1), 33-40.
- HOLLMAN PC, DE VRIES JH, VAN LEEUWEN SD, MENGELERS MJ, KATAN MB (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6), 1276-1282.
- HOLLMAN PC, VAN TRIJP JM, BUYSMAN MN, MENGELERS MJ, DE VRIES JH, KATAN MB (1997). Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS letters*, 418(1-2), 152-156.
- HOLLMAN PC, BUYSMAN MP, VAN GAMEREN Y, CNOSSEN E, DE VRIES J, KATAN M (1999). The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Research*, 31(6), 569-573.
- HOLLMAN PC, KATAN MB (1999). Health effects and bioavailability of dietary flavonols. *Free Radical Research* 31, S75-S80.

- HOLLMAN PCH (2001). Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9), 842-852.
- HORHAMMER L, ENDRES L, WAGNER H, RICHTHAMMER F (1957). Isolation and identification of a flavones dipentoside from the leaves of *Prunus spinosa*. *Archiv Der Pharmazie Und Berichte Der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft*, 290(7), 342-348.
- HOSNI K, CHRIF R, ZAHED N, ABID I, MEDFEI W, SEBEI H, BEN BRAHIM N (2010). Fatty acid and phenolic constituents of leaves, flowers and fruits of Tunisian dog rose (*Rosa canina* L.). *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, LXXXVII, 117-123.
- HOZOORI Z, PASHNA Z, YOUSFBEYK F, AMIN G (2012). Evaluation of antioxidant activities of methanolic extract of *Cornus sanguinea* subsp. *australis* fruits. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 7(5), 790.
- HUANG XX, LIU S, LOU LL, LIU QB, ZHOU CC, LI LZ, PENG Y, SONG SJ (2014). Phenylpropanoids from *Crataegus pinnatifida* and their chemotaxonomic importance. *Biochemical Systematics and Ecology*, 54, 208-212.
- HUTZLER P, FISCHBACH R, HELLER W, JUNGBLUT TP, REUBER S, SCHMITZ R, VEIT M, WEISSENBOCK G, SCHNITZLER JP (1998). Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Experimental Botany*, 49(323), 953-965.
- HVATTUM E (2002). Determination of phenolic compounds in rose hip (*Rosa canina*) using liquid chromatography coupled to electrospray ionisation tandem mass spectrometry and diode-array detection. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 16(7), 655-662.
- IDU M (2013). Science and technology in the 21 st century: Phytomedicine in focus. *Research Journal of Recent Sciences*, 2, 1 -7.
- IERI F, INNOCENTI M, POSSIERI L, GALLORI S, MULINACCI N (2015). Phenolic composition of “bud extracts” of *Ribes nigrum* L., *Rosa canina* L. and *Tilia tomentosa* M. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 115, 1-9.
- IGNAT I, VOLF I, POPA VI (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- INOUE K (2011). Emerging roles of the chloroplast outer envelope membrane. *Trends in Plant Science*, 16(10), 550-557.
- ISAAK CK, PETKAU JC, OMINSKI K, RODRIGUEZ-LECOMPTE JC, SIOW YL (2013). Seasonal variations in phenolic compounds and antioxidant capacity of *Cornus stolonifera* plant material: Applications in agriculture. *Canadian Journal of Plant Science*, 93(4), 725-734.
- ISLAMOVIĆ A, MLACO M, BERBIĆ N, BEGIĆ-AKAGIĆ A, ORUCEVIĆ S, BULBULUŠIĆ A, EKEBERG D, DRKENDA P (2014). Seasonal variation of the physical and chemical parameters of wild genotypes of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.). *Journal of International Scientific Publications: Agriculture and Food*, 2, 466-471.
- IZHAKI I (1998). Essential amino acid composition of fleshy fruits versus maintenance requirements of passerine birds. *Journal of Chemical Ecology*, 24, 1333-1345.

- JAAKOLA L, HOHTOLA A (2010). Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, Cell & Environment*, 33(8), 1239-1247.
- JAAKOLA L, MÄÄTTÄ-RIIHINEN K, KÄRENLAMPI S, HOHTOLA A (2004). Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves. *Planta*, 218(5), 721-728.
- JABŁOŃSKA-RYŚ E, ZALEWSKA-KORONA M, KALBARCZYK J (2009). Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 17(2), 115-120.
- JACIMOVIĆ V, BOŽOVIĆ Đ (2014). Biological traits of cornelian cherry genotypes (*Cornus mas* L.) from territory of Montenegro. *Genetika*, 46(2), 427-436.
- JACOBO-VELÁZQUEZ DA, CISNEROS-ZEVALLOS L (2012). An alternative use of horticultural crops: stressed plants as biofactories of bioactive phenolic compounds. *Agriculture*, 2(3), 259-271.
- JAISWAL R, KARAKÖSE H, RÜHMANN S, GOLDNER K, NEUMÜLLER M, TREUTTER D, KUHNERT N (2013). Identification of phenolic compounds in plum fruits (*Prunus salicina* L. and *Prunus domestica* L.) by high-performance liquid chromatography/ tandem mass spectrometry and characterization of varieties by quantitative phenolic fingerprints. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(49), 12020-12031.
- JAITZ L, SIEGL K, EDER R, RAK G, ABRANKO L, KOELLENSPERGER G, HANN S (2010). LC-MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage. *Food Chemistry*, 122(1), 366-372.
- JAKOBEK L, ŠERUGA M, ŠERUGA B, NOVAK I, MEDVIDOVIĆ-KOSANOVIĆ M (2009). Phenolic compound composition and antioxidant activity of fruits of *Rubus* and *Prunus* species from Croatia. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(4), 860-868.
- JANG GH, KIM HW, LEE MK, JEONG SY, BAK AR, LEE, DJ, KIM JB (2016). Characterization and quantification of flavonoid glycosides in the *Prunus* genus by UPLC-DAD-QTOF/MS. *Saudi Journal of Biological Sciences (in press, corrected Proof)*.
- JAYAPRAKASAM B, OLSON LK, SCHUTZKI RE, TAI MH, NAIR MG (2006). Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(1), 243-248.
- JENSEN SR, KJAER A, NIELSEN BJ (1975). The genus *Cornus*: non-flavonoid glucosides as taxonomic markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 3(2), 75-78.
- JOSIFOVIĆ M [ur.] (1970-1986). *Flora SR Srbije (I-X)*. Srpska Akademija Nauka i Umetnosti, Beograd.
- JOVANOVIĆ B (1972). *Crataegus monogyna*. L. U: M. Josifović [ur.] *Flora SR Srbije* Vol. 4. pp. 171-172. Srpska akademija nuka i umetnosti, Beograd.
- JOVANOVIĆ B (1972). *Prunus spinosa* L. U: M. Josifović [ur.] *Flora SR Srbije* Vol. pp. 191-192. Srpska akademija nuka i umetnosti, Beograd.

- JOVANOVIĆ B (1976). Rod *Cornus* L. U: M. Josifović [ur.] *Flora SR Srbije* Vol. 5. Srpska akademija nuka i umetnosti, Beograd.
- JOVANOVIĆ B (1976). *Cornus mas* L. U: M. Josifović [ur.] *Flora SR Srbije* Vol. 5. pp. 176-177. Srpska akademija nuka i umetnosti, Beograd.
- JOVANOVIĆ B (1976). *Cornus sanguinea* L. U: M. Josifović [ur.] *Flora SR Srbije* Vol. 5. pp. 177-178. Srpska akademija nuka i umetnosti, Beograd.
- JÜRGENS AH, SEITZ B, KOWARIK I (2007). Genetic differentiation of *Rosa canina* (L.) at regional and continental scales. *Plant Systematics and Evolution*, 269(1-2), 39-53.
- JURIKOVA T, SOCHOR J, ROP O, MLCEK J, BALLA S, SZEKERES L, ADAM V, KIZEK R (2012). Polyphenolic profile and biological activity of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* BUNGE) fruits. *Molecules*, 17(12), 14490-14509.
- JUSTESEN U, KNUTHSEN P, LETH T (1998). Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by highperformance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 799(1), 101-110.
- KAGAWA H, TAKAHASHI T, OHTA S, HARIGAYA Y (2004). Oxidation and rearrangements of flavanones by mammalian cytochrome P450. *Xenobiotica*, 34, 797-810.
- KANCHEVA VD (2009). Phenolic antioxidants - radical-scavenging and chain-breaking activity: A comparative study. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 1072-1089.
- KAPASAKALIDIS PG, RASTALL RA, GORDON MH (2006). Extraction of polyphenols from processed black currant (*Ribes nigrum* L.) residues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4016-4021.
- KAROLEWSKI P, ZADWORNÝ M, MUCHA J, NAPIERALA-FILIPIAKI A, OLEKSYN J (2010). Link between defoliation and light treatments on root vitality of five understory shrubs with different resistance to insect herbivory. *Tree Physiology*, 30, 969-978.
- KAUFMAN PB, CSEKE LJ, WARBER S, DUKE JA, BRIELMANN HL (1999). *Natural Products from Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- KAUNDUN SS, LEBRETON P, FADY B (1998). Geographical variability of *Pinus halepensis* Mill. as revealed by foliar flavonoids. *Biochemical Systematics and Ecology*, 26(1), 83-96.
- KAUNDUN SS, LEBRETON P (2010). Taxonomy and systematics of the genus *Pinus* based on morphological, biogeographical and biochemical characters. *Plant Systematics and Evolution*, 284(1-2), 1-15.
- KAYANO SI, KIKUZAKI H, FUKUTSUKA N, MITANI T, NAKATANI N (2002). Antioxidant activity of prune (*Prunus domestica* L.) constituents and a new synergist. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3708-3712.
- KEFELI VI, KALEVITCH MV (2002). *Natural growth inhibitors and phytohormones in plant and environment*. Kluwer Acad Publ, str. 1-310.

- KEFELI VI, KALEVITCH MV, BORSARI B (2003). Phenolic cycle in plants and environment. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 2(1), 13-18.
- KESSELMEIER J, STAUDT M (1999). Biogenic volatile organic compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 33(1), 23-88.
- KESSLER, A., BALDWIN, I.T. (2001). Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science*, 291(5511), 2141-2144.
- KILIÇGÜN H, ALTINER D (2010). Correlation between antioxidant effect mechanisms and polyphenol content of *Rosa canina*. *Pharmacognosy Magazine*, 6(23), 238.
- KIM DO, CHUM OK, KIM YJ, MOON HY, LEE CY (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 6509-6515.
- KIMURA Y, ITO H, KAWAJI M, IKAMI T, HATANO T (2008). Characterization and antioxidative properties of oligomeric proanthocyanidin from prunes, dried fruit of *Prunus domestica* L. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 72(6), 1615-1618.
- KIRAKOSYAN A, KAUFMAN P, WARBER S, ZICK S, AARONSON K, BOLLING S, CHUL CHANG S (2004). Applied environmental stresses to enhance the levels of polyphenolics in leaves of hawthorn plants. *Physiologia Plantarum*, 121(2), 182-186.
- KISELOVA Y, MARINOVA S, IVANOVA D, GEROVA D, GALUNSKA B, CHERVENKOV T, YANKOVA T (2005). Antioxidative potential of edible wild bulgarian fruits. *Proceedings of the Balkan scientific conference of biology in Plovdiv, Bulgaria*. str. 233-239.
- KISELOVA Y, IVANOVA D, CHERVENKOV T, GEROVA D, GALUNSKA B, YANKOVA T (2006). Correlation between the in vitro antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Bulgarian herbs. *Phytotherapy Research*, 20(11), 961-965.
- KITAMURA S (2006). Transport of flavonoids. U: E. Grotewold [ur.], *The Science of Flavonoids*. Springer, New York. str. 123-146.
- KLEPZIG KD, KRUGER EL, SMALLEY EB, RAFFA KF (1995). Effects of biotic and abiotic stress on induced accumulation of terpenes and phenolics in red pines inoculated with bark beetle-vectored fungus. *Journal of Chemical Ecology*, 21(5), 601-626.
- KLINKHAMER PGL, DE JONG TJ, LINNEBANK LA (2001). Small-scale spatial patterns determine ecological relationships: an experimental example using nectar production rates. *Ecology Letters*, 4, 559-567.
- KOJIĆ M, KARADŽIĆ B, POPOVIĆ R (1997). *Vaskularne biljke Srbije kao indikatori staništa*. Institut za istraživanja u poljoprivredi „Srbija” i Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Beograd.
- KOLIĆ B (1988). *Šumska ekoklimatologija*. Naučna knjiga, Beograd.
- KOŁODZIEJ H, SAKAR MK, BURGER JFW, ENGELSHOWE R, FERREIRA D, FERREIRA A (1991). Type proanthocyanidins from *Prunus spinosa*. *Phytochemistry*, 30, 2041-2047.

- KOOBASZ P, KERMANI MJ, HOSSEINI ZS, KHATAMSAZ M (2009). Inter- and intraspecific morphological variation of four Iranian rose species. *Roses. Floriculture and Ornamental Biotechnology*, 3, 40-45.
- KOPONEN JM, HAPPONEN AM, MATTILA PH, TÖRRÖNEN AR (2007). Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1612-1619.
- KÖRNER C (2003). *Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems*. Springer Science & Business Media.
- KOSAKOWSKA OK, BĄCZEK K, PRZYBYŁ JL, EJDYS M, KUŹMA P, OBIEDZIŃSKI M, WĘGLARZ Z (2015). Intraspecific variability in the content of phenolic compounds, essential oil and mucilage of small-leaved lime (*Tilia cordata* Mill.) from Poland. *Industrial Crops and Products*, 78, 58-65.
- KOSTIĆ DA, VELIČKOVIĆ JM, MITIĆ SS, MITIĆ MN, RANĐELOVIĆ SS (2012). Phenolic content, and antioxidant and antimicrobial activities of *Crataegus oxyacantha* L (Rosaceae) fruit extract from Southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 11(1), 117-124.
- KOYUNCU T, PINAR Y, LULE F (2007). Convective drying characteristics of azarole red (*Crataegus monogyna* Jacq.) and yellow (*Crataegus aronia* Bosc.) fruits. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1471-1475.
- KRAUS TE, DAHLGREN RA, ZASOSKI RJ (2003). Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems—a review. *Plant and Soil*, 256(1), 41-66.
- KRIVORUCHKO E (2014). Carboxylic acids from *Cornus mas*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50(1), 112-113.
- KROYMANN J (2011). Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3), 246-251.
- KRUGER NJ, RATCLIFFE RG (2012). Pathways and fluxes: exploring the plant metabolic network. *Journal of Experimental Botany*, 63(6), 2243-2246.
- KRÜSI BO, DEBUSSCHE M (1988). The fate of flowers and fruits of *Cornus sanguinea* L. in three contrasting Mediterranean habitats. *Oecologia*, 74(4), 592-599.
- KRYLOV SN, DUNFORD HB (1996). Detailed mechanism of phenol-inhibited peroxidase-catalyzed oxidation of indole-3-acetic acid at neutral pH. *Photochemistry and Photobiology*, 63(6), 735-741.
- KUITERS AT (1990). Role of phenolic substances from decomposing forest litter in plant-soil interactions. *Acta Botanica Neerlandica*, 39(4), 329-348.
- KUMAR S, PANDEY AK (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, article 162750.
- KUMARASAMY Y, COX PJ, JASPARS M, RASHID MA, SARKER SD (2003). Bioactive flavonoid glycosides from the seeds of *Rosa canina*. *Pharmaceutical Biology*, 41(4), 237-242.

- LAKUŠIĆ D, BLAŽENČIĆ J, RANĐELOVIĆ V, BUTORAC B, VUKOJIČIĆ S, ZLATKOVIĆ B, JOVANOVIĆ S, ŠINŽAR-SEKULIĆ J, ŽUKOVEC D, ČALIĆ I, PAVIĆEVIĆ D (2005). Staništa Srbije - priručnik sa opisima i osnovnim podacima. U: D. Lakušić D. [ur.] *Staništa Srbije - rezultati projekta Harmonizacija nacionalne nomenklature u klasifikaciji staništa sa standardima međunarodne zajednice*. Institut za Botaniku i Botanička Bašta "Jevremovac". Beograd.
- LANG DC (1987). *The complete book of British Berries*. Threshold Books Ltd, London.
- LANGENHEIM JH (1994). Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*, 20(6), 1223-1280.
- LANKADURAI BP, NAGATO EG, SIMPSON MJ (2013). Environmental metabolomics: an emerging approach to study organism responses to environmental stressors. *Environmental Reviews*, 21(3), 180-205.
- LAOTHAWORNKITKUL J, TAYLOR JE, PAUL ND, HEWITT CN (2009). Biogenic volatile organic compounds in the Earth system. *New Phytologist*, 183(1), 27-51.
- LAPORNIK B, PROŠEK M, WONDRA AG (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71, 214-222.
- LATTANZIO V (2013). Phenolic compounds: introduction. U: K.G. Ramawat, J.M. Mérillon [ur.] *Natural Products*. Springer Berlin Heidelberg, 1543-1580.
- LEE DY, JUNG L, LYU HN, JEONG TS, LEE YH, BAEK NI (2009). Triterpenoids from the fruits of *Cornus kousa* Burg. as human Acyl-CoA. *Food Science and Biotechnology*, 18(1), 223-7.
- LERDAU M, GRAY D (2003). Ecology and evolution of light-dependent and light-independent phyto-genic volatile organic carbon. *New Phytologist*, 157(2), 199-211.
- LEUNG AY, FOSTER S (1996). *Encyclopedia of Common Natural Ingredients: Used in Food, Drugs, and Cosmetics*. John Wiley, New York.
- LEVIN DA (1971). Plant phenolics: an ecological perspective. *The American Naturalist*, 105(942), 157-181.
- LI JR, LIU J, HE DH, XU HX, DING LS, BAO WK, ZHOU ZQ, ZHOU Y (2013). Three new phenolic compounds from the leaves of *Rosa sericea*. *Fitoterapia*, 84, 332-337.
- LI Y, ZHANG J, XU DP, ZHOU T, ZHOU Y, LI S, LI HB (2016). Bioactivities and health benefits of wild fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8), 1258.
- LINDROTH RL, DEARING MD (2005). Herbivory in a world of elevated CO₂. U: R. Ehleringer, T.E. Cerling, M.D. Dearing [ur.] *A History of Atmospheric CO₂ and its Effects on Plants, Animals, and Ecosystems*. Springer Science, Inc, New York, 468-486.
- LINDROTH RL (2010). Impacts of elevated atmospheric CO₂ and O₃ on forests: phytochemistry, trophic interactions, and ecosystem dynamics. *Journal of Chemical Ecology*, 36(1), 2-21.
- LIU P, YANG B, KALLIO H (2010). Characterization of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major*) fruit by high performance liquid

- chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, 121(4), 1188-1197.
- LIU P, KALLIO H, LÜ D, ZHOU C, YANG B (2011). Quantitative analysis of phenolic compounds in Chinese hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionisation mass spectrometry. *Food Chemistry*, 127(3), 1370-1377.
- LIU P, KALLIO H, YANG B (2011). Phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus grayana*) fruits and leaves and changes during fruit ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(20), 11141-11149.
- LIU RH (2013). Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 4(3), 384-392.
- LOBO V, PATIL A, PHATAK A, CHANDRA N (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews* 4(8), 118-126.
- LOMBARDERO MJ, AYRES MP, LORIO JR PL, RUEL JJ (2000). Environmental effects on constitutive and inducible resin defences of *Pinus taeda*. *Ecology Letters*, 3(4), 329-339.
- LORETO F, SCHNITZLER JP (2010). Abiotic stresses and induced BVOCs. *Trends in Plant Science*, 15(3), 154-166.
- LÜ, J.M., LIN, P.H., YAO, Q., CHEN, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), 840-860.
- LUCAS EA, HAMMOND LJ, MOCANU V, ARQUITT AB, TROLINGER A, KHALIL DA, SMITH BJ, SOUNG DY, DAGGY BP, ARJMANDI BH (2004). Daily consumption of dried plum by postmenopausal women does not cause undesirable changes in bowel function. *The Journal of Applied Research*, 4(1), 37-43.
- MA X, LAAKSONEN O, ZHENG J, YANG W, TRÉPANIER M, KALLIO H, YANG B (2016). Flavonol glycosides in berries of two major subspecies of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) and influence of growth sites. *Food Chemistry*, 200, 89-198.
- MÄÄTTÄ-RIIHINEN KR, KAMAL-ELDIN A, MATTILA PH, GONZÁLEZ-PARAMÁS AM, TÖRRÖNEN AR (2004). Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4477-4486.
- MACHEIX JJ, FLEURIET A, BILLOT J (1990). *Fruit phenolics*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- MALLIK AU (2003). Conifer regeneration problems in boreal and temperate forest with ericaceous understory: role of disturbance, seedbed limitation, and keystone change. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(3-4), 341-366.
- MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, RÉMÉSY C, JIMÉNEZ L (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- MARINOVA D, RIBAROVA F, ATANASSOVA M (2005). Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3), 255-260.

- MARTINO E, COLLINA S, ROSSI D, BAZZONI D, GAGGERI R, BRACCO F, AZZOLINA O (2008). Influence of the extraction mode on the yield of hyperoside, vitexin and itexin-2''-O-rhamnoside from *Crataegus monogyna* Jacq. (hawthorn). *Phytochemical Analysis*, 19(6), 534-540.
- MATIĆ R, STAMENKOVIĆ S, POPOVIĆ Z, STEFANOVIĆ M, VIDAKOVIĆ V, SMILJANIĆ M, BOJOVIĆ S (2015). Tree responses, tolerance and acclimation to stress: Does current research depend on the cultivation status of studied species? *Scientometrics*, 105(2), 1209-1222.
- MCCHESENEY JD (1996). Biological diversity, chemical diversity, and the search for new pharmaceuticals. U: M.J. Balick, E. Elisabetski, S.A. Laird [ur.] *Medicinal resources of the tropical forest: Biodiversity and its importance to human healths*. Columbia University Press, New York, str. 11-18.
- MEDAIL F, QUEZEL P (1999). Biodiversity hotspots in the Mediterranean Basin: setting global conservation priorities. *Conservation biology*, 13(6), 1510-1513.
- MESSIER J, MCGILL BJ, LECHOWICZ MJ (2010). How do traits vary across ecological scales? A case for trait-based ecology. *Ecology Letters*, 13, 838-848.
- METCALF RL (1987). Plant volatiles as insect attractants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 5(3), 251-301.
- MICHALAK A (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4), 523-530.
- MIERZIAK J, KOSTYN K, KULMA A (2014). Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*, 19(10), 16240-16265.
- MIKULIČ-PETKOVŠEK M, SLATNAR A, STAMPAR F, VEBERIČ R (2012). HPLC-MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 and cultivated berry species. *Food Chemistry*, 135(4), 2138-2146.
- MIKULIČ-PETKOVŠEK M, STAMPAR F, VEBERIČ R, SIRCELJ H (2016). Wild *Prunus* Fruit Species as a Rich Source of Bioactive Compounds. *Journal of Food Science*, 81(8), 1928-1937.
- MILENKOVIĆ-ANĐELKOVIĆ AS, ANĐELKOVIĆ MZ, RADOVANOVIĆ AN, RADOVANOVIĆ BC, NIKOLIĆ V (2015). Phenol composition, DPPH radical scavenging and antimicrobial activity of Cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit and leaf extracts. *Hemijska industrija*, 69(4), 331-337.
- MIŠIĆ V, JOVANOVIĆ B (1983). Mešovita smrča bukve, jele i smrče (*Piceeto-Abieti-Fagetum moesiacum* s.l.) u Srbiji i njen značaj. *Zaštita prirode*, 36, 33-47.
- MIŠIĆ V, POPOVIĆ M, DINIĆ A (1985): Šume jele i smrče (*Abieto - Piceetum serbicum typicum*) na Kopaoniku i Zlataru u Srbiji. *Glasnik Prirodnjačkog Muzeja B40*: 67-73.
- MIŠIĆ V, DINIĆ A (2006). Šume smrče. U: M.D. Škorić, O. Vasić [ur.] *Vegetacija Srbije 2* (2): 171-193. - SANU, Beograd.
- MOELLERING ER, MUTHAN B, BENNING C (2010). Freezing tolerance in plants requires lipid remodeling at the outer chloroplast membrane, *Science*, 330(6001), 226-228.

- MOHANTY A, MARTÍN JP, AGUINAGALDE I (2002). Population genetic analysis of European *Prunus spinosa* (Rosaceae) using chloroplast DNA markers. *American Journal of Botany*, 89(8), 1223-1228.
- MOLE S, ROSS JA, WATERMAN PG (1988). Light-induced variation in phenolic levels in foliage of rain-forest plants. *Journal of Chemical Ecology*, 14(1), 1-21.
- MONTAZERI N, BAHER E, MIRZAJANI F, BARAMI Z, YOUSEFIAN S (2011). Phyto-chemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(18), 4584-4589.
- MONTIES B (1989). Lignins. U: P.M. Dey, J.B. Harborne [ur.], *Methods in plant biochemistry*. Acad. Press, London, UK. str. 113-157.
- MOSKOWITZ AH, HRADZINA G (1981). Flavonoids as subepidermal cells from *Vitis* sp. *Plant Physiology*, 68, 686-92.
- MRATINIĆ E, KOJIĆ M (1998). *Samonikle vrste voćaka Srbije*. Institut za istraživanja u poljoprivredi Srbija, Beograd.
- MUDGE E, APPLEQUIST WL, FINLEY J, LISTER P, TOWNESMITH AK, WALKER KM, BROWN PN (2016). Variation of select flavonols and chlorogenic acid content of elderberry collected throughout the Eastern United States. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, 52-59.
- MUHITCH MJ, FLETCHER JS (1984). Isolation of the phenols of Paul's Scarlet rose stems and stem derived suspension cultures. *Plant Physiology*, 75, 592-595.
- NAĐPAL JD, LESJAK MM, ŠIBUL FS, ANAČKOV GT, ČETOJEVIĆ-SIMIN DD, MIMICA-DUKIĆ NM, BEARA IN (2016). Comparative study of biological activities and phytochemical composition of two rose hips and their preserves: *Rosa canina* L. and *Rosa arvensis* Huds. *Food Chemistry*, 192, 907-914.
- NAEEM S (1998). Species redundancy and ecosystem reliability. *Conservation Biology*, 12(1), 39-45.
- NAKAMURA S, FUJIMOTO K, MATSUMOTO T, OHTA T, OGAWA K, TAMURA H, MATSUDA H, YOSHIKAWA M (2013). Structures of acylated sucroses and an acylated flavonol glycoside and inhibitory effects of constituents on aldose reductase from the flower buds of *Prunus mume*. *Journal of Natural Medicines*, 67(4), 799-806.
- NAKATANI N, KAYANO SI, KIKUZAKI H, SUMINO K, KATAGIRI K, MITANI T (2000). Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5512-5516.
- NEUGART S, KRUMBEIN A, ZRENNER R (2016). Influence of light and temperature on gene expression leading to accumulation of specific flavonol glycosides and hydroxycinnamic acid derivatives in kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*). *Frontiers in Plant Science*, 7, 326.

- NIKOLIĆ B, RATKNIĆ M, RAKONJAC LJ, BILIBAJKIĆ S (2004). Rasprostranjenje i selekcija šumskih voćnih vrsta u oblasti Vranja i Bujanovca. Zbornik radova - Collection, 50 -51, Institut za šumarstvo, Beograd, 93 -100.
- NIKOLIĆ B, RISTIĆ M, BOJOVIĆ S, MARIN PD (2007). Variability of the needle essential oils of *Pinus heldreichii* from different populations in Montenegro and Serbia. *Chemistry & Biodiversity*, 4(5), 905-916.
- NIKOLIĆ B, RISTIĆ M, BOJOVIĆ S, MARIN PD (2008). Variability of the needle essential oils of *Pinus peuce* from different populations in Montenegro and Serbia. *Chemistry & Biodiversity*, 5(7), 1377-1388.
- NIKOLIĆ B, TESEVIĆ V, DJORDJEVIĆ I, JADRANIN M, BOJOVIĆ S MARIN PD (2009). n-Alkanes in needle waxes of *Picea omorika* var. *vukomanii*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(5), 697-699.
- NIKOLIĆ B, RISTIĆ M, TEŠEVIĆ V, MARIN PD, BOJOVIĆ S (2011). Terpene chemodiversity of relict conifers *Picea omorika*, *Pinus heldreichii*, and *Pinus peuce*, endemic to Balkan. *Chemistry & Biodiversity*, 8(12), 2247-2260.
- NIKOLIĆ B, BOJOVIĆ S, BATOS B, MARIN PD (2012). The role and importance of some secondary metabolites (terpenes, alkanes and flavonoids) in trees. *International Scientific Conference* (str. 31).
- NIKOLIĆ B, TEŠEVIĆ V, ĐORĐEVIĆ I, TODOSIJEVIĆ M, JADRANIN M, BOJOVIĆ S, MARIN PD (2013a). Variability of n-Alkanes and nonacosan-10-ol in natural populations of *Picea omorika*. *Chemistry & Biodiversity*, 10(3), 473-483.
- NIKOLIĆ B, TEŠEVIĆ V, BOJOVIĆ S, MARIN PD (2013b). Chemotaxonomic implications of the n-Alkane composition and the nonacosan-10-ol content in *Picea omorika*, *Pinus heldreichii*, and *Pinus peuce*. *Chemistry & Biodiversity*, 10(4), 677-686.
- NIKOLIĆ B, RISTIĆ M, BOJOVIĆ S, MATEVSKI V, KRIVOŠEJ Z, MARIN PD (2014). Essential-Oil composition of the needles collected from natural populations of Macedonian pine (*Pinus peuce* Griseb.) from the Scardo-Pindic Mountain System. *Chemistry & Biodiversity*, 11(6), 934-948.
- NIKOLIĆ B, RISTIĆ M, BOJOVIĆ S, KRIVOŠEJ Z, MATEVSKIE V, MARIN PD (2015). Population variability of essential oils of *Pinus heldreichii* from the Scardo-Pindic Mountains Ošljak and Galičica. *Chemistry & Biodiversity*, 12(2), 295-308.
- NIKOLOV N, DELLAMONIC G, CHOPIN J (1981). Di-C-glycosylflavones from *Crataegus monogyna*. *Phytochemistry*, 20, 2780-2781.
- NIKOLOV N, SELIGMANN O, WAGNER H, HOROWITZ R, GENTILI B (1982). Neue flavonoid-glykoside aus *Crataegus monogyna* und *Crataegus pentagyna*. *Planta Medica*, 44, 50-53.
- NIKOLOVA MT, IVANCHEVA SV (2005). Quantitative flavonoid variations of *Artemisia vulgaris* L. and *Veronica chamaedrys* L. in relation to altitude and polluted environment. *Acta Biologica Szegediensis*, 49, 29-32.
- NOVAKOVIĆ M (2014). *Izolovanje i identifikacija diarilheptanoida iz biljnih vrsta crna jova (Alnus glutinosa (L.) Gaertn.) i zelena jova (Alnus viridis (Chaix) DC. subsp. viridis) i*

- njihova biološka aktivnost*. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet.
- NOWAK R (2005). Fatty acids composition in fruits of wild rose species. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 74(3), 229-235.
- NOWAK R, GAWLIK-DZIKIB U (2007). Polyphenols of *Rosa* L. leaves extracts and their radical scavenging activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 62(1-2), 32-38.
- NOWAK R, TUZIMSKI T (2005). A solid-phase extraction-thin-layer chromatographic-fiber optical scanning densitometric method for determination of flavonol aglycones in extract of rose leaves. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 18, 437-442.
- NUUTILA AM, OKSMAN-CALDENTY KM (2003). Secondary metabolism in plant cell cultures. U: B. Thomas, B.G. Murray, D.J. Murphy [ur], *Encyclopedia of applied plant science*, Elsevier, United Kingdom, 1388-1395.
- OBRATOV D (1986). Vaskularna flora i biljnogeografske karakteristike Avale. Magistarski rad. PMF Univerziteta u Beogradu, Odsek za biološke nauke. Beograd.
- OBRATOV D (1992). *Flora i vegetacija planine Zlatar*. Doktorska disertacija. Biološki fakultet. Beograd.
- OKUDA T, YOSHIDA T, HATANO T, IWASAKI M, KUBO M, ORIME T, YOSHIZAKI M, NARUHASHI N (1992). Hydrolysable tannins as chemotaxonomic markers in the Rosaceae. *Phytochemistry*, 31(9), 3091-3096.
- OLESZEK W, STOCHMAL A, KAROLEWSKI P, SIMONET AM, MACIAS FA, TAVA A (2002). Flavonoids from *Pinus sylvestris* needles and their variation in trees of different origin grown for nearly a century at the same area. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(11), 1011-22.
- OLSZEWSKA M, GŁOWACKI R, WOLBIS M, BALD E (2001). Quantitative determination of flavonoids in the flowers and leaves of *Prunus spinosa* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 58(3) 199-203.
- OLSZEWSKA MO, WOLBIS MA (2001). Flavonoids from the flowers of *Prunus spinosa* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 58(5), 367-72.
- OLSZEWSKA MO, WOLBIS MA (2002). Further flavonoids from the flowers of *Prunus spinosa* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 59(2), pp.133-137.
- OPRICA L, BUCSA C, ZAMFIRACHE MM (2015). Ascorbic acid content of Rose hip fruit depending on altitude. *Iranian Journal of Public Health*, 44(1), 138-139.
- ORČIĆ D, FRANCIŠKOVIĆ M, BEKVALAC K, SVIRČEV E, BEARA I, LESJAK M, MIMICA-ĐUKIĆ N (2014). Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chemistry*, 143, 48-53.
- ORIANI CM, LOWER S, FRITZ RS, ROCHE BM (2003). The effects of plant genetic variation and soil nutrients on secondary chemistry and growth in a shrubby willow, *Salix sericea*: patterns and constraints on the evolution of resistance traits. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31, 233-247.

- OSZMIAŃSKI J, WOJDYLO A (2005). *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *European Food Research and Technology*, 221(6), 809-813.
- OTTO A, WILDE V (2001). Sesqui-, di-, and triterpenoids as chemosystematic markers in extant conifers - a review. *The Botanical Review*, 67(2), 141-238.
- OUERGHEMMI S, SEBEI H, SIRACUSA L, RUBERTO G, SAIJA A, CIMINO F, CRISTANI M (2016). Comparative study of phenolic composition and antioxidant activity of leaf extracts from three wild *Rosa* species grown in different Tunisia regions: *Rosa canina* L., *Rosa moschata* Herrm. and *Rosa sempervirens* L. *Industrial Crops and Products*, 94, 167-177.
- OZIMINA II (1979). Flavonoids of *Spartium junceum*. 1. Flavones and flavonols. *Chemistry of Natural Compounds*, 16(6), 763-764.
- ÖZTÜRK N, TUNÇEL M (2011). Assessment of phenolic acid content and in vitro antiradical characteristics of hawthorn. *Journal of Medicinal Food*, 14(6), 664-669.
- PASTOR J, POST WM (1986) Influence of climate, soil moisture, and succession on forest soil carbon and nutrient cycles. *Biogeochemistry*, 2, 3-27
- PAULOVICSOVÁ B, TURIANICA I, JÚRIKOVÁ T, BALOGHOVÁ M, MATUŠKOVIČ J (2009). Antioxidant properties of selected less common fruit species. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 42(1), 608-610.
- PAVIĆEVIĆ N, NIKODIJEVIĆ V, ANTONOVIĆ G, TANASIJEVIĆ D (1972). *The soils of Stari Vlah and Raška*. Institut za Proučavanje Zemljišta, Beograd.
- PAWLOWSKA AM, CAMANGI F, BRACA A (2010). Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (Cornaceae) fruits. *Food Chemistry*, 119(3), 1257-1261.
- PEÑUELAS J, ESTIARTE M (1998). Can elevated CO₂ affect secondary metabolism and ecosystem function? *Trends in Ecology & Evolution*, 13(1), 20-24.
- PEÑUELAS, J., LLUSIÀ, J. (2001). The complexity of factors driving volatile organic compound emissions by plants. *Biologia Plantarum*, 44(4), 481-487.
- PEREIRA DM, VALENTÃO P, PEREIRA JA, ANDRADE PA (2009). Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules*, 14(6), 2202-2211.
- PETERSON G, ALLEN CR, HOLLING CS (1998). Ecological resilience, biodiversity and scale. *Ecosystems*, 1(1), 6-18.
- PEZZUTO JM (2008). Resveratrol as an inhibitor of carcinogenesis. *Pharmaceutical Biology*, 46, 443.
- PICCOLELLA S, FIORENTINO A, PACIFICO S, D'ABROSCA B, UZZO P, MONACO P (2008). Antioxidant properties of sour cherries (*Prunus cerasus* L.): role of colorless phytochemicals from the methanolic extract of ripe fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 1928-1935.
- PICHERSKY E, GANG DR (2000). Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science*, 5(10), 439-445.
- PICHERSKY E, GERSHENZON J (2002). The formation and function of plant volatiles: perfumes for pollinator attraction and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), 237-243.

- PINACHO R, CAVERO RY, ASTIASARÁN I, ANSORENA D, CALVO MI (2015). Phenolic compounds of blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and influence of in vitro digestion on their antioxidant capacity. *Journal of Functional Foods*, 19, 49-62.
- PLANTA EUROPA (2008). A sustainable future for Europe, the European strategy for plant conservation 2008-2014. Plantlife International and the Council of Europe, Salisbury.
- POLLASTRI S, TATTINI M (2011). Flavonols: old compound for old roles. *Annals of Botany*, 108(7), 1225-1233.
- POPOVIĆ BM, ŠTAJNER D, KEVREŠAN S, BIJELIĆ S (2012). Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) - Comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. *Food chemistry*, 134(2), 734-741.
- POPOVIĆ Z, MATIĆ R, BOJOVIĆ S, STEFANOVIĆ M, VIDAKOVIĆ V (2016). Ethnobotany and herbal medicine in modern complementary and alternative medicine: An overview of publications in the field of I&C medicine 2001-2013. *Journal of Ethnopharmacology*, 181, 182-192.
- POPOVIĆ Z, BAJIĆ-LJUBIČIĆ J, MATIĆ R, BOJOVIĆ S (2017a). First evidence and quantification of quercetin derivatives in dogberries (*Cornus sanguinea* L.). *Turkish Journal of Biochemistry*, 42(4), 513-518.
- POPOVIĆ Z, MATIĆ R, BAJIĆ-LJUBIČIĆ J, TEŠEVIĆ, V, BOJOVIĆ S (2018). Geographic variability of selected phenolic compounds in fresh berries of two *Cornus* species. *Trees*, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s00468-017-1624-5>
- POTTER D, ERIKSSON T, EVANS RC, OH S, SMEDMARK JEE, MORGAN DR, KERR M, ROBERTSON KR, ARSENAULT M, DICKINSON TA, CAMPBELL CS (2007). Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant systematics and evolution*, 266, 5-43.
- PRADO FE, ROSA M, PRADO C, PODAZZA G, INTERDONATO R, GONZÁLEZ JA, HILAL M (2012). UV-B radiation, its effects and defense mechanisms in terrestrial plants. U: P. Ahmad, M.N.V. Prasad [ur.] *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in the Era of Climate Change*. New York: Springer-Verlag, 57-83.
- PREDESCU NC, PAPUC C, NICORESCU V, GAJAILA I, GORAN GV, PETCU CD, STEFAN G (2016). The Influence of solid-to-solvent ratio and extraction method on total phenolic content, flavonoid content and antioxidant properties of some ethanolic plant extracts. *Revista de Chimie*, 67(10), 1922-1927.
- PRICE SF, BREEN PJ, VALLADAO M, WATSON BT (1995). Cluster sun exposure and quercetin in Pinot noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(2), 187-94.
- PRIOR RL (2003). Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3), 570S-578S.
- PYRKOSZ-BIARDZKA K, KUCHARSKA AZ, SOKÓŁ-ŁĘTOWSKA A, STRUGAŁA P, GABRIELSKA J (2014). A comprehensive study on antioxidant properties of crude extracts from fruits of *Berberis vulgaris* L., *Cornus mas* L. and *Mahonia aquifolium* Nutt. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 64(2), 91-99.

- QUIDEAU S, DEFFIEUX D, DOUAT-CASASSUS C, POUYSÉGU L (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.
- QUIROGA AM, DEIS L, CAVAGNARO JB, BOTTINI R, SILVA, MF (2012). Water stress and abscisic acid exogenous supply produce differential enhancements in the concentration of selected phenolic compounds in Cabernet Sauvignon. *Journal of Berry Research*, 2, 33-44.
- RADOVANOVIĆ BC, ANĐELKOVIĆ SM, RADOVANOVIĆ AB, ANĐELKOVIĆ MZ (2013). Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts from wild berry fruits grown in southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5), 813-819.
- RAJČEVIĆ N, JANAČKOVIĆ P, BOJOVIĆ S, TEŠEVIĆ V, MARIN PD (2013). Variability of the needle essential oils of *Juniperus deltoides* RP Adams from different populations in Serbia and Croatia. *Chemistry & Biodiversity*, 10(1), 144-156.
- RAJČEVIĆ N, JANAČKOVIĆ PT, DODOŠ TZ, TEŠEVIĆ VV, BOJOVIĆ SR, MARIN, PD (2014a). Leaf n-Alkanes as characters differentiating coastal and continental *Juniperus deltoides* populations from the Balkan Peninsula. *Chemistry & Biodiversity*, 11(7), 1042-1052.
- RAJČEVIĆ N., JANAČKOVIĆ, P.T., DODOŠ T.Z., TEŠEVIĆ V.V., MARIN, P.D. (2014b). Biogeographic variation of foliar n-Alkanes of *Juniperus communis* var. *saxatilis* Pallas from the Balkans. *Chemistry & Biodiversity*, 11(12), 1923-1938.
- RAJČEVIĆ N., JANAČKOVIĆ, P.T., DODOŠ T.Z., TEŠEVIĆ V.V., MARIN, P.D. (2015). Essential-Oil variability of *Juniperus deltoides* RP Adams along the East Adriatic coast - how many chemotypes are there? *Chemistry & Biodiversity*, 12(1), 82-95.
- RALSTON L, SUBRAMANIAN S, MATSUNO M, YU O (2005). Partial reconstruction of flavonoid and isoflavonoid biosynthesis in yeast using soybean type I and type II chalcone isomerases. *Plant Physiology*, 137, 1375-1388.
- RANĐELOVIĆ M, AVRAMOVIĆ D, ĐORĐEVIĆ V, LILIĆ A (2005). Flora Leskovika. Proceedings of 8th Symposium of Flora of the Southeastern Serbia and Neighbouring Regions, Niš. str. 5-12.
- RASHID F, AHMED R, MAHMOOD A, AHMAD Z, BIBI N, KAZMI SU (2007). Flavonoid glycosides from *Prunus armeniaca* and the antibacterial activity of a crude extract *Archives of Pharmacal Research*, 30(8), 932-937.
- RATES SMK (2001). Plants as source of drugs. *Toxicol*, 39, 603-613.
- RAYNAL J, MOUTOUNET M, SOUQUET JM (1989). Intervention of phenolic compounds in plum technology. 1. Changes during drying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 1046-1050.
- RAZUNGLES A, OSZMIANSKI J, SAPIJ JC (1989). Determination of carotenoids in fruits of *Rosa* spp. (*Rosa canina* and *Rosa rugosa*) and of chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Journal of Food Science*, 54, 774-775.
- REHWALD A, MEIER B, STICHER O (1994). Qualitative and quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of flavonoids in *Crataegus* leaves and flowers. *Journal of Chromatography A*, 677(1), 25-33.

- REICHARDT PB, BRYANT JP, CLAUSEN TP, WIELAND GD (1984). Defense of winter-dormant Alaska paper birch against snowshoe hares. *Oecologia*, 65(1), 58-69.
- REICHARDT PB, BRYANT JP, MATTES BR, CLAUSEN TP, CHAPIN FS, MEYER M (1990). Winter chemical defense of Alaskan balsam poplar against snowshoe hares. *Journal of Chemical Ecology*, 16(6), 1941-1959.
- RICE-EVANS CA, MILLER NJ, BOLWELL PG, BRAMLEY PM, PRIDHAM JB (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22(4), 375-383.
- RICHARDSON AD, ASHTON PMS, BERLYN GP, MCGRODDY ME, CAMERON IR (2001). Within-crown foliar plasticity of western hemlock *Tsuga heterophylla*, in relation to stand age. *Annals of Botany*, 88, 1007-1015.
- RIEGER G, MÜLLER M, GUTTENBERGER H, BUCAR F (2008). Influence of altitudinal variation on the content of phenolic compounds in wild populations of *Calluna vulgaris*, *Sambucus nigra*, and *Vaccinium myrtillus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9080-9086.
- RIIHINEN K (2005). *Phenolic compounds in berries*. Doctoral dissertation, Faculty of Natural and Environmental Studies, University of Kuopio, Finland.
- RODRIGUES S, CALHELHA R C, BARREIRA JC, DUEÑAS M, CARVALHO AM, ABREU RM, SANTOS-BUELGAC C, FERREIRA IC (2012). *Crataegus monogyna* buds and fruits phenolic extracts: Growth inhibitory activity on human tumor cell lines and chemical characterization by HPLC-DAD-ESI/MS. *Food Research International*, 49(1), 516-523.
- ROHR GE, MEIER B, STICHER O (1999). Quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of procyanidins in *Crataegus* leaves and flowers. *Journal of Chromatography A*, 835(1), 59-65.
- ROMAN I, STĂNILĂ A, STĂNILĂ S (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 73.
- ROP O, MLCEK J, KRAMAROVA D, JURIKOVA T (2010). Selected cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) as a new food source for human nutrition, *African Journal of Biotechnology*, 9(8), 1205-1210.
- ROSENSTIEL TN, POTOSNAK MJ, GRIFFIN KL, FALL R, MONSON RK (2003). Increased CO₂ uncouples growth from isoprene emission in an agriforest ecosystem. *Nature*, 421(6920), 256-259.
- ROSU CM, MANZU C, OLTEANU Z, OPRICA L, OPREA A, CIORNEA E, ZAMFIRACHE MM (2011). Several fruit characteristics of *Rosa* sp. genotypes from the Northeastern region of Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2), 203.
- ROWE JW (2012). *Natural Products of Woody Plants: Chemicals Extraneous to the Lignocellulosic Cell Wall*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- ROZEMA J, VAN DE STAALIJ J, BJÖRN LO, CALDWELL M (1997). UV-B as an environmental factor in plant life: stress and regulation. *Trends in Ecology & Evolution*, 12(1), 22-28.

- RUDRAPAUL P, KYRIAKOPOULOS AM, DE UC, ZOUMPOURLIS V, DINDA B (2015). New flavonoids from the fruits of *Cornus mas*, Cornaceae. *Phytochemistry Letters*, 11, 292-295.
- RUIZ-RODRÍGUEZ MB, DE ANCOS B, SÁNCHEZ-MORENO C, FERNÁNDEZ-RUIZ V, DE CORTES SÁNCHEZ-MATA M, CÁMARA M, TARDÍO J (2014). Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants. *Fruits*, 69(1), 61-73.
- SAID SA, FERNANDEZ C, GREFF S, DERRIDJ A, GAUQUELIN T, MEVY JP (2011). Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206(4), 397-405.
- SAKAR MK, KOLODZIEJ H (1993). Flavonoid glycosides from the flowers of *Prunus spinosa*. *Fitoterapia*, 64, 180-181.
- SALMINEN JP, KARONEN M, LEMPA K, LIIMATAINEN J, SINKKONEN J, LUKKARINEN M, PIHLAJA K (2005). Characterisation of proanthocyanidin aglycones and glycosides from rose hips by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, and their rapid quantification together with vitamin C. *Journal of Chromatography A*, 1077(2), 170-180.
- SÁNCHEZ-RANGEL JC, BENABIDES J, JACABO-VELÁZQUEZ DA (2014). Abiotic stress based bioprocesses for the production of high value antioxidant phenolic compound in plants: an overview. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13, 49-61.
- SANDQUIST DR, EHLERINGER JR (1997). Intraspecific variation of leaf pubescence and drought response in *Encelia farinosa* associated with contrasting desert environments. *New Phytologist*, 135, 635-644.
- SANZ M, CADAHIA E, ESTERUELAS E, MUNAZ AM, SIMON BF, HERNANDEZ T, ESTRELLA I (2010). Phenolic compounds in cherry (*Prunus avium*) heartwood with a view to their use in cooperage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(8), 4907-4914.
- ŠARAC Z, BOJOVIĆ S, NIKOLIĆ B, TEŠEVIĆ V, ĐORĐEVIĆ I, MARIN PD (2013). Chemotaxonomic significance of the terpene composition in natural populations of *Pinus nigra* JF Arnold from Serbia. *Chemistry & Biodiversity*, 10(8), 1507-1520.
- SCALABRIN E, RADAELLI M, RIZZATO G, BOGANI P, BUIATTI M, GAMBARO A, CAPODAGLIO G (2015). Metabolomic analysis of wild and transgenic *Nicotiana langsdorffii* plants exposed to abiotic stresses: unraveling metabolic responses. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 407(21), 6357-6368.
- SCHLAG EM, MCINTOSH MS (2006). Ginsenoside content and variation among and within American ginseng (*Panax quinquefolius* L.) populations. *Phytochemistry*, 67(14), 1510-1519.
- SCHMITZER V, SLATNAR A, MIKULIČ-PETKOVŠEK M, VEBERIČ R, KRŠKA B, STAMPAR F (2011). Comparative study of primary and secondary metabolites in apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5), 860-866.
- SCHMUTZ A, BUCHALA A, JENNY T, RYSER U (1994). The phenols in the wax and in the suberin of green cotton fibres and their function. *Acta Horticulturae*, 381, 269-75.

- SCHNABL H, WEISSENBOCK G, SACHS G, SCHARF H (1989). Cellular distribution of UV-absorbing compounds in guard and subsidiary cells of *Zea mays* L. *Journal of Plant Physiology*, 135, 249-252.
- SCHNITZLER JP, JUNGBLUT TP, HELLER W, HUTZLER P, HEINZMANN U, SCHMELZER E, ERNST D, LANGEBARTELS C, SANDERMANN H (1996). Tissue localization of UV-B screening pigments and chalcone synthase mRNA in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles. *New Phytologist*, 132, 247-58.
- SCHÜSSLER M, HÖLZL J, FRICKE U (1995). Myocardial effects of flavonoids from *Crataegus* species. *Arzneimittelforschung*, 45, 842-845.
- SEERAM NP, SCHUTZKI R, CHANDRA A, NAIR MG (2002) Characterization, quantification, and bioactivities of anthocyanins in *Cornus* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2519-23.
- SEKI M, KAMEI A, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K (2003). Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. *Current Opinion in Biotechnology*, 14, 194-199.
- SERTESER A, KARGIOĞLU M, GÖK V, BAĞCI Y, ÖZCAN MM, ARSLAN D (2009). Antioxidant properties of some plants growing wild in Turkey. *Grasas Y Aceites*, 60(2), 147-154.
- SEVINDIK E (2016). Characterization of bioactive compounds in rosehip species from East Anatolia region of Turkey. *Italian Journal of Food Science*, 28(2), 314-325.
- SHAHIDI F, NACZK M, GRIFFITHS W (1996). Food phenolics: sources, chemistry, effects, applications. *Trends in Food Science and Technology*, 7(7), 243.
- SHAO-JIANG S, LING-ZHI L, PIN-YI G, PENG Y, JING-YU Y, CHUN-FU W (2011). Terpenoids and hexenes from the leaves of *Crataegus pinnatifida*. *Food Chemistry*, 129, 933-939.
- SHETTY R, FRETTE X, JENSEN B, SHETTY NP, JENSEN JD, JØRGENSEN HJ, NEWMAN MA, CHRISTENSEN LP (2011). Silicon induced changes in antifungal phenolic acids, flavonoids, and key phenylpropanoid pathway genes during the interaction between miniature roses and the biotrophic pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiology*, 157, 2194-2205.
- SHI H, NOGUCHI N, NIKI E (2001). Introducing natural antioxidants. U: J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon [ur.] *Antioxidants in food, Practical applications*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England. str. 22-70.
- SHULAEV V, KORBAN SS, SOSINSKI B, ABBOTT AG, ALDWINCKLE HS, FOLTA KM, IEZZONI A, MAIN D, ARÚS P, DANDEKAR AM, LEWERS K, BROWN SK, DAVIS TM, GARDINER SE, POTTER D, VEILLEUX RE (2008). Multiple models for Rosaceae genomics. *Plant Physiology*, 147(3), 985-1003.
- SIMA IA, SÂRBU C (2016). Evaluation of polyphenolic fingerprints and antioxidant profiles of wild fruits. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(6), 1433-1440.
- SIMIRGIOTIS MJ (2013). Antioxidant capacity and HPLC-DAD-MS profiling of Chilean peumo (*Cryptocarya alba*) fruits and comparison with German peumo (*Crataegus monogyna*) from southern Chile. *Molecules*, 18(2), 2061-2080.

- SINGH R (2016). Chemotaxonomy: A tool for plant classification. *Journal of Medicinal Plants*, 4(2), 90-93.
- SLIMESTAD R, VANGDAL E, BREDE C (2009). Analysis of phenolic compounds in six Norwegian plum varieties (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 11370–11375.
- SMITH MAL, MARLEY KA, SEIGLER D, SINGLETARY KW, MELINE B (2000). Bioactive properties of wild blueberry fruits. *Journal of Food Science*, 65(2), 352-356.
- SMITH PM (1976). *The Chemotaxonomy of plants*. Edward Arnold, London.
- SNOW B, SNOW D (1988). *Birds and berries*. Poyser, Calton.
- SOARE R, BONEA D, IANCU P, NICULESCU M (2015). Biochemical and technological properties of *Rosa canina* L. fruits from spontaneous flora of Oltenia, Romania. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca, Horticulture*, 72(1), 182-186.
- SOCHOR J, JURIKOVA T, ERCISLI S, MLCEK J, BARON M, BALLA S, YILMAZ SO, NECAS T (2014). Characterization of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes-genetic resources for food production in Czech Republic. *Genetika*, 46(3), 915-924.
- SOFIĆ E, ČOPRA-JANIĆIJEVIĆ A, SALIHOVIĆ M, TAHIROVIĆ I, KROYER G (2010). Screening of medicinal plant extracts for quercetin-3-rutinoside (rutin) in Bosnia and Herzegovina. *Medicinal Plants - International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, 2(2), 97-102.
- SOMERVILLE C, SOMERVILLE S (1999). Plant functional genomics. *Science*, 285(5426), 380-383.
- SON SY, KIM NK, LEE S, SINGH D, KIM GR, LEE JS, YANG HS, YEO J, LEE S, LEE CH (2016) Metabolite fingerprinting, pathway analyses, and bioactivity correlations for plant species belonging to the Cornaceae, Fabaceae, and Rosaceae families. *Plant Cell Reports*, 35(9), 1917-1931.
- SOUTO XC, CHIAPUSIO G, PELLISSIER F (2000). Relationships between phenolics and soil microorganisms in spruce forests: significance for natural regeneration. *Journal of Chemical Ecology*, 26(9), 2025-2034.
- SPITALER R, SCHLORHAUFER PD, ELLMERER EP, MERFORT I, BORTENSCHLAGER S, STUPPNER H, ZIDORN C (2006). Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana* cv. ARBO. *Phytochemistry*, 67(4), 409-417.
- SPITALER R, SCHLORHAUFER PD, ELLMERER EP, MERFORT I, BORTENSCHLAGER S, STUPPNER H, ZIDORN C (2006). Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana* cv. ARBO. *Phytochemistry*, 67(4), 409-417.
- STACEWICZ-SAPUNTZAKIS M, BOWEN PE, HUSSAIN EA, DAMAYANTI-WOOD BI, FARNSWORTH NR (2001). Chemical composition and potential health effects of prunes: A functional food? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(4), 251-286.
- STAFFORD HA (1990). *Flavonoid Metabolism*. CRC Press, Boca Raton.

- STAMP N (2003). Out of the quagmire of plant defense hypotheses. *The Quarterly Review of Biology*, 78(1), 23-55.
- STĂNILĂ A, DIACONEASA Z, ROMAN I, NICUȘOR SI, MĂNIUTIU D, ROMAN A, RODICA SI (2015). Extraction and characterization of phenolic compounds from Rose hip (*Rosa canina* L.) using liquid chromatography coupled with electrospray ionization-mass spectrometry. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(2), 349-354.
- STANKOVIĆ MS, TOPUZOVIĆ MD (2012). In vitro antioxidant activity of extracts from leaves and fruits of common dogwood (*Cornus sanguinea* L.). *Acta Botanica Gallica*, 159(1), 79-83.
- STRACK D (1997) Phenolic metabolism. U: P. Dey, J. Harbourne [ur.] *Plant Biochemistry*. San Diego, Academic Press, 387-416.
- STARMANS DA, NIJHUIS HH (1996). Extraction of secondary metabolites from plant material: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 7(6), 191-197.
- STEFANOVIĆ M, RISTIĆ M, POPOVIĆ Z, MATIĆ R, NIKOLIĆ B, VIDAKOVIĆ V, OBRATOV-PETKOVIĆ D, BOJOVIĆ S (2016). Chemical composition and interpopulation variability of essential oils of *Taxus baccata* L. from Serbia. *Chemistry & Biodiversity*, 13(7), 943-953.
- STEFANOVIĆ M, MITROVIĆ S, OBRATOV-PETKOVIĆ D, VIDAKOVIĆ V, POPOVIĆ Z, MATIĆ R, BOJOVIĆ S (2013). Repräsentativnost uzorka pri oceni varijabilnosti sadržaja terpena kod munike. *Glasnik Šumarskog fakulteta*, 107, 193-204.
- STEVANOVIĆ T, GARNEAU FX, JEAN FI, GAGNON H, VILOTIĆ D, PETROVIĆ S, RUŽIĆ N, PICHETTE A (2005). The essential oil composition of *Pinus mugo* Turra from Serbia. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(1), 96-97.
- STEVANOVIĆ V, JOVANOVIĆ S, LAKUŠIĆ D, NIKOLIĆ M (1995). Diverzitet vaskularne flore Jugoslavije sa pregledom vrsta od međunarodnog značaja. U: V. Stevanović, V. Vasić [ur.] *Biodiverzitet Jugoslavije sa pregledom vrsta od međunarodnog značaja*. Biološki fakultet i Ecolibri, Beograd, 183-217.
- STRACK D, HEILEMANN J, MÖMKEN M, WRAY V (1988). Cell wall-conjugated phenolics from coniferae leaves. *Phytochemistry*, 27(11), 3517-3521.
- SZENTMIHÁLYI K, VINKLER P, LAKATOS B, ILLÉS V, THEN M (2002). Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. *Bioresource Technology*, 82(2), 195-201.
- SZUMNY D, SOZAŃSKI T, KUCHARSKA AZ, DZIEWISZEK W, PIÓRECKI N, MAGDALAN J, CHLEBDA-SIERAGOWSKA E, KUPCZYŃSKI R, SZELAĞ A, SZUMNY A (2015). Application of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) iridoid-polyphenolic fraction and loganic acid to reduce intraocular pressure. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, article ID 939402.
- TADIĆ VM, DOBRIĆ S, MARKOVIĆ GM, ĐORĐEVIĆ SM, ARSIĆ IA, MENKOVIĆ NR, STEVIĆ T (2008). Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 7700-7709.

- TAIZ L, ZEIGER E (2006). *Plant Physiology* (5th ed.) Sinauer Associates, Inc, Sunderland, MA, USA.
- TAMAS M (1985). Study of flavones *Prunus spinosa* L. Flowers. *Farmacia*, 33, 181-186.
- TEŠEVIĆ VV, MILOSAVLJEVIĆ SM, VAJS VE, DJORDJEVIĆ IZ, SOKOVIĆ MD, LAVADINOVIĆ VS, NOVAKOVIĆ MM (2009). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* Mirb. Franco) from Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74(10), 1035-1040.
- THE PLANT LIST (2013). Version 1.1. <http://www.theplantlist.org>
- THEIS N, LERDAU M (2003). The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Sciences*, 164(3), 93-102.
- TILMAN D, KNOPS J, WEDIN D, REICH P, RITCHIE M, SIEMAN E (1997). The influence of functional diversity and composition on ecosystem processes. *Science*, 277(5330), 1300-1301.
- TOMAS-BARBERAN FA, GIL MI, CREMIN P, WATERHOUSE AL, HESS-PIERCE B, KADER AA (2001). HPLC-DAD-ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4748-4760.
- TOŠIĆ M (1986). *Climatic conditions of the Sjenica-Pešter plateau*. Naučna knjiga. Sjenica.
- TREUTTER D (2005). Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, 7(6), 581-91.
- TREUTTER D, WANG D, FARAG MA, BAIRES GD, RÜHMANN S, NEUMÜLLER M (2012). Diversity of phenolic profiles in the fruit skin of *Prunus domestica* plums and related species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 12011 –12019.
- TRUMBLE JT, MILLAR JG, OTT DE, CARSON WC (1992). Seasonal patterns and pesticidal effects on the phototoxic linear furanocoumarins in celery, *Apium graveolens* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1501-1506.
- TSAO R (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246.
- TUMBAS VT, ČANADANOVIĆ-BRUNET JM, ČETOJEVIĆ-SIMIN DD, ČETKOVIĆ GS, ĐILAS SM, GILLE L (2012). Effect of rosehip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6), 1273-1281.
- TURNER NC, SCHULZE ED, NICOLLE D, SCHUMACHER J, KUHLMANN I (2008). Annual rainfall does not directly determine the carbon isotope ratio of leaves of *Eucalyptus* species. *Physiologia Plantarum*, 132, 440-445.
- UGGLA M, GAO X, WERLEMARK G (2003). Variation among and within dogrose taxa (*Rosa* sect. *caninae*) in fruit weight, percentages of fruit flesh and dry matter, and vitamin C content. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Plant Soil Science*, 53(3), 147-155.

- UGGLA M, GUSTAVSSON KE, OLSSON ME, NYBOM H (2005). Changes in colour and sugar content in rose hips (*Rosa dumalis* L. and *Rosa rubiginosa* L.) during ripening. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80, 204-208.
- USENIK V, STAMPAR F, KASTELEC D (2013). Phytochemicals in fruits of two *Prunus domestica* L. plum cultivars during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(3), 681-692.
- VAN DORSTEN FA, GRÜN CH, VAN VELZEN EJJ, JACOBS DM, DRAIJER R, VAN DUYNHOVEN JPM (2010). The metabolic fate of red wine and grape juice polyphenols in humans assessed by metabolomics. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(7), 897-908.
- VAN MEULEBROEK L VANHAECKE L, DE SWAEF T, STEPPE K, DE BRABANDER H (2012). U-HPLC-MS/MS to quantify liposoluble antioxidants in red-ripe tomatoes, grown under different salt stress levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(2), 566-573.
- VAREED SK, REDDY MK, SCHUTYKI RE, NAIR MG(2006). Anthocyanins in *Cornus alternifolia*, *Cornus controversa*, *Cornus kousa* and *Cornus florida* fruits with health benefits. *Life Sciences*, 78(7): 777-784.
- VELIČKOVIĆ JM, KOSTIĆ DA, STOJANOVIĆ GS, MITIĆ SS, MITIĆ MN, RANĐELOVIĆ SS, ĐORĐEVIĆ AS (2014). Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activity of the extracts from *Prunus spinosa* L. fruit. *Hemijska industrija*, 68(3), 297-303.
- VENTER A, JOUBERT E, DE BEER D (2013). Characterisation of phenolic compounds in South African plum fruits (*Prunus salicina* Lindl.) using HPLC coupled with diode-array, fluorescence, mass spectrometry and on-line antioxidant detection. *Molecules*, 18(5), 5072-5090.
- VIALART G, HEHN A, OLRÉ A, ITO K, KRIEGER C, LARBAT R, PARIS C, SHIMIZU BI, SUGIMOTO Y, MIZUTANI M, BOURGAUD F (2012). A 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase from *Ruta graveolens* L. exhibits p-coumaroyl CoA 2'-hydroxylase activity (C2'H): a missing step in the synthesis of umbelliferone in plants. *Plant Journal*, 70, 460-470.
- VIDAKOVIĆ V, NOVAKOVIĆ M, POPOVIĆ Z, JANKOVIĆ M, MATIĆ R, TEŠEVIĆ V, BOJOVIĆ S (2018). Significance of diarylheptanoids for distinguishing between *Alnus glutinosa* and *Alnus incana*. *Holzforchung*, 72(1), 9-16.
- VILLARINO M, SANDÍN-ESPANA P, MELGAREJO P, DE CAL A (2011). High chlorogenic and neochlorogenic acid levels in immature peaches reduce *Monilinia laxa* infection by interfering with fungal melanin biosynthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3205-3213.
- VUKIĆEVIĆ E (1972). *Rosa canina*. L. U: M. Josifović [ur.] *Flora SR Srbije* Vol. 4. pp. 45-49. Srpska akademija nuka i umetnosti, Beograd.
- WARDLE DA, NILSSON MC, GALLET C, ZACKRISSON O (1998). An ecosystem-level perspective of allelopathy. *Biological Reviews*, 73(3), 305-319.
- WATERMAN PG (2005). Diversity in secondary metabolism in plants. U: R.J. Henry [ur.] *Plant Diversity and Evolution: Genotypic and Phenotypic Variation in Higher Plant*. (Henry, R.J., Ed.), CAB International, Wallingford, UK, 229-247.

- WEISSENBOCK G, HEDRICH R, SACHS H (1986). Secondary phenolic products in isolated guard cell, epidermal cell and mesophyll cell protoplasts—distribution and determination. *Plasma*, 134, 141-8.
- WEN L, GUO X, LIU RH, YOU L, ABBASI AM, FU X (2015). Phenolic contents and cellular antioxidant activity of Chinese hawthorn “*Crataegus pinnatifida*”. *Food Chemistry*, 186, 54-62.
- WHITING DA (2001). Natural phenolic compounds 1900-2000: a bird's eye view of a century's chemistry. *Natural Product Reports*, 18(6), 583-606.
- WILSON MF, WHELAN CJ (1990). The evolution of fruit color in fleshy-fruited plants. *The American Naturalist*, 136(6), 790-809.
- WINK M (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19.
- WINKEL-SHILEY B (2001). Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. *Plant Physiology*, 126, 485-493.
- WINKEL-SHILEY B (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 218-223.
- WOLLENWEBER E (1994). Flavones and flavonols. U: J.B. Harborne [ur.], *The Flavonoids: Advances in research since 1986*. Chapman and Hall, Cambridge, UK. str. 259-336.
- WRIGHT JS, JOHNSON ER, DiLABIO GA (2001). Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 123(6), 1173-1183.
- WU J, PENG W, QIN R, ZHOU H (2014). *Crataegus pinnatifida*: chemical constituents, pharmacology, and potential applications. *Molecules*, 19(2), 1685-1712.
- XIAO J, NI X, KAI G, CHEN X (2013). A review on structure-activity relationship of dietary polyphenols inhibiting-amylase. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 497-506.
- YANG BR, LIU PZ (2012). Composition and health effects of phenolic compounds in hawthorn (*Crataegus* spp.) of different origins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1578-1590.
- YANG Y, LIU C, LIU J, WANG Y, ZHANG Z (1999). Chemical studies on the polysaccharide in fructus corni. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 24(10), 614-616.
- YOSHIKAWA M, MURAKAMI T, ISHIWADA T, MORIKAWA T, KAGAWA M, HIGASHI Y, MATSUDA H (2002). New flavonol oligoglycosides and polyacylated sucroses with inhibitory effects on aldose reductase and platelet aggregation from the flowers of *Prunus mume*. *Journal of Natural Products*, 65(8), 1151-1155.
- YOUSFBEYK F, ESMAILI T, PASHNA Z, HOZORI Z, GHOHARI AR, OSTAD SN, AMIN G (2014). Antioxidant activity, total phenol and total anthocyanin contents of *Cornus sanguinea* L subsp. *australis*. (CA Mey.) Jáv. *Journal of Medicinal Plants*, 1(49), 69-74.

- ZDORENKO NA, SAMORODOVA-BIANKI GB, VITKOVSKIĬ VL, ROSTOVA NS, STREL'TSINA SA (1990). Use of multivariate analysis of the composition of phenolic compounds in the fruit to study the relationship of species and varieties in the genus *Prunus* Mill. *Khemosistematika i évolyuetsionnaya biokhimiya vysshikh rasteniĭ: Tezisy dokladov 4 Vsesoyuznogo soveshchaniya*, 39-41.
- ZDORENKO NG (1990a). Composition of flavonols and phenolic acids in the fruit of the species *Prunus cerasifera* Ehrh. and *Prunus spinosa* L. *Nauchno-Tekhnicheskĭĭ Byulleten' Vsesoyuznogo Ordena Lenina i Ordena Druzhby Narodov Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Rastenievodstva Imeni NI Vavilova*, (197), 69-71.
- ZDORENKO NG (1990b). Characterization of some phenolic compounds in the fruit of myrobalan plum, sloe and the plum Domart. *Nauchno-Tekhnicheskĭĭ Byulleten' Vsesoyuznogo Ordena Lenina i Ordena Druzhby Narodov Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Rastenievodstva imeni NI Vavilova*, (202), 23-26.
- ZHAO GY, HOU AW, GAO FT (1988). Study on the change of vitamin C content of rose fruit during its storage and processing. *Journal of North-East Forestry University*, 16, 102-105.
- ZIDORN C, SCHUBERT B, STUPPNER H (2005). Altitudinal differences in the contents of phenolics in flowering heads of three members of the tribe Lactuceae (Asteraceae) occurring as introduced species in New Zealand. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(9), 855-72.
- ZLATANOV MD (1999). Lipid composition of Bulgarian chokeberry, black currant and rose hip seed oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(12), 1620-1624.

8. PRILOZI

BIOGRAFIJA

Jasna Bajić-Ljubičić rođena je 29. marta 1985. godine u Beogradu, gde je završila osnovnu i srednju školu. Na Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, smer: zaštitna bilja i prehranbenih proizvoda upisala se školske 2004/2005 godine, a diplomirala 2009. godine sa prosečnom ocenom 9.11 . Doktorske studije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, u okviru studentskog programa Ekologija, upisala je školske 2010/2011 godine.

Od 2011. do 2014. godine učestvovala je u realizaciji projekta „Biodiverzitet biljnog sveta Srbije i Balkanskog poluostrva – procena, održivo korišćenje i zaštita“ (Program Osnovnih istraživanja MPNTR Ev. Broj 173030, rukovodilac prof. dr D Mitar Lakušić), a od 2014. do 2017. godine u realizaciji projekta „Procena ekofiziološkog i genetičkog diverziteta biljaka u šumskim ekosistemima (Program Osnovnih istraživanja MPNTR Ev. Broj 173011, rukovodilac dr Srđan Bojović). Tokom 2007. godine bila je stipendista Fonda za mlade talente. U periodu od 2011. do 2015. godine bila je stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Do sada je objavila 4 naučna rada u časopisima međunarodnog značaja.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Јасна И. Бајић-Љубичић

број индекса Е 3005/2010

Изјављујем

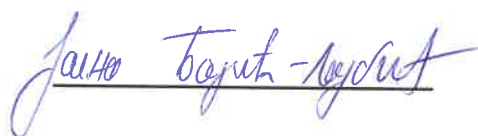
да је докторска дисертација под насловом

Варијабилност садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова пет шумских дрвенастих врста са различитих станишта у Србији

- 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 кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 05. IV 2018.



Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**

Име и презиме аутора Јасна И. Бајић Љубичић

Број индекса Е 3005/2010

Студијски програм Екологија

Наслов рада Варијабилност садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова
пет шумских дрвенастих врста са различитих станишта у Србији

Ментори др Зорица Поповић и др Рада Матић

Потписани/а _____

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла 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, 05. IV 2018

Јасна Бајић Љубичић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Варијабилност садржаја одабраних фенолних једињења у екстрактима плодова пет шумских дрвенастих врста са различитих станишта у Србији

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла 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 одлучио/ла.

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

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 05. IV 2018.

