UNIVERZITET U BEOGRADU POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Aleksa Đ. Božičković

# PROCENA HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE U ISHRANI PREŽIVARA NA OSNOVU MORFOLOŠKIH PARAMETARA

Doktorska disertacija

Beograd, 2013.

UNIVERSITY OF BELGRADE FACULTY OF AGRICULTURE

Aleksa Đ. Božičković

# EVALUATION OF ALFALFA NUTRITIVE VALUE IN RUMINANTS BASED ON MORPHOLOGICAL PARAMETERS

**Doctoral Dissertation** 

Belgrade, 2013.

# KOMISIJA

### Mentor:

 Dr Goran Grubić, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

## Članovi komisije:

- Dr Nenad Đorđević, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet
- Dr Aleksandar Simić, docent, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet
- 4. Jože Verbič, naučni savetnik,
  Poljoprivredni institut Slovenije, Ljubljana, Slovenija (Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana, Slovenija)
- 5. Dr Bora Dinić, naučni savetnik, Institut za krmo bilje, Kruševac

Datum odbrane: \_\_\_\_\_

## PROCENA HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE U ISHRANI PREŽIVARA NA OSNOVU MORFOLOŠKIH PARAMETARA

### Rezime

Na istoj lokaciji, u istoj vegetacionoj sezoni, je ispraćen porast lucerke (Medicago sativa L.) tokom tri prva ciklusa vegetacije (otkosa). Praćene su promene srednje morfološke faze kao i promene hemijskog sastava i hranljive vrednosti lucerke. Zbog toga je sakupljen ukupno 141 uzorak, odnosno 72, 35 i 34 uzorka redom u I, II i III otkosu. Svi otkosi su ispraćeni od početka vegetacije do faze zrenja mahuna. Istraživanje je sprovedeno sa ciljem utvrđivanja regresionih funkcija za procenu hemijskog sastava i hranljive vrednosti zasnovanih na srednjoj morfološkoj fazi. Ispitane su dve srednje morfološke faze, srednja morfološka faza određena brojanjem -MSC (eng. Mean Stage by Count) i srednja morfološka faza određena na osnovu mase -MSW (eng. Mean Stage by Weight). Srednja morfološka faza predstavlja prosek nekih morfoloških parametara i određuje se na osnovu svih izdanaka (stabljika) na određenoj površini. Sve stabljike sakupljenog uzorka se klasifikuju u deset morfoloških faza na osnovu kojih se određuje srednja morfološka faza. Hipoteza od koje se pošlo je bila: ukoliko se najvažniji hemijski parametri u lucerki mogu proceniti srednjom morfološkom fazom onda se i njena neto-energetska vrednost može proceniti sa sličnom tačnošću.

Svim sakupljenim uzorcima je određena MSC i MSW vrednost kao i sledeći hemijski parametri: sirovi protein (SP), sirovi pepeo (SPe), sirove masti (SMa), vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu (aNDF), vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu (ADF), lignin (ADL), protein nerastvorljiv u neutralnom deterdžentu (NDICP) i protein nerastvorljiv u kiselom deterdžentu (ADICP). Osim ovih hemijskih parametara, računski su određeni nevlaknasti ugljeni hidrati (NFC), celuloza i hemiceluloza. Na osnovu merenja produkcije gasa u tečnom sadržaju buraga tokom 24 h, svakom uzorku je određena *in vitro* svarljivost organske materije (IVSOM). Na osnovu navedenih hemijskih parametara svim uzorcima su određene pravo svarljive hranljive materije (TDN) i sledeće energetske frakcije: svarljiva energija (DE), metabolička energija (ME) i neto energija za laktaciju (NE<sub>L</sub>).

Utvrđen je kontinuiran porast MSW vrednosti tokom svih otkosa. Zbog pojave mladih izdanaka nakon osme nedelje prvog otkosa, utvrđeno je smanjenje MSC vrednosti. Pojava mladih izdanaka nije uticala na MSW vrednost pošto se ona određuje na osnovu suve mase morfoloških faza. Predložen je modifikovani način utvrđivanja MSW na osnovu sveže mase umesto suve mase. Modifikovana MSW vrednost je nazvana MSFW (eng. *Mean Stage by Fresh Weight*). Prosečna razlika između MSW i MSFW je iznosila 0,073 i nije bilo statistički značajne razlike između ovih parametara.

Koeficijent determinacije  $(R^2)$  između ove dve srednje morfološke faze je iznosio 0,9986. Predložene su jednačine za međusobnu konverziju sve tri utvrđivane srednje morfološke faze.

Ispraćene su promene svih navedenih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti. Utvrđen je trend smanjenja količine SP, SPe, SMa, NFC, IVSOM, TDN, DE, ME i NE<sub>L</sub> u uzorcima, sa odmicanjem vegetacije svih otkosa. Trend je utvrđen kod aNDF, ADF i ADL, kao i kod celuloze i hemiceluloze. NDICP i ADICP su imali slabo izražen trend. Na osnovu svih uzoraka su prikazane međuzavisnosti između frakcija i komponenata ćelijskog zida. Međuzavisnosti su prikazane i između IVSOM i NE<sub>L</sub> sa jedne strane i svih utvrđivanih hemijskih parametara sa druge strane.

Izvedeno je 210 regresionih funkcija za predviđanje navedenih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti. Jednačine su razvijene zasebno za sve otkose, I, II i III otkos. Utvrđeno je da jednačine za procenu hranljive vrednosti moraju biti izvedene za konkretne otkose. Procenat objašnjene varijabilnosti ( $\mathbb{R}^2$ ) pomoću srednje morfološke faze se kretao između 80 i 90 %, kod skoro svih jednačina za konkretne otkose. Jednačine za III otkos su po pravilu imale  $\mathbb{R}^2$  veće od 0,9. Nešto slabija mogućnost za predviđanje je utvrđena kod SPe, SMa i hemiceluloze. Dok je kod NDICP, ADICP i NFC utvrđena vrlo slaba mogućnost za procenu.

Prikazane regresione jednačine za procenu  $NE_L$  pomoću ispitivane tri srednje morfološke faze, su imale  $R^2$  oko 0,81; 0,92 i 0,93 u I, II i III otkosu redom. Dobijeni  $R^2$ su bili u nivou jednačina za procenu SP, aNDF, ADF i IVSOM. Ovim je potvrđena početna hipoteza pošto je neto energija lucerke bila predviđena sa sličnom ili većom tačnošću od najvažnijih hemijskih parametara i svarljivosti.

Jednačine za sve otkose, I otkos i III otkos, određene za procenu hranljive vrednosti pomoću MSW i MSFW, su po pravilu bile tačnije od jednačina izračunatih za MSC. Samo u II otkosu su jednačine izvedene za procenu MSC, bile bolje od jednačina za MSW i MSFW. Dokazano je da je moguće koristiti MSFW vrednost bez konverzije u jednačinama određenim za MSW što je posledica velike podudarnosti ove dve srednje morfološke faze. MSFW ima prednost u odnosu na ostale dve srednje morfološke faze pošto je jednostavan za utvrđivanje, ima tačnost kao MSW, i materijal na kom se utvrđuje ostaje nepromenjen što nije slučaj kod MSW.

Ključne reči: lucerka, hranljiva vrednost, preživari, srednja morfološka faza, procena

Naučna oblast: Zootehnika

Uža naučna oblast: Ishrana domaćih i gajenih životinja

**UDK broj:** 633.31:636.2/.3(043.3)

## EVALUATION OF ALFALFA NUTRITIVE VALUE IN RUMINANTS BASED ON MORPHOLOGICAL PARAMETERS

#### Summary

The investigation was done on 141 samples of one alfalfa (Medicago sativa L.) cultivar, collected from the same location during the first three growth cycles: spring growth, the first and the second regrowth. The following parameters in alfalfa during the whole growth cycle were observed: mean morphological stage and changes in chemical composition and nutritive value. For that purpose a total of 141 samples were collected, actually 72, 35 and 34 samples during the three growth cycles: spring growth, first regrowth and second regrowth. Investigation was carried out in order to obtain mean morphological stage within each growth cycle. Sampling was done during the whole growing period, commencing when plant height was below 150 mm and continuing until plants were bearing ripe seeds, to evaluate chemical composition and nutritive value based on mean morphological stage. Two methods for determination of mean morphological stage were used: Mean Stage by Count (MSC) and Mean Stage by Weight (MSW). The mean morphological stage represents an average value for some morphological parameters based on all shoots collected from randomly selected area. All shoots within the sample were classified in ten morphological stages. These stages were used for determination of mean morphological stage. The hypothesis was that if the most important chemical parameters could be estimated with the mean morphological stage, then its net energy value for ruminants may be calculated with similar level of exactness.

In the collected samples both MSC and MSW value were determined and the following analyses were conducted: crude protein (CP), crude ash (CA), ether extract (EE), neutral detergent fibre (aNDF), acid detergent fibre (ADF), acid detergent lignin (ADL), neutral and acid insoluble crude protein (NDICP and ADICP). The in vitro organic matter digestibility (IVOMD) was determined by the means of a gas production technique after 24h incubation in rumen fluid. Based on these chemical parameters in all samples the following values were calculated: cellulose, hemicellulose, nonfibre carbohydrates (NFC), total digestible nutrients (TDN), digestible energy (DE), metabolizable energy (ME) and net energy for lactation (NE<sub>L</sub>).

The continuous increase in MSW value was observed during all growth periods. Within the first cut the decrease in MSC value was observed, due to appearance of young shoots after eight weeks. The appearance of young shoots did not affect MSW since it is calculated on the base of dried weight of an individual morphological stage. The modification of the MSW method was investigated. This modification was based on determining the mean stage value using the fresh weight rather than the dry weight of individual morphological stage. The modified MSW was called Mean Stage by Fresh Weight (MSFW). The difference between MSW and MSFW values was negligible as indicated by the very high correlation coefficient, a regression slope of nearly 1 with intercept 0 and an average absolute difference between paired MSW and MSFW values of only 0.073. The ANOVA showed no statistically significant differences between MSW and MSFW values. The coefficient of determination ( $R^2$ ) between the two methods was 0.9986. The equations for mutual conversion of MSC, MSW and MSFW values were provided.

The changes in parameters of chemical composition were observed. The trend of decrease in amount of CP, CA, EE, NFC, IVOMD, TDN, DE, ME and NE<sub>L</sub> was observed with advancing of vegetation in all cuts. The trend was also observed in aNDF, ADF and ADL, and also in cellulose and hemicellulose. NDICP and ADICP had barely noticeable trend. Based on all samples the interconnections between fractions and components of the cell wall were evaluated. The interconnections were also shown for IVOMD and NE<sub>L</sub> on one side, and all determined chemical parameters on the other side.

A total of 210 regressions for estimation of listed parameters of chemical composition and nutritive values were developed. Equations were developed for each growth cycle separately and for the three growth cycles combined. The equations derived for all growth cycles together were characterized by lower  $R^2$  than equations for individual growth cycles. Differences between  $R^2$  values in different growth cycles lead to the conclusion that to decrease error in the prediction of alfalfa nutritive values the equations should be derived for individual growth cycles. In almost all equations for particular cuts the percentage of explained variability was between 80 and 90%. The  $R^2$  of predictive equations increased with consecutive growth cycles (from spring growth to the second regrowth). Somewhat smaller possibility for prediction of CA, EE and hemicellulose was determined, while for NDICP, ADICP and NFC very small possibility for prediction was determined.

The shown regression equations for estimation of  $NE_L$  on the basis of the mean morphological stage had R<sup>2</sup> of 0.81; 0.92 and 0.93 in I, II and III cut respectively. The obtained R<sup>2</sup> were at the same level as for the estimation of CP, aNDF, ADF and IVOMD. Therefore the starting hypothesis was confirmed, since the net energy for alfalfa was predicted with similar or higher accuracy than in case of the most important chemical parameters and digestibility.

The equations for all cuts, I cut and III cut, derived to evaluate nutritive value on the basis of MSW and MSFW were as a rule more accurate than those calculated on the basis of MSC. Only in the II cut the equations derived from MSC were better than those from MSW and MSFW. It seems that the MSW method could be replaced by the MSFW method without affecting the accuracy of predictive equations. Based on the results of this investigation the MSFW appears to be a quick and accurate method for determining the average development stage in alfalfa which can therefore be recommended for both scientific research and practical field use, as well as for prediction of its chemical composition and nutritive value.

Key words: alfalfa, nutritive value, ruminants, mean morphological stage, evaluation

А	-	Frakcija sirovog proteina, sačinjena od neproteinskog azota
ADF	-	Vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu
ADICP	-	Protein nerastvorljiv u kiselom deterdžentu
ADIN	_	Azot nerastvorljiv u kiselom deterdžentu (ADICP/6,25)
ADL	_	Lignin
aNDF	_	Vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu, određena uz korišćenje amilaze
ASH	_	Skraćenica za sirovi pepeo korišćena u NRC (2001)
$B_1$	_	Frakcija sirovog proteina, sačinjena od proteina koji je u potpunosti razgradiv u buragu
$\mathbf{B}_2$	_	Frakcija sirovog proteina, sačinjena od proteina koji je delimično razgradiv u buragu
$\tilde{B_3}$	_	Frakcija sirovog proteina, sačinjena od proteina sporo razgradivog u buragu ali svarljivog u crevima
Ċ	_	Frakcija sirovog proteina, sačinjena od proteina koji je nerazgradiv u buragu i nesvarljiv u crevima
CEL	_	Celuloza
СР	_	Skraćenica za sirovi protein korišćena u NRC (2001)
CV	_	Koeficijent varijacije
DE	_	Svarliiva energija
DEMSEW	_	Svarlijva energija izračunata na osnovu MSFW upotrebom prikazane iednačine [5-266]
DEMSW	_	Svarlijva energija izračunata na osnovu MSW upotrebom prikazane jednačine [5-266]
EE	_	Etarski ekstrakt skraćenica za SMa korišćena u NRC (2001)
EP	_	In situ određen nerazgradivi protein
EPCP	_	<i>In situ</i> određen nerazgradivi protein izražen u SP
GP	_	Količina stvorenog gasa inkubacijom u buražnom soku tokom 24 h (ml/200 mg suve materije)
HEM	_	Hemiceluloza
ISDMD	_	In situ razgradivost suve materije
IVDDM	_	In vitro svarljiva suva materija određena prema Marten and Barnes (1980)
IVSOM	_	In vitro svarlijvost organske materije
IVTD	_	In vitro prava svarljivost određena prema Goering and Van Soest (1970)
ISDMD	_	In situ razgradivost suve materije
ME	_	Metabolička energija
ME <sub>M&amp;S</sub>	_	Metabolička energija određena na osnovu gas produkcije (Menke and Steingass, 1988)
MSC	_	Mean stage by count - srednja morfološka faza, dobijena brojanjem
MSFW	_	Mean stage by fresh weight - srednja morfološka faza, dobijena na osnovu sveže mase
MSW	_	Mean stage by weight - srednja morfološka faza, dobijena na osnovu osušene mase
NDF	_	Vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu
NDICP	_	Protein nerastvorljiv u neutralnom deterdžentu
NDIN	_	Azot nerastvorljiv u neutralnom deterdžentu (NDICP/6,25)
NE	_	Neto energija
NE	_	Neto energija za laktaciju određena prema NRC (2001)
NELM&S	-	Neto energija za laktaciju određena na osnovu gas produkcije (Menke and Steingass, 1988)
net EP	-	In situ određen nerazgradivi protein umanjen za ADICP
NFC	-	Nevlaknasti ugljeni hidrati
NIRS	-	Bliska infracrvena spektroskopija (eng. Near-infrared spectroscopy)
NSC	-	Nestrukturni ugljeni hidrati
OM	-	Organska materija
R	-	Koeficijent korelacije
$\mathbf{R}^2$	-	Koeficijent determinacije
RFW	_	Relativna vrednost hraniva (eng. <i>Relative Feed Value</i> )
RMSE	-	Kvadratni koren sredine sume kvadrata greške (eng. Root mean square error)
SEy	_	Standardna greška predviđene v vrednosti pri $\bar{\mathbf{x}}$
SET	_	Suma efektivnih temperatura (eng. Growing degree days)
SM	-	Suva materija
SMa	-	Sirove masti (etarski ekstrakt)
SP	-	Sirovi protein
SPe	-	Sirovi pepeo

SP<sub>R</sub> - Frakcija sirovog proteina, dostupna mikroorganizmima buraga za razgradnju (zbir frakcija A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>)

- tdCP Pravo svarljivi sirovi protein (eng. *Truly Digestible CP*)
- tdFat Pravo svarljive sirove masti (eng. *Truly Digestible Fat*)
- TDN Pravo svarljive hranljive materija, određene prema NRC (2001)
- tdNDF Pravo svarljiva vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu (eng. Truly Digestible NDF)
- tdNFC Pravo svarljivi nevlaknasti ugljeni hidrati (eng. *Truly Digestible NFC*)
- TSB Tečni sadržaj buraga

Sadržaj	strana
1 Uvod	1
2 Ciljevi i zadaci istraživanja	4
3 Pregled literature	7
3.1 Razvoj metoda za određivanje srednje morfološke faze lucerke	7
3.2 Određivanje srednje morfološke faze, prema Kalu and Fick (1981)	11
<b>3.3 Promene srednje morfološke faze i hranljive vrednosti</b>	14
lucerke tokom vegetacije	14
3.4 Metode za predviđanje hranljive vrednosti lucerke na	10
polju	19
3.4.1 Srednja morfološka faza kao parametar za predviđanje hranljive vrednosti	20
3.4.1.1 Validacija jednačina zasnovanih na srednjoj morfološkoj fazi	35
3.4.1.2 Procena hranljive vrednosti stabla i lišća lucerke	39
3.4.2 Ostale metode za predviđanje hranljive vrednosti lucerke na poliu	39
4 Materijal i metode istraživanja	42
4.1 Sakuplianie uzoraka	42
4.2 Određivanje srednje morfološke faze	47
4.2.1 Metod izračunavanja MSW i MSC vrednosti	58
4.3 Hemijske analize	59
4.4 In vitro svarljivost organske materije (IVSOM)	61
4.5 Određivanje neto energije za laktaciju (NE <sub>L</sub> ) i ostalih	66
energetskih frakcija	00
4.5.1 Obračun energetskih frakcija na određenom nivou konzumacije energije	68
4.5.2 Obračun energetskih frakcija u sakupljenim uzorcima	69
4.5.3 Obračun ME i NE na osnovu gas produkcije	70
4.6 Statističke analize	71
5 Rezultati i diskusija	73
5.1 Promene srednjih morfoloških faza uzoraka tokom	72
vegetacije	13
5.1.1 Novi metod određivanja srednje morfološke faze	79
5.1.1.1 Metod izračunavanja MSFW vrednosti	80
5.1.1.2 Opravdanost MSFW metode	81
5.1.2 Promene MSWF kroz otkose u poredenju sa MSC 1 MSW	90

5.2 Odnos između utvrđenih srednjih morfoloških faza	93
5.2.1 Razlika između utvrđenih srednjih morfoloških faza	93
5.2.2 Jednačine za konverziju MSC u MSW i MSFW i obratno	95
5.2.3 Jednačine za konverziju MSW u MSFW i obratno	106
5.2.4 Metodološke sličnosti i razlike između utvrđenih srednjih morfoloških faza	109
5.3 Međusobni odnosi parametara hranljive vrednosti	111
lucerke	111
5.3.1 Hemijski parametri kvaliteta lucerke	112
5.3.1.1 Odnosi hemijskih parametara u okviru ćelijskog zida	118
5.3.1.2 Sirovi protein i proteinske frakcije ćelijskog zida	124
5.3.1.3 Hemijski parametri kvaliteta u markantnim fazama	130
razvoja lucerke	127
5.3.2 Svanjivost organske materije i energetske makerje	1/6
5.3.2.1 Odnos izmođu svodnjih morfoločilih fozo i poromotoro	140
5.4 Ounos izmedu srednjih mortoloskih taza i parametara	148
nemijskog sastava i nranijive vrednosti lučerke	1.40
5.4.1 Odnos između srednjih mortoloških taza i hemijskih parametara	148
5.4.1.1 Jednacine za procenu nemijskog lucerke na polju na	153
5 4 2 Odnos srednjih morfoloških faza sa svarljivošću organske	
materije	165
5.4.2.1 Jednačine za procenu IVSOM u bilici lucerke na osnovu	
srednjih morfoloških faza	169
5.4.3 Odnos srednjih morfoloških faza sa energetskim frakcijama	171
5.4.3.1 Jednačine za procenu energetskih frakcija u lucerki na	175
5 4 4 Odnos sradnjih morfaločkih faza sa protajnskim frakcijama	187
5.4.4 Outos steurijii morfoloških faza protenskih nakcijana	102
procenu ispitivanih parametara hemijskog sastava i hranlijve	186
vrednosti lucerke	100
5.4.6 Poređenje hranljive vrednosti lucerke u istoj morfološkoj fazi	101
između različitih otkosa	191
6 Zaključak	193
7 Literatura	199
8 Biografija autora	207
9 Prilozi - Iziave	208
Prilog 1. – Izjava o autorstvu	208
Prilog 2. – Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije	_00
doktorskog rada	209
Prilog 3. – Izjava o korišćenju	210

# 1 Uvod

U poslednjih nekoliko decenija, istraživači su učinili veliki napredak u razumevanju regulacije kvaliteta krmnih biljaka od strane gena i okoline (Fick et al. 1994). Prema rečima Fick et al. (1994), sva ova istraživanja predstavljaju inicijalne faze procesa predviđanja i kontrole hranljive vrednosti biljaka na polju. Hranljiva vrednost biljaka na polju, u momentu košenja, u velikoj meri uslovljava kvalitet kabastih hraniva. Kabasta hraniva su veoma važna i praktično nezaobilazna, u ishrani preživara, pošto obezbeđuju normalnu funkciju predželudaca i imaju čitav niz drugih pozitivnih nutritivnih karakteristika. U tom smislu lucerka (Medicago sativa L.) predstavlja jednu od najvažnijih krmih biljaka. Brojni su razlozi zbog čega se ona izdvaja u odnosu na druge biline vrste. Sa jedne strane, ona predstavlja višegodišnju biliku sa veoma razvijenim korenovim sistemom koji ima sposobnost azotofiksacije, zbog čega su znatno smanjena ulaganja prilikom njenog gajenja. Sa duge strane, veoma je otporna na intenzivno košenje, zbog čega po pravilu obezbeđuje veći prinos i veći broj otkosa od drugih krmnih vrsta. Kao stočna hrana, u obroku preživara obezbeđuje značajnu količinu proteina. Najčešće se koristi za spremanje sena, silaže i senaže (silaža od provenutog biljnog materijala). U intenzivnoj govedarskoj proizvodnji, u svim delovima sveta u kojima je moguće njeno gajenje, kukuruzna silaža i lucerkino seno predstavljaju najvažnija kabasta hraniva. Pored činjenice da odavno predstavlja gajenu vrstu, problemi njenog iskorišćavanja, odnosno pitanje optimalnog momenta za košenje još uvek nisu rešeni.

Glavno ograničenje u gajenju lucerke je neadekvatna kontrola hranljive vrednosti hraniva koja se od nje dobijaju (Mueller, 1994). U poređenju sa koncentrovanim, upravljanje kvalitetom kabastih hraniva u polju, kao i prilikom sastavljanja obroka, najčešće je veoma teško pošto je njihova hranljiva vrednost veoma promenljiva (Fick *et al.* 1994; Mueller, 1994). Starost lucerke u momentu košenja ima najveći uticaj na kvalitet kabaste hrane i predstavlja promenljivu koju proizvođači mogu najlakše da kontrolišu. Upravo iz ovog razloga, grupa istraživača okupljenih oko profesora Gary W. Fick-a, sa Cornell Univerziteta (*Cornell University, Ithaca, New York, USA*), je obavila veći broj istraživanja koja su imala za cilj definisanje različitih

metoda koje omogućavaju praćenje promena kvaliteta u biljci lucerke. Fick and Holthausen (1975) su definisali široko prihvaćen metod razdvajanja biljke lucerke na lišće i stablo. Ovaj metod je korišćen u svim studijama koje su imale za cilj praćenje promena kvaliteta u ovim delovima lucerke. U većem broju master radova i doktorskih disertacija (Kalu, 1976; Liu, 1977; Kalu, 1982; Onstad, 1982; Mueller, 1990; citirano prema Fick *et al.* 1994), kojima je rukovodio profesor Fick, su nastavljena istraživanja u cilju definisanja različitih metoda za procenu kvaliteta lucerke. Ove studije su predstavljale preliminarna istraživanja za radove u kojima je definisan metod numeričkog izražavanja morfološke faze lucerke (Kalu and Fick, 1981, 1983; Mueller and Fick, 1989; Fick and Mueller, 1989), kao i za radove u kojima su ispitane različite metode za procenu hranljive vrednosti lucerke (Kalu and Fick, 1981, 1983; Onstad and Fick, 1983; Fick and Onstad, 1988; Kalu et al. 1988, 1990; Allen and Fick, 1990). Drugim rečima, razvijen je sistem prema kom se srednja morfološka faza izražava brojčanom vrednošću iz intervala od 0 do 9. Pri čemu, srednja morfološka faza predstavlja prosečnu vrednost većeg broja morfoloških karakteristika stabljika lucerke na određenoj površini.

Kontrola kvaliteta biljnog materijala lucerke, koji će se dobiti u momentu košenja, se u proizvodnim uslovima može postići uvidom u hemijski sastav i hranljivu vrednost biljaka lucerke pre košenja. U tom smislu, većina modela za predviđanje kvaliteta lucerke ima krajnji cilj da bude primenljiva u proizvodnim uslovima. Prema Fick et al. (1994), sposobnost predviđanja je najčešće demonstrirana konstrukcijom i primenljivošću kvantitativnih modela. Ovi autori su takođe istakli, da primarni parametri za predviđanje mogu biti oni koji dinamično uključuju uslove okoline kao i fiziološke i morfološke osobine. Veći broj autora (Fick and Onstad, 1988; Fick et al. 1994; Mueller, 1994) je istakao da srednja morfološka. faza lucerke, određena po metodi Kalu and Fick (1981), predstavlja najbolji parametar za predviđanje, pošto uključuje celokupnu istoriju vezanu za kvalitet lucerke, u smislu delovanja uslova okoline i genetskog potencijala lucerke. Ovim je potvrđena početna hipoteza Kalu and Fick (1981), da ukoliko je kvalitet u vezi sa zrelošću (morfološkom fazom) lucerke, onda se preciznim definisanjem faze zrenja može predvideti hemijski sastav. Drugim rečima, zavisnost kvaliteta lucerke od faze razvoja ukazuje da faza razvoja može biti korišćena za predviđanje kvaliteta lucerke (Kalu and Fick, 1983).

Srednja morfološka faza lucerke određena po Kalu and Fick (1981) je korišćena u velikom broju istraživanja u kojima je bilo potrebno da se morfološka faza lucerke precizno definiše (Sanderson and Wedin 1989; Komprda *et al.* 1997; Berg, 2000; Hall *et al.* 2000; Machado *et al.* 2007; Bernaldez *et al.* 2009; Grabber, 2009; Pembleton *et al.* 2010a, 2010b). Takođe, u većem broju istraživanja je dalje ispitivana mogućnost predviđanja kvaliteta lucerke na osnovu pomenute srednje morfološke faze (Sanderson and Wedin, 1988; Fick and Janson, 1990; Sanderson and Wedin, 1990; Hintz and Albrecht, 1991; Sanderson, 1992; Komprda *et al.* 1993; Griffin *et al.* 1994).

Danas postoji veći broj načina, pomoću kojih bi se mogao steći uvid u hranljivu vrednost lucerke na polju i na osnovu toga odrediti optimalan momenat za njeno košenje. Hemijska analiza može obezbediti najtačniju informaciju o hemijskom sastavu lucerke, ali ona je vremenski preduga i njena cena je suviše visoka da bi mogla da se koristi u ovu svrhu. Sa druge strane, primena NIRS tehnologije (eng. Near-infrared spectroscopy - bliska infracrvena spektroskopija) omogućava značajno smanjenje vremenskog intervala potrebnog za dobijanje informacije o hemijskom sastavu biljke lucerke. Međutim, NIRS tehnologija će verovatno ostati nepraktična za taktično donošenje odluka o momentu košenja (Fick at al. 1994). Ovo je dobrim delom rezultat visoke cene NIRS aparata, kao i činjenice da ova analiza takođe košta (ukoliko je vrše komercijalne laboratorije). Takođe, za uspešnu primenu NIRS tehnologije je često potrebno sušenje biljnog materijala, zbog čega se vreme za procenu hemijskog sastava produžava. Zbog svega ovoga modeli koji se baziraju na podacima okoline ili na različitim karakteristikama biljaka imaju brojne prednosti (Fick et al. 1994). Razvoj odgovarajućih modela, lako primenljivih u proizvodnim uslovima, bi eliminisao potrebu definisanja fiksnih termina košenja. Ovakav pristup bi omogućio proizvođačima manipulaciju sa hranljivom vrednošću kabastih hraniva čime bi se stvorile dodatne mogućnosti za smanjenje troškova ishrane.

# 2 CILJEVI I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Ovo istraživanje je sprovođeno sa ciljem ispitivanja mogućnosti definisanja matematičkih modela za predviđanje osnovnih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti lucerke na polju. Biće ispitana mogućnost razvoja modela baziranih na srednjoj morfološkoj fazi razvoja lucerke. Drugim rečima, ispitaće se mogućnost dobijanja modela koji treba da omoguće precizno sagledavanje promena hemijskog sastava i hranljive vrednosti u biljci lucerke u odnosu na njenu morfološku fazu razvoja. Definisanjem morfološke faze, će biti moguće precizno odrediti momenat za košenje lucerke u cilju dobijanja hraniva sa optimalnom hranljivom vrednošću za različite oblike proizvodnje preživara.

Osnovna hipoteza od koje se pošlo je bila da ukoliko se hemijski parametri u biljci lucerke mogu proceniti, u tom slučaju je moguće razviti i modele za procenu njene svarljivosti i količine neto energije (NE). Razvoj modela za procenu je baziran na morfološkim parametrima biljke koji se mogu relativno lako utvrditi. U cilju testiranja ove hipoteze istraživanje će biti izvedeno u nekoliko faza na materijalu koji je sakupljen tokom 2010. godine. Pomenuti materijal je obezbeđen sakupljanjem većeg broja uzoraka tokom prva tri ciklusa porasta lucerke. U svim uzorcima su beleženi potrebni morfološki parametri, dok je različitim analizama uzoraka, utvrđen veći broj parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti.

#### I faza

Cilj ovog dela istraživanja će biti da se isprati zrenje lucerke tokom tri prva otkosa. Za pokazatelj zrelosti lucerke je uzeta srednja morfološka faza, određena po metodi Kalu and Fick (1981). Kalu and Fick (1981) definišu dve metode ocene srednje morfološke faze: srednja morfološka faza zasnovanu na broju stabljika – MSC (eng. *Mean Stage by Count*) i srednja morfološka faza zasnovanu na masi stabljika – MSW (eng. *Mean Stage by Weight*). Obe srednje morfološke faze su numerički izražene, decimalnom vrednošću u intervalu od 0 do 9. MSC i MSW vrednost će biti utvrđena za uzorke sakupljene tokom prva tri ciklusa porasta lucerke: I otkos, II otkos i III otkos.

Jedan od zadataka ove faze će biti i ispitivanje mogućnosti razvoja matematičkih modela za konverziju MSC u MSW i obratno. Biće provereno da li se tačnost ovih modela može povećati njihovim razvojem za pojedinačne otkose ili ograničavanjem konverzije na uži deo vegetacije.

#### II faza

Ova faza će imati za cilj utvrđivanje dinamike odabranih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti lucerke u sva tri praćena otkosa. Hemijski parametri koji će biti praćeni su definisani u NRC (2001) kao parametri za određivanje neto energetske vrednosti hraniva. Biće praćeni sledeći hemijski parametri:

- sirovi protein (SP),
- sirovi pepeo (SPe),
- sirove masti (SMa),
- vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu (aNDF),
- vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu (ADF),
- lignin (ADL),
- protein nerastvorljiv u neutralnom deterdžentu (NDICP),
- protein nerastvorljiv u kiselom deterdžentu (ADICP).

Sem nabrojanih hemijskih parametara, biće ispraćene i promene *in vitro* svarljivosti organske materije (IVSOM), utvrđene prema Menke *et al.* (1979) i neto energije za laktaciju (NE<sub>L</sub>), određene prema NRC (2001).

Sve pomenute analize su rađene u uzorcima kojima će biti određena MSC i MSW vrednost. Na ovaj način, će biti povezane promene morfološke faze razvoja sa promenama hemijskog sastava i hranljive vrednosti biljaka lucerke.

#### III faza

Cilj ove faze će biti ispitivanje mogućnosti dobijanja matematičkih modela za procenu utvrđenih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti lucerke. Dobijanje modela će biti obavljeno regresionom analizom pri čemu će kao nezavisno promenljiva biti korišćena MSC ili MSW vrednost, dok će kao zavisne promenljive biti uzeti svi utvrđivani parametri hemijskog sastava i hranljive vrednosti. Na ovaj način, će se dobiti regresione jednačine kojima se pomoću MSC ili MSW vrednosti mogu predvideti svi ispitivani parametri hemijskog sastava i hranljive vrednosti lucerke. Sve regresione jednačine će biti utvrđene zasebno za svaki od tri ispitivana otkosa (na osnovu uzoraka sakupljenih u konkretnim otkosima) kao i za sve otkose objedinjeno.

Drugi cilj ove faze će biti da se utvrde parametri tačnosti dobijenih regresija, i da se odredi da li se izvođenjem pomenutih matematičkih modela za konkretne otkose može smanjiti greška predviđanja u odnosu na modele određene za sve otkose. Parametrima tačnosti izvedenih regresija će biti izvršeno i poređenje utvrđivanih srednjih morfoloških faza, prema njihovoj sposobnosti za procenu ispitivanih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti.

Sumarno, zadatak ovog istraživanja je testiranje različitih metoda za utvrđivanje srednje morfološke faze lucerke, sa ciljem razvoja matematičkih modela za procenu hranljive vrednosti baziranih na morfološkoj fazi. Razvijanje modela ima za cilj rešavanje pitanja određivanja momenta košenja lucerke. Primena ovih modela bi trebala da omogući dobijanje hraniva sa željenom hranljivom vrednošću.

## **3 PREGLED LITERATURE**

## **3.1 RAZVOJ METODA ZA ODREĐIVANJE SREDNJE MORFOLOŠKE** FAZE LUCERKE

Istraživanja hranljive vrednosti lucerke kao i definisanje njenih promena tokom vegetacije su davno započeta. Poznata je činjenica da se hemijski sastav i hranljiva vrednost lucerke tokom jednog vegetacionog ciklusa (otkos) menjaju zbog čega lucerka sa kraja vegetacionog ciklusa ima slabiji kvalitet. Odmicanje vegetacije se definiše kao zrenje biljaka tokom kog dolazi do pomenutog smanjenja hranljive vrednosti. U ovom smislu pod vegetacijom se smatra jedan vegetacioni ciklus – otkos, koji počinje pojavom zelenih izdanaka lucerke (nakon zimskog perioda ili nakon košenja), a završava se sazrevanjem mahuna prisutnih na biljkama ili košenjem.

Za starost lucerke u danima, mereno od dana nicanja, je primećeno da ne može biti pouzdan parametar za procenu hranljive vrednosti. U ovom smislu varijacije se javljaju i između godina i između otkosa. Na primer, lucerka iz I otkosa, stara 40 dana, ima potpuno drugačiju hranljivu vrednost od lucerke iste starosti iz drugih otkosa. Vremenske prilike predstavljaju osnovni uzrok ovih promena kao i razlog pojave razlika između godina, zbog čega lucerka iz istog otkosa u istoj starosti po danima može veoma da varira između različitih godina. Uprkos ovim činjenicama neki od prvih matematičkih modela za procenu hranljive vrednosti lucerke su bili bazirani na starosti lucerke (izraženo u danima). Prema Fick et al. (1994) u ovu grupu najranijih matematičkih modela spadaju radovi Jarl and Helleday (1951), Homb (1952), Reid et al. (1959), Kane and Moore (1959) i Reid (1973). U ovim ranim istraživanjima na osnovu starosti u danima, najčešće linearnim jednačinama je procenjivana količina svarljive organske i svarljive suve materije, sirovog proteina (SP) kao i dnevna konzumacija suve materije (SM). Fick et al. (1994) navode zaključak Reid (1973) da odnosi hranljive vrednosti i starosti lucerke u danima, utvrđeni u ovim istraživanjima, nisu bili generalni i da su zahtevali kalibraciju za svaku lokaciju, kao i da su jednačine bile pod velikim uticajem sezone odnosno vremenskih prilika. Ovo bi značilo da su jednačine mogle biti korišćene samo na jednoj lokaciji i tokom iste sezone kada su i utvrđene.

U praktičnim uslovima, kao metod za procenu momenta za košenje, najčešće se koristi procena zrelosti lucerke preko markantnih faza u razvoju lucerke. Pod markantnim fazama u razvoju lucerke najčešće se smatraju početak pupoljenja, pupoljenje, početak cvetanja i cvetanje. Fick *et al.* (1994) za markantnu fazu koriste termin prividna faza (eng. *apparent stage*). Sa markantnim fazama razvoja je vezan odgovarajući kvalitet lucerke zbog čega se one koriste za procenu hranljive vrednosti lucerke. Naime, kvalitet lucerke opada kako njen razvoj odmiče, a ova zavisnost kvaliteta lucerke od faze razvoja, ukazuje da faza razvoja može biti korišćena za predviđanje kvaliteta lucerke (Kalu and Fick, 1983). Međutim, za preciznu procenu hranljive vrednosti, zrelost lucerke je morala biti numerički izražena. Prema Kalu and Fick (1981), ako je kvalitet lucerke u vezi sa zrelošću lucerke, odnosno morfološkom fazom, onda je potrebno razviti kvantitativni i precizni sistem klasifikacije morfoloških faza u cilju stvaranja modela za predviđanje kvaliteta lucerke na polju.

Koncept srednje morfološke faze podrazumeva utvrđivanje prosečne faze razvoja lucerke, na nekoj manjoj površini, nakon sagledavanja svih prisutnih izdanaka (stabljika). Na taj način dobijena srednja morfološka faza predstavlja prosek nekih morfoloških karakteristika svih prisutnih izdanaka na toj površini. Ova istraživanja su započeli Gengenbach and Miller (1972), dok se danas najzastupljeniji metod određivanja srednje morfološke faze zasniva na istraživanjima Kalu and Fick (1981, 1983). Takođe, sistem podrazumeva da srednja morfološka faza bude numerički izražena, a ne opisno kao u slučaju određivanja markantne faze razvoja lucerke.

Gengenbach and Miller (1972) su objavili prvi kvantitativni sistem za klasifikaciju stabljika lucerke na morfološke faze (citat prema Fick *et al.* 1994). Metod ovih autora podrazumeva klasifikaciju biljaka lucerke u 4 faze: vegetacionu fazu (faza 1), fazu pupoljenja (faza 2), fazu cvetanja (faza 3) i fazu mahuna (faza 4). Ovaj rad je predstavljao prvi korak u kvantifikaciji faze razvoja lucerke, pošto je zrelost lucerke izražena kao prosek na osnovu većeg broja stabljika. Osnovnu nepreciznost pri određivanju markantne faze, predstavlja činjenica da se ona bazira na sagledavanju samo markantnih izdanaka (biljke u butonizaciji ili biljke u cvetanju) dok se ostale

biljke zanemaruju. Gengenbach and Miller (1972) su pokušali da prevaziđu ovaj problem sagledavanjem svih stabljika sa određene površine i njihovom klasifikacijom u morfološke faze.

Fick and Liu (1976) su zaključili da četvoro-fazni sistem Gegenbach and Miller (1972) nije adekvatan za primenu u ranim fazama kasnijih otkosa (citat prema Fick *et al.* 1994). Prema Fick *et al.* (1994), najveći pomak u povezivanju faze razvoja lucerke i njenog kvaliteta je napravio Bernard Kalu u svojoj disertaciji (Kalu, 1976). Ovo istraživanje je bilo osnova za dva inicijalna rada iz ove oblasti koje su objavili Kalu and Fick (1981, 1983). Dve su polazne osnove od kojih je Kalu krenuo, on je želeo da linearizuje odnos faze lucerke i vremena, kao i da napravi sistem kojim se srednja morfološka faza računa na osnovu svih stabljika u uzorku (Fick *et al.* 1994). Ova dva pristupa su dovela do definisanja 10 morfoloških faza kroz koje prolazi biljka lucerke (Tabela 3-1), kao i sistema po kom je za određivanje srednje morfološke faze potrebno pokositi određenu površinu i sve stabljike klasifikovati u pomenute faze.

Prema Kalu and Fick (1981), faze prikazane u tabeli 3-1 su nastale deljenjem faza koje su definisali Gegenbach and Miller (1972). Vegetaciona faza i faza mahuna su podeljene na po tri faze, dok su faza pupoljenja i faza cvetanja podeljene na po dve. Cilj ovih podela je bio da se morfološke faze dovoljno "usitne" tako da se isprati rast lucerke, odnosno da lucerka kontinuirano raste u svim fazama rasta (Kalu and Fick, 1981). Imajući u vidu da se prvi otkos i svi ostali otkosi razlikuju po dužini trajanja (prema rezultatima iz ovog rada oko 40 dana), četvoro-fazni sistem ne bi bio dovoljno precizan pošto bi dinamika ovako utvrđene srednje morfološke faze bila različita u zavisnosti od otkosa. U prvom otkosu predug vremenski interval bi bio potreban za promenu faza, dok bi intenzivan porast u ostalim otkosima doveo do kratkog trajanja ili preskakanja nekih markantnih faza u razvoju lucerke. Fick et al. (1994) ističu da je Kalu ovim sistemom želeo da obezbedi linearni porast srednje morfološke faze tokom vegetacije. Dobijeni odnosi između srednje morfološke faze i vremena nisu bili u potpunosti linearni ali je ovako određena srednja morfološka faza rasla brzinom sličnom brzini smanjenja hranljive vrednosti lucerke. U prvom radu Kalu and Fick (1981) su prikazali koeficijente korelacije ( $\mathbb{R}^2$ ) od 0,98 i 0,99 između ovako određene srednje morfološke faze i *in vitro* prave svarljivosti (IVTD) i količine sirovog proteina (SP), respektivno.

Broj faze	Naziv faze	Definicija faze
0.	Rana vegetaciona	Dužina stabljike ≤ 15 cm, nema pupoljaka, cvetova, ili mahuna
1.	Srednja vegetaciona	Dužina stabljike 16 do 30 cm, nema pupoljaka, cvetova, ili mahuna
2.	Kasna vegetaciona	Dužina stabljike $\geq$ 31 cm, nema pupoljaka, cvetova, ili mahuna
3.	Rano pupoljenje	1 do 2 nodusa (članka) sa pupoljcima, nema cvetova, ili mahuna
4.	Kasno pupoljenje	$\geq$ 3 nodusa (članka) sa pupoljcima, nema cvetova, ili mahuna
5.	Rano cvetanje	Jedan nodusa (članka) sa potpuno otvorenim cvetom, nema mahuna
6.	Kasno cvetanje	$\geq$ 2 nodusa (članka) sa potpuno otvorenim cvetovima, nema mahuna
7.	Rano formiranje mahuna	1 do 3 nodusa (članka) sa zelenim mahunama
8.	Srednje formiranje mahuna	$\geq$ 4 nodusa (članka) sa zelenim mahunama
9.	Kasno formiranje mahuna	Nodusi (članci) sa većinom braon (zrele) mahune

Tabela 3-1. Definicija morfoloških faza razvoja za pojedinačne stabljike lucerke. (Kalu and Fick, 1983)

Osim metode Kalu and Fick, od strane drugih autora su predloženi kompleksniji sistemi. Simon and Park (1983) su predložili sistem sa 51 fazom, dok je Torssell (1984) razvio sistem sa 24 faze (citirano prema Fick *et al.* 1994). Usitnjavanje faza teoretski može predstavljati način unapređenja određivanja srednje morfološke faze, međutim povećanje broja faza svakako dovodi do otežavanja njihovog prepoznavanja, a samim tim i do neupotrebljivosti takvog sistema. Pored relativno lako prepoznatljivih 10 faza, od strane nekih autora sistem Kalu and Fick (1981) je okarakterisan kao previše komplikovan (Sulc *et al.*, 1997; Berg, 2000). Iako je metod Kalu and Fick (1981) kritikovan, srednja morfološka faza određena po njihovoj metodologiji, nazvana MSW – *Mean Stage by Weight*, je takođe imenovana kao najbolji pojedinačni faktor za predviđanje kvaliteta lucerke (Kalu and Fick, 1981, 1983; Fick and Onstad, 1988; Fick *et al.* 1994).

U istraživanju Sanderson and Wedin (1989) poređeni su sistemi za ocenu srednje morfološke faze predloženi za četiri različite biljne vrste, lucerku (*Medicago sativa* L.), crvenu detelinu (*Trifolium pratense* L.), mačiji rep (*Phleum pratense* L.) i bezosi vlasen (*Bromus inermis* Leyss.). Kod sve četiri ispitivane biljne vrste ispraćene su promene srednje morfološke faze i NDF odnosno *in vitro* svarljive suve materije (IVDDM) tokom vegetacije. Vrednosti u tabeli 3-2 predstavljaju koeficijente determinacije (R<sup>2</sup>) regresionih jednačina u kojima se predviđa odgovarajući parametar hranljive vrednosti pomoću srednje morfološke faze kao nezavisne varijable. Prema

ovim autorima MSW lucerke se pokazao kao najbolji parametar u poređenju sa odgovarajućom srednjom morfološkom fazom kod drugih ispitivanih biljnih vrsta. U poređenju sa ostalim biljnim vrstama, srednja morfološka faza lucerke je objasnila najveći procenat varijabilnosti NDF i IVDDM. Takođe, u poređenju sa srednjim morfološkim fazama ostalih biljnih vrsta srednja morfološka faza lucerke je imala najlinearniji porast tokom vegetacije. Zbog ovih rezultata Sanderson and Wedin (1989) su istakli da smatraju da je ovim dalje potvrđena tvrdnja Fick and Onstad (1988), prema kojima MSW predstavlja najbolji pojedinačni parametar za predviđanje kvaliteta lucerke. Njihovi rezultati takođe ukazuju, da kod ostalih vrsta ispitivane srednje morfološke faze mogu biti upotrebljene za procenu hranljive vrednosti, ali su u poređenu sa MSW lucerke slabiji parametri za predviđanje.

Tabela 3-2. Proporcija objašnjene varijabilnosti NDF i *in vitro* svarljive suve materija (IVDDM) pomoću odgovarajuće srednje morfološke faze za konkretnu biljnu vrstu. Vrednosti u tabeli predstavljaju koeficijente determinacije ( $\mathbb{R}^2$ ). Prilagođeno prema Sanderson and Wedin (1989)

Dananatan		Leguminoze	Trave		
Parametar	Lucerka <sup>a</sup>	Crvena detelina <sup>b</sup>	Mačiji rep <sup>c</sup>	Bezosi vlasen <sup>c</sup>	
NDF	0,98	0,94	0,85	0,74	
<b>IVDDM</b> <sup>d</sup>	0,98	0,85	0,76	0,75	
a	C 1 X1 C		1 T' 1 (1001)		

<sup>a</sup> Srednja morfološka faza (MSW) određena po Kalu and Fick (1981)

<sup>b</sup> Srednja morfološka faza određena po Hedlund and Höglund (1983)

<sup>c</sup> Srednja morfološka faza određena po Simon and Park (1983)

<sup>d</sup> IVDDM određena prema metodi Marten and Barnes (1980)

Više autora je prezentovalo jednačine za predviđanje hranljive vrednosti sa visokim  $R^2$  u kojima je srednja morfološka faza bila jedini nezavisni parametar (Kalu and Fick, 1981, 1983; Fick and Onstad, 1988; Sanderson and Wedin, 1988; Fick and Janson, 1990; Hintz and Albrecht, 1991). U radu Fick and Onstad (1988) su prikazane i jednačine u kojima je predviđanje hranljive vrednosti izvršeno kombinovanjem srednje morfološke faze sa drugim nezavisnim morfološkim i klimatskim faktorima.

## 3.2 Određivanje srednje morfološke faze, prema Kalu and Fick (1981)

U cilju određivanja srednje morfološke faze Kalu and Fick (1981) su definisali 10 morfoloških faza (Tabela 3-1) kroz koje prolazi izdanak lucerke. Princip određivanja srednje morfološke faze se zasniva na košenju određene manje površine i sakupljanja svih biljaka sa stablom višim od visine košenja. Površina parcelice za košenje nije precizno određena, ali postoji preporuka da površina treba biti tolika da obezbedi najmanje 40 stabljika u uzorku (Fick and Mueller, 1989). Kod različitih autora površina za košenje je varirala od 0,1 m<sup>2</sup> (Kalu and Fick, 1981) do 0,5 m<sup>2</sup> (Griffin *et al.* 1994), a u istraživanju Kalu and Fick (1983) su korišćene tri različite površine 0,1; 0,2 i 0,4 m<sup>2</sup>. Osim korišćenja parcelice određene površine, biljke je moguće sakupiti košenjem biljaka iz istog reda, ako je lucerka sejana u redovima (Fick and Mueller, 1989). Sistem košenja biljaka iz istog reda je korišćen u radovima Sanderson and Wedin (1988) i Komprda *et al.* (1993, 1997a, 1997b), dok su u istraživanju Sanderson (1992) za uzorkovanje kombinovano korišćeni i parcelica i košenje reda u dužini od 1m.

Visina košenja je takođe varirala kod različitih autora ali je po pravilu bila do 5 cm od zemljišta. Načelna preporuka je da visina košenja bude 3 cm (Fick and Mueller, 1989). Poređano prema visini košenja Sanderson and Wedin (1988) su kosili biljke u visini zemljišta; Kalu and Fick (1981 i 1983), Hintz and Albrecht (1991) su kosili na visini od 3 cm; Owens *et al.* (1995), Orloff (1996) i Sulc *et al.* (1997) su kosili na visini od 1,5 inč (3,8 cm); dok su Sanderson and Wedin (1989), Sanderson (1992), Griffin *et al.* (1994) kosili na visini od 5 cm. Naglašeno je da je pri uzorkovanju važno da se sakupe sve stabljike sa stablom višim od visine košenja (Fick and Mueller, 1989). Griffin *et al.* (1994) su odstupili od principa sakupljanja svih stabljika tako da je u njihovom radu srednja morfološka faza uzorka računata na osnovu 100 slučajno odabranih stabljika.

Prema metodologiji Kalu and Fick (1981) nakon uzorkovanja sve stabljike uzorka se klasifikuju u 10 faza (Tabela 3-1). Sistem uzorkovanja i klasifikacije stabljika u morfološke faze je detaljno obrađen u brošuri koju su objavili Fick and Mueller (1989). U uzorcima sa početka vegetacije se nalaze izdanci koji se klasifikuju u jednu do tri morfološke faze, dok u uzorcima iz kasne vegetacije može biti prisutno i do 9 različitih morfoloških faza. Pomenuti autori su razvili dva sistema za određivanje srednje morfološke faze, metod zasnovan na brojanju stabljika u svakoj fazi – Mean Stage by Count (MSC) i metod zasnovan na suvoj masi svake faze – Mean Stage by Weight (MSW). U zavisnosti da li se određuju MSC ili MSW pri klasifikovanju faza lucerke beleži se broj stabljika u svakoj određenoj fazi (pri određivanju MSC), odnosno

osušena masa cele faze (pri određivanju MSW). U ovom smislu jednu fazu čine sve biljke istog uzorka koje su klasifikovane u istu morfološku fazu prema tabeli 3-1.

MSC vrednost se određuje prema jednačini [3-1] (Kalu and Fick, 1981)

$$MSC = \left[\sum_{S=0}^{9} (S \cdot N)\right] / C$$
[3-1]

pri čemu je S – broj faze (prikazan u tabeli 3-1), N – broj stabljika u fazi S, C – ukupan broj stabljika u celom uzorku.

Obračun MSW (Kalu and Fick, 1981) je prikazan u jednačini [3-2]

$$MSW = \left[\sum_{S=0}^{9} (S \cdot D)\right] / W$$
 [3-2]

pri čemu je S – broj faze (prikazan u tabeli 3-1), D – suva masa stabljika u fazi S, W – ukupna suva masa stabljika u svim fazama.

Prema Kalu and Fick (1981), sušenje faza se obavlja u produvnoj sušnici na 65 °C do konstantne mase. U nekim istraživanjima u cilju određivanja MSW vrednosti biljni materijal je sušen na 60 °C (Komprda *et al.* 1997; Machado *et al.* 2007; Pembleton *et al.* 2010). Ovo odstupanje od temperature sušenja koju su primenili Kalu and Fick (1981) je nastalo kao posledica činjenice da se sve dalje analize rade iz istog materijala koji se koristi za određivanje srednje morfološke faze. Niža temperatura (60 °C) je korišćena u radovima u kojima je vršeno ispitivanje proteinskih frakcija ćelijskog zida, odnosno nekih fenolnih jedinjenja.

Oba načina obračuna srednje morfološke faze (MSC i MSW) uspešno prikazuju promene u razvoju u svakoj nedelji rasta (Kalu and Fick, 1981). Međutim, prema istim autorima MSW u odnosu na MSC ima brži i kontinuiran porast. Kalu and Fick (1981) navode da je kod uzoraka starih 6 i 10 nedelja utvrđena skoro identična MSC vrednost dok kod MSW nije utvrđen ovaj problem. Ovi autori navode da su u navedenim uzorcima starim 6 nedelja dominirale biljke u 4. i 6. fazi. Sa druge strane, u uzorcima starim 10 nedelja dominirale su biljke u nižim fazama razvoja (faze 0., 1., 2., i 3.) i faza zrenja mahuna (faze 7., 8. i 9.). Ovo znači da faze nisu kontinuirano prisutne u uzorcima nego da kod starijih uzoraka dominiraju više faze dok su niže faze takođe prisutne. Pošto se MSC računa na osnovu broja stabljika, povećan udeo stabljika sa nižom fazom

utiče na smanjenje MSC vrednosti starijih uzoraka. Kod ovakvih uzoraka masa nižih faza je mala u odnosu na više zbog čega ovog uticaja na MSW gotovo da nema. Pojava nižih faza, odnosno novih izdanaka u zrelim uzorcima, se naziva podrast. Prema Mueller and Fick (1989) podrast se pojavljuje u uzorcima starijim od 8 nedelja. Zbog navedenih problema, uticaja podrasta, Kalu and Fick (1981) su izveli zaključak da MSC metod nije pogodan za naučna istraživanja, zbog čega je u njihovim daljim istraživanjima (Kalu and Fick, 1983; Kalu *et al.* 1988, 1990) korišćen MSW metod.

Iako je za MSW istaknuto da je on bolji pokazatelj srednje morfološke faze od MSC, upotreba MSC je i dalje prisutna u literaturi. MSC metod je korišćen kao pokazatelj srednje morfološke faze u nekim novijim radovima (Berg, 2000; Hall *et al.* 2000; Pembleton *et al.* 2010b). Brzina i jednostavnost utvrđivanja MSC vrednosti, u odnosu na MSW, su verovatno predstavljali primarni razlog opredeljenja nekih autora za korišćenje MSC metode. MSW je razmatran za korišćenje u nekim istraživanjima ali je odbačen zbog predugog intervala potrebnog za sušenje (Berg, 2000). Interval potreban za sušenje je takođe potenciran kao osnovni problem za primenu MSW metoda i kod drugih autora (Fick *et al.* 1994; Sulc *et al.* 1997). Zbog problema koji postoje sa primenom MSW, Fick and Mueller (1989) su izrazili mišljenje da sistem može biti unapređen. U tom smislu isti autori (Mueller and Fick, 1989) su razvili jednačinu za konverziju MSC u MSW (jednačina [5-45]). Cilj ovog konvertovanja je da se iskoristi tačnost MSW upotrebom MSC kao jednostavnije i brže metode.

### **3.3 PROMENE SREDNJE MORFOLOŠKE FAZE I HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE TOKOM VEGETACIJE**

Srednja morfološka faza po Kalu and Fick (1981) kao i sistem klasifikacije izdanaka lucerke po ovim autorima (Tabela 3-1), predstavljaju dinamičan sistem. Ukoliko se posmatra sa stanovišta promena MSC i MSW vrednosti, brzina promena srednjih morfoloških faza, odnosno zrenje lucerke, se ne odvija istom brzinom tokom godine. Na grafikonu 3-1, dat je nelinearni prikaz promena brzine sazrevanja lucerke, pri čemu je prikazan MSW i MSC različitih uzoraka lucerke u starosti od 2, 6 i 10 nedelja. Može se zapaziti da je najintenzivniji porast MSW vrednosti tokom letnjih meseci, kada lucerka u starosti od šest nedelja može imati MSW vrednost od skoro 6,0

dok tokom proleća (pre 2. juna) može imati oko 3.0. Prethodno pomenuta nepreciznost MSC je prikazana na grafikonu 3-1. Naime Kalu and Fick (1981) su utvrdili da je MSC vrednost lucerke u starosti od 10 nedelja nakon 20. avgusta (232 dan godine) bila niža od MSC vrednosti uzoraka starih 6 nedelja (Grafikon 3-1). Sa druge strane u slučaju MSW nije preklapanje nego je zabeleženo ovakvo hronološka starost uvek bila praćena "morfološkom starošću". odgovarajućom Linearno predstavljeno prema Kalu and Fick (1983) MSW vrednost je ravnomerno rasla tokom godine dok je MSC opadala u poslednjim fazama otkosa koji su usledili nakon 21. maja i 9. jula (Grafikon 3-2). Kao što je već pomenuto, smanjenje MSC vrednosti u kasnoj vegetaciji je posledica pojave novih iz-



Grafikon 3-1. Prikaz MSW i MSC vrednosti uzoraka u starosti od 2, 6 i 10 nedelja (WKS) u različitim periodima godine (Kalu and Fick, 1981)

danaka dok se zbog male mase njihov uticaj na vrednost MSW gotovo ne oseća.



Grafikon 3-2. Linearni prikaz porasta MSW i MSC vrednosti (Kalu and Fick, 1981)

Promene u brzini porasta srednje morfološke faze su takođe praćene i promenama koje se dešavaju u samim biljkama. Prema rezultatima Kalu and Fick

(1981, 1983) tokom jednog vegetacionog ciklusa u lucerki se odvijaju velike promene. Ove promene dovode do pojave da se biljke u istoj morfološkoj fazi razlikuju usled različite starosti u danima od momenta nicanja, odnosno početka vegetacionog ciklusa. Upravo zbog toga se ne može reći da biljke u određenoj morfološkoj fazi imaju određeni hemijski sastav i hranljivu vrednost. Na grafikonu 3-3 su prikazane promene koje se odvijaju u lišću i u stablu u okviru iste morfološke faze sa odmicanjem vegetacije (Kalu and Fick, 1983). Prema ovim rezultatima, izuzimajući SP u stablu lucerke, sa starenjem-zrenjem (eng maturity) dolazi do smanjenja hranljive vrednosti u svim morfološkim fazama i u lišću i u stablu. Imajući u vidu da iz jednog korena raste nekoliko desetina izdanaka-stabljika koje su najčešće u različitim fazama, na grafikonu 3-3 svi uzorci sakupljeni u istoj starosti u danima teoretski predstavljaju jedan uzorak. Uzorak sakupljen košenjem određene površine se sastoji od niza izdanaka u različitim morfološkim fazama. Prema tome starost u danima prikazana na grafikonu 3-3 ne predstavlja bukvalnu starost svih stabljika nego interval dana od kada je počeo ciklus vegetacije. Na primer ukoliko uzorak sadrži 0. i 6. fazu, mnogo duži vremenski period je protekao od momenta nicanja 6. faze nego od nicanja 0. faze. Zbog toga se na osnovu ovih rezultata može reći da na neki način svi izdanci jednog uzorka stare i doživljavaju promene, koje se ogledaju u izmeni hranljive vrednosti, bez obzira u kojoj su morfološkoj fazi. Drugim rečima prema hranljivoj vrednosti, biljke u 3. fazi sa početka vegetacije se mogu potpuno razlikovati od biljaka iz 3. faze sa kraja vegetacije.



Grafikon 3-3. Promene u sadržaju SP i IVTD u lišću i stablu u svim morfološkim fazama (Kalu and Fick, 1983)

Ukoliko se posmatra sa druge strane, prema grafikonu 3-3, u svim morfološkim fazama istog uzorka, lišće ima konstantnu hranljivu vrednost. Sa druge strane, hranljiva vrednost stabla različitih morfoloških faza se razlikovala u okviru istog uzorka (Kalu and Fick, 1983). Na grafikonu 3-4 svaka linija bi teoretski predstavljala uzorak različite starosti u danima, tačke na liniji označavaju % IVTD, NDF, ADF i lignina u određenoj morfološkoj fazi tog uzorka. Može se primetiti da je lišće u svim morfološkim fazama imalo istu svarljivost (IVTD) kao i istu količinu NDF, ADF i lignina. U slučaju NDF može se primetiti da je kod uzorka u starosti od 95 dana došlo do raslojavanja između prisutnih morfoloških faza. Ovo verovatno predstavlja posledicu prisustva podrasta, odnosno pojave mlađih biljaka u starijem biljnom materijalu.



Grafikon 3-4. Prikaz promena IVTD, NDF, ADF i lignina (% SM) stabla i lišća po morfološkim fazama u uzorcima iste starosti u danima (Kalu and Fick, 1983)

Prikazane promene u stablu se odražavaju i na hranljivu vrednost cele biljke (Grafikon 3-5). Na grafikonu 3-5 su prikazane promene NDF i lignina u lišću i stablu

paralelno sa prikazom promena u celoj biljci. Iako lišće u svim fazama ima istu količinu NDF i lignina, smanjenje udela lišća (Grafikon 3-6) se odvija na račun povećanja udela stabla što predstavlja razlog promena u celoj biljci (Grafikon 3-5).



Grafikon 3-5. Uporedni prikaz promena NDF i lignina (% SM) po morfološkim fazama u stablu, lišću i celoj biljci lucerke (Kalu *et al.*, 1990)



Grafikon 3-6. Promene procenta lišća po morfološkim fazama u različitoj starosti u danima (Kalu *et al.*, 1988)

### **3.4 METODE ZA PREDVIĐANJE HRANLJIVE VREDNOSTI** LUCERKE NA POLJU

Značaj kabaste hrane u intenzivnoj proizvodnji preživara, je vrlo veliki. Kod krava sa visokom dnevnom proizvodnjom mleka drastično povećanje ukupnih potreba po pravilu dovodi do smanjenja udela kabastih hraniva na račun koncentrovanih. U takvim obrocima kabasta hraniva moraju biti veoma kvalitetna pošto u obrok ulaze u vrlo ograničenoj količini. Sa druge strane, kalkulacije sa kvalitetom kabaste hrane na njivi, su vrlo teške (Mueller, 1994). U odnosu na koncentrovana, kabasta hraniva su mnogo varijabilnija po kvalitetu, što dovodi do problema pri sastavljanju adekvatnih obroka za visoku proizvodnju (Mueller, 1994). Zbog svega navedenog, procena hranljive vrednosti lucerke na njivi kao i manipulacije sa njom (kalkulisanja sa vremenom košenja), su vrlo značajni u uslovima intenzivne proizvodnje.

Ako bi se gubici koji nastaju nakon košenja lucerke eliminisali (gubici nastali radom enzima, gubici u listu...), hranljiva vrednost dobijenih hraniva (seno, silaža, silaža od provenute mase – senaža, lucerkino brašno...) zavisi prvenstveno od momenta košenja, odnosno hranljive vrednosti lucerke u momentu košenja. Najtačniji uvid u hranljivu vrednost lucerke na polju pruža standardna hemijska analiza. Iz perspektive ratarske proizvodnje, odnosno manipulacija sa momentom košenja, sve laboratorijske analize su skoro u potpunosti nepraktične. Vreme potrebno za laboratorijske analize kao i njihova cena čini osnovni problem primene ove metode. Sa druge strane, NIRS tehnologija kao eventualna zamena hemijskim analizama ima prednost zbog njene brzine, međutim cena ovih aparata je još uvek veoma visoka. Tačnost NIRS zavisi od adekvatne kalibracije, što takođe može predstavljati ograničenje. Iako je sama NIRS analiza veoma brza, često ova tehnologija zahteva sušenje i mlevenje uzoraka, što vremenski interval potreban za analizu produžava i na nekoliko dana.

Upotreba različitih parametara zasnovanih na morfologiji biljaka ili nekim klimatskim parametrima, ima prednost zbog jednostavne primene kao i zbog odsustva materijalnih sredstava za primenu ovih metoda. Veliki broj istraživača je prikazao različite matematičke modele zasnovane na ovim parametrima. Većina ovih modela je pokazala prihvatljivu tačnost, kao i mogućnost za korišćenje u praktičnim uslovima.

#### 3.4.1 Srednja morfološka faza kao parametar za predviđanje hranljive vrednosti

Zrelost (eng. maturity) lucerke u momentu košenja ima najveći uticaj na kvalitet kabaste hrane i predstavlja promenljivu koja se najlakše kontroliše od strane uzgajivača (Mueller, 1994). Morfološka faza je najvećim delom rezultat kumulativnog efekta okoline na lucerku, što objašnjava zbog čega ona predstavlja dobar parametar za predviđanje (Mueller, 1994). Veliki potencijal srednje morfološke faze kao parametra za predviđanje je prikazan još u prvom radu koji su objavili Kalu and Fick (1981). Prema ovim autorima, njihovi rezultati su trebali samo da prikažu kapacitet MSW za predviđanje pojedinih parametara kvaliteta lucerke. U radu Hintz and Albrecht (1991) ispitivano je više, kako oni kažu, deskriptora zrelosti biljke lucerke uključujući i MSW i MSC. Regresione jednačine bazirane na MSW i MSC su imale najniži RMSE u odnosu na sve druge ispitivane deskriptore zrelosti biljaka (Hintz and Albrecht, 1991). U istraživanju Fick and Onstad (1988) osim MSW ispitani su i drugi parametri za predviđanje: hronološka starost lucerke u danima, količina svetlosti primljena od strane biljke, geografska dužina mesta gde se vrši uzorkovanje, suma dnevnih temperatura, procenat lišća. Na osnovu poređenja svih ispitanih parametara za predviđanje, Fick and Onstad (1988) su zaključili da MSW predstavlja najvažniju nezavisnu varijablu za predviđanje kvaliteta lucerke. Sanderson and Wedin (1989) navode da su Fick and Onstad (1988) istakli da je MSW najbolji parametar zato što on uključuje faktore okoline, morfološke faktore i fiziološke faktore koji utiču na kvalitet lucerke. Fick and Onstad (1988) i Fick et al. (1994) ističu da je Kalu u svojoj disertaciji zaključio da MSW integriše celokupnu istoriju svih faktora okruženja koji utiču na kvalitet lucerke. Ipak, Fick and Onstad (1988) zaključuju da nije sasvim jasno zbog čega je MSW najbolji parametar za predviđanje. Prema njima morfološka faza i hranljiva vrednost su zavisne od uslova okoline, odnosno istih uslova koji utiču MSW vrednost. Takođe, oni ističu da su uslovi okoline integrisani u MSW.

U literaturi je prisutan relativno ograničen broj istraživanja u kojima su na osnovu srednjih morfoloških faza izračunate regresione funkcije za određene hemijske parametre i svarljivost. U tabelama 3-3, 3-4, 3-5, 3-6 i 3-7 su prikazane jednačine za procenu udela SP, *in vitro* prave svarljivosti (IVTD), NDF, ADF i ADL u biljci lucerke. Svaka tabela obuhvata jednačine za procenu jednog od navedenih parametara, dostupne

iz literature. U navedenim tabelama su obrađena samo istraživanja u kojima su na osnovu srednjih morfoloških faza izvedene jednačine za procenu pojedinih parametara hranljive vrednosti u celoj biljci lucerke. Prikazane jednačine obuhvataju istraživanja Kalu and Fick (1981, 1983), Fick and Onstad (1988), Hintz and Albrecht (1991), Sanderson and Wedin (1989) i Griffin et al. (1994). Osim navedenih, neka istraživanja (Sanderson and Wedin, 1988) su imala za cilj da se na osnovu MSW proceni količina pojedinih hemijskih parametara u stablu ili lišću lucerke. Zbog metodoloških specifičnosti u daljem delu teksta po hronološkom redosledu će zasebno biti obrađena sva istraživanja pomenuta u tabelama od 3-3 do 3-7.

Među prikazanim jednačinama (Tabele od 3-3 do 3-7) samo jednačine Kalu i Fick (1983), Fick and Onstad (1988) i Hintz and Albrecht (1991) su u punom smislu reči jednačine za predviđanje. Jednačine Kalu and Fick (1981) su imale za cilj samo da prikažu potencijalnu mogućnost predviđanja parametara hranljive vrednosti na osnovu srednje morfološke faze. Sa druge strane, jednačine Sanderson and Wedin (1989) i Griffin *et al.* (1994) su izvedene sa ciljem prikaza tendencija pojedinih parametara hranljive vrednosti tokom vegetacije.

Br jodn	Otkos	Godina <sup>a</sup>	n	Iednačina	$\mathbf{P}^2$	PMSE
DI. jeun.	OIKUS	Gouilla	п	Jednaema	K	RWISE
Kalu and Fick (1981)						
[3-3]	II-IV	1975	11	SP (%) = 40,89 - 7,38 × MSW + 0,57 × MSW <sup>2</sup>	0,995	0,223 <sup>b</sup>
Ka	ilu and l	Fick (1983)				
[3-4]	<b>1</b> 7:¥ -	1980	11	$SP(\%) = 36,64 - 6,32 \times MSW + 0,51 \times MSW^{2}$	0,963	0,414 <sup>b</sup>
[3-5]	vise	1981	13	SP (%) = $32,63 - 3,40 \times MSW + 0,03 \times MSW^2$	0,820	0,748 <sup>b</sup>
[3-6]	otkosa	$\Sigma^{c}$	35	SP (%) = $36,15 - 6,09 \times MSW + 0,48 \times MSW^2$	0,883	2,4 <sup>d</sup>
Fick and Onstad (1988) <sup>e</sup>						
[3-7]	I-III	'80. i '82.	43	SP (%) = $37,1 - 7,58 \times MSW + 0,760 \times MSW^2$	0,64	2,74
Hi	intz and	Albrecht (1	1 <b>991</b> ) <sup>f</sup>			
[3-8]	I-IV	'88. i '89.	540	$SP (g/kgSM) = 307,8 - 57,8 \times MSW + 5,48 \times MSW^{2}$	0,74	21,6
[3-9]	I-IV	'88. i '89.	540	SP (g/kgSM) = $313,3 - 44,6 \times MSC + 3,22 \times MSC^2$	0,71	23,2
Gr	riffin et d	al. (1994)				
[3-10]	[ other	1991	24	SP (g/kgSM) = $336.5 - 62.1 \times MSW + 5.4 \times MSW^2$	0,98	Nije
[3-11]	lotkos	1992	24	SP (g/kgSM) = 394,0 - 82,0 × MSW + 7,1 × MSW <sup>2</sup>	0,98	naveden
[3-12]	<b>T</b> 1	1991	24	SP (g/kgSM) = 284,6 - 47,1 × MSW + $5,5 \times MSW^2$	0,52	Nije
[3-13]	li otkos	1992	16	SP (g/kgSM) = $362,3 - 49,7 \times MSW + 3,6 \times MSW^2$	0,97	naveden

Tabela 3-3. Jednačine za procenu količine SP u biljci lucerke prema različitim autorima

<sup>a</sup> Godina u kojoj su sakupljeni uzorci u navedenom istraživanju

<sup>b</sup> Standardna greška predviđene Y vrednosti pri x (SEy), navedena u radu Kalu and Fick (1983)

<sup>c</sup>  $\Sigma$  - jednačina izvedena za uzorke sakupljene u istraživanjima Kalu and Fick (1981, 1983)

<sup>d</sup> RMSE naveden u radu Fick and Onstad (1988)

<sup>e</sup> Jednačina izvedena na osnovu uzoraka iz 6 američkih saveznih država, uzorci sakupljeni 1980. i 1982.

<sup>f</sup> U navedenom istraživanju uzorci su sakupljeni tokom 1988. i 1989. godine sa dve lokacije

Tabela 3-4. Jednačine za procenu *in vitro* prave svarljivosti (IVTD) i *in vitro* svarljive suve materije (IVDDM) u biljci lucerke, prema različitim autorima

Br. jedn.	Otkos	Godina <sup>a</sup>	n Jednačina	$R^2$	RMSE		
Ka	ulu and Fic	ck (1981)					
[3-14]	II-IV	1975	11 IVTD <sup>b</sup> (% SM) = 92,93 - $3,98 \times MSW$	0,984	0,377 <sup>c</sup>		
Ka	ulu and Fic	ek (1983)					
[3-15]	<b>T</b> 7. <b>v</b>	1980	11 IVTD (% SM) = 94,49 - 4,55 × MSW	0,943	0,732 <sup>c</sup>		
[3-16]	V 1Se	1981	13 IVTD (% SM) = 94,36 - 4,77 × MSW	0,942	0,494 <sup>c</sup>		
[3-17]	otkosa	$\Sigma^{d}$	35 IVTD (% SM) = 93,67 - 4,29 × MSW	0,957	1,9 <sup>e</sup>		
Fi	Fick and Onstad (1988) <sup>f</sup>						
[3-18]	I-III	'80 i '82.	42 IVTD (% SM) = 100,0 - $16,3 \times \ln(MSW + 1)$	0,70	3,15		
Sa	nderson a	nd Wedin (	<b>1989</b> ) <sup>g</sup>				
[3-19]	nepoznato	°84 i '85.	8 IVDDM <sup>h</sup> (g/kg SM) = 833 - $43 \times MSW$	0.98	13		
<sup>a</sup> Godina u	i kojoj su s	akupljeni u	zorci u navedenom istraživanju				

<sup>b</sup> Prema Kalu and Fick (1981, 1983) IVTD određena prema Goering and Van Soest (1970)

<sup>c</sup> Standardna greška predviđene Y vrednosti pri  $\bar{\mathbf{x}}$  (SEy), navedena u radu Kalu and Fick (1983)

 $d\Sigma$  - jednačina izvedena za uzorke sakupljene u istraživanjima Kalu and Fick (1981, 1983)

<sup>e</sup> RMSE naveden u radu Fick and Onstad (1988)

<sup>f</sup> Jednačina izvedena na osnovu uzoraka iz 6 američkih saveznih država, uzorci sakupljeni 1980. i 1982.

<sup>g</sup> Broj uzoraka i otkosa nije preciziran, na osnovu prikazanih grafikona pretpostavljen broj uzoraka

<sup>h</sup> Prema Sanderson and Wedin (1989) IVDDM određena prema metodi Marten and Barnes (1980)

Tabela 3-5. Jednačine za procenu količine NDF u biljci lucerke, prema različitim autorima

Br. jedn.	Otkos	Godina <sup>a</sup>	n	Jednačina	$\mathbf{R}^2$	RMSE
Ka	lu and Fi	ck (1983)	)			
[3-20]	Vixa	$1980^{b}$	11	NDF (% SM) = $19,10 + 7,89 \times MSW - 0,52 \times MSW^2$	0,988	1,151 <sup>°</sup>
[3-21]	vise	1981	13	NDF (% SM) = $21,00 + 7,39 \times MSW - 0,63 \times MSW^2$	0,927	2,589 <sup>c</sup>
[3-22]	otkosa	$\Sigma^{\mathrm{d}}$	24	NDF (% SM) = $20,62 + 8,03 \times MSW - 0,59 \times MSW^2$	0,946	2,205 <sup>c</sup>
Fi	ck and Or	nstad (198	<b>88</b> ) <sup>e</sup>			
[3-23]	I-III	'80 i '82.	43	NDF (% SM) = $13,4 + 17,7 \times \ln(MSW + 1)$	0,70	3,66
Sa	nderson a	nd Wedi	n (1	<b>989</b> ) <sup>f</sup>		
[3-24] 1	nepoznato	'84 i '85	. 8	NDF (g/kg SM) = $150 + 98 \times MSW - 6 \times MSW^2$	0.98	16
Hi	ntz and A	lbrecht (1	991	() <sup>g</sup>		
[3-25]	I-IV	'88 i '89.	540	$0NDF (g/kg SM) = 170,6 + 118,9 \times MSW - 11,94 \times MSW^{2}$	0,83	33,4
[3-26]	I-IV	'88 i '89.	540	$0NDF (g/kg SM) = 164,3 + 90,5 \times MSC - 7,17 \times MSC^{2}$	0,72	42,5
Gr	iffin et al.	(1994)				
[3-27]	Lothog	1991	24	NDF (g/kg SM) = $210,1 + 89,8 \times MSW - 6,6 \times MSW^2$	0,96	Nije
[3-28]	1 OLKOS	1992	24	NDF (g/kg SM) = $200.9 + 98.9 \times MSW - 7.8 \times MSW^2$	0,96	naveden
[3-29]	III otkos	1991	24	NDF (g/kg SM) = 290,0 + 48,8 × MSW - $4,2 \times MSW^2$	0,77	Nije
[3-30]	III OLKOS	1992	16	NDF (g/kg SM) = $247.7 + 57.0 \times MSW - 4.2 \times MSW^2$	0,96	naveden

<sup>a</sup> Godina u kojoj su sakupljeni uzorci u navedenom istraživanju

<sup>b</sup> Prema Kalu *et al.* (1990) u jednačini [3-20] koja je izvedena za 1980., regresioni parametar "c" je iznosio "-0,59" umesto prikazanih "-0,52"

<sup>c</sup> RMSE naveden u radu Kalu *et al.* (1990)

 $^{d}\Sigma$  - jednačina izvedena za uzorke iz 1980. i 1981 (Kalu and Fick, 1983)

<sup>e</sup> Jednačina izvedena na osnovu uzoraka iz 6 američkih saveznih država, uzorci sakupljeni 1980. i 1982.

<sup>f</sup> Broj uzoraka i otkosa nije preciziran, na osnovu prikazanih grafikona pretpostavljen broj uzoraka

<sup>g</sup> U navedenom istraživanju uzorci su sakupljeni tokom 1988. i 1989. godine sa dve lokacije

Br. jedn.	Otkos	Godina <sup>a</sup>	n	Jednačina	$\mathbf{R}^2$	RMSE
Ka	lu and I	Fick (1983	)			
[3-31]	Vičo	1980	11	ADF (% SM) = $16,63 + 3,75 \times MSW$	0,903	2,677 <sup>b</sup>
[3-32]	vise	1981	13	ADF (% SM) = $16,29 + 4,57 \times MSW$	0,917	2,066 <sup>b</sup>
[3-33]	otkosa	$\Sigma^{c}$	24	ADF (% SM) = $17,05 + 3,85 \times MSW$	0,899	2,498 <sup>b</sup>
Fi	ck and C	Onstad (19	<b>88)</b> <sup>d</sup>			
[3-34]	I-III	'80 i '82.	44	ADF (% SM) = $12,5 + 13,1 \times \ln(MSW + 1)$	0,70	2,91
Hi	ntz and .	Albrecht (	1991	<i>(</i> ) <sup>d</sup>		
[3-35]	I-IV	'88 i '89.	540	ADF $(g/kgSM) = 112,8 + 102,0 \times MSW - 10,89 \times MSW^{2}$	0,83	26,8
[3-36]	I-IV	'88 i '89.	540	ADF (g/kgSM) = $105,3 + 79,1 \times MSC - 6,69 \times MSC^2$	0,74	33,5
Gr	iffin et a	ıl. (1994)				
[3-37]	Ι	1991	24	ADF (g/kgSM) = $158,7 + 80,4 \times MSW - 6,1 \times MSW^2$	0,97	Nije
[3-38]	otkos	1992	24	ADF (g/kgSM) = $151,0 + 77,9 \times MSW - 5,7 \times MSW^2$	0,97	naveden
[3-39]	III	1991	24	ADF (g/kgSM) = $211.8 + 23.3 \times MSW$	0,94	Nije
[3-40]	otkos	1992	16	ADF (g/kgSM) = $170,7 + 53,6 \times MSW - 4,1 \times MSW^{2}$	0,96	naveden

Tabela 3-6. Jednačine za procenu količine ADF u biljci lucerke, prema različitim autorima

<sup>a</sup> Godina u kojoj su sakupljeni uzorci u navedenom istraživanju

<sup>b</sup> RMSE naveden u radu Kalu *et al.* (1990)

 $^{c}\Sigma$  - jednačina izvedena za uzorke iz 1980. i 1981. (Kalu and Fick, 1983)

<sup>d</sup> Jednačina izvedena na osnovu uzoraka iz 6 američkih saveznih država, uzorci sakupljeni 1980. i 1982.

<sup>e</sup> U navedenom istraživanju uzorci su sakupljeni tokom 1988. i 1989. godine sa dve lokacije

Tabela 3-7. J	ednačine za procenu	količine ADL	u biljci lucerke,	prema različitim	autorima
	1			1	

Br. jedn.	Otkos	Godina <sup>a</sup>	n	Jednačina	$R^2$	RMSE
Kal	u and Fi	ck (1983)				
[3-41]	Vixa	1980	11	ADL (% SM) = $2,37 + 1,00 \times MSW$	0,946	0,521 <sup>b</sup>
[3-42]	vise	1981	13	ADL (% SM) = $2,54 + 1,31 \times MSW$	0,852	0,818 <sup>b</sup>
[3-43]	otkosa	$\Sigma^{c}$	24	ADL (% SM) = $2,77 + 1,01 \times MSW$	0,841	0,843 <sup>b</sup>
Fich	k and On	stad (1988)	) <sup>d</sup>			
[3-44]	I-III	'80. i '82.	44	ADL (% SM) = $1,91 - 3,23 \times \ln(MSW + 1)$	0,59	0,91
Hin	tz and A	lbrecht (19	<b>91</b> ) <sup>e</sup>			
[3-45]	I-IV	'88. i '89.	540	ADL (g/kg SM) = $17,5 + 21,8 \times MSW - 1,96 \times MSW^2$	0,78	7,5
[3-46]	I-IV	'88. i '89.	540	ADL (g/kg SM) = $15,9 + 16,8 \times MSC - 1,20 \times MSC^2$	0,70	8,9

<sup>a</sup> Godina u kojoj su sakupljeni uzorci u navedenom istraživanju

<sup>b</sup> RMSE naveden u radu Kalu *et al.* (1990)

 $^{c}\Sigma$  - jednačina izvedena za uzorke iz 1980. i 1981. (Kalu and Fick, 1983)

<sup>d</sup> Jednačina izvedena na osnovu uzoraka iz 6 američkih saveznih država, uzorci sakupljeni 1980. i 1982.

<sup>e</sup> U navedenom istraživanju uzorci su sakupljeni tokom 1988. i 1989. godine sa dve lokacije

#### Kalu and Fick (1981)

Ovaj rad predstavlja inicijalno istraživanje u ovoj oblasti. Metode za određivanje srednje morfološke faze, MSW i MSC, su definisane upravo u ovom radu. Njihova ideja je bila da ukoliko je kvalitet lucerke u vezi sa njenom zrelošću, odnosno morfološkom fazom, u tom slučaju preciznim definisanjem morfološke faze se može proceniti njen hemijski sastav. Kompletno istraživanje je obuhvatilo uzorkovanje u nedeljnim intervalima od 21. maja do 1. oktobra 1975. godine (Kalu and Fick, 1981). Svi uzorci su sakupljeni u 4 ponavljanja, međutim, za

izvođenje jednačina je odabrano samo 11 uzoraka. Konkretno, uzorci u starosti od 2 nedelje (3 uzorka), 6 nedelja (5 uzoraka) i 10 nedelja (3 uzorka). Važno je istaći da su ovi uzorci bili iz različitih otkosa. Nije tačno naglašeno o kojim otkosima se radilo ali je na osnovu podataka datih u grafikonima zaključeno da se radi o tri otkosa i to najverovatnije II, III i IV otkosu.

Imajući u vidu postavku istraživanja Kalu and Fick (1981) kao i mali broj uzoraka, prikazane jednačine [3-3] i [3-14] se mogu prihvatiti samo kao linije trenda količine SP i IVTD. Od strane Kalu and Fick (1981) je takođe istaknuto da zbog ograničene prirode osnovnih podataka ove regresione jednačine moraju biti interpretirane sa opreznošću. Ove jednačine nisu bile adekvatno testirane te zbog toga ne predstavljaju generalni model za predviđanje. One prikazuju potencijalnu upotrebljivost MSW za razvoj takvog modela (Kalu and Fick, 1981).

Kalu and Fick (1983)

Kalu and Fick (1983) ističu da njihov prethodni rad iz 1981. predstavlja preliminarno istraživanje koje je nastavljeno njihovim radom. Materijal za ovaj rad su predstavljali uzorci sakupljeni tokom 1975., 1980. i 1981. godine, zbog čega su prikazane regresione jednačine izvedene za svaku godinu zasebno, kao i jednačine zbirno za sve godine istraživanja (Tabele od 3-3 do 3-7). U sve tri godine korišćena je jedna sorta lucerke zasejana na dve lokacije. Uzorkovanje 1980. i 1981. je obavljeno na istoj lokaciji, dok su uzorci iz 1975. godine sakupljeni sa druge lokacije. Uzorci iz 1975. godine predstavljaju uzorke koji su iskorišćeni za izvođenje regresija u radu Kalu and Fick (1981). Zbog toga u radu Kalu and Fick (1983) sve prikazane regresije za 1975. godinu su identične sa jednačinama iz rada Kalu and Fick (1981). Pošto analiza vlakana (NDF, ADF, ADL) nije rađena na uzorcima iz 1975., jednačine za ove parametre su izvedene samo za 1980. i 1981. godinu.

Slično prethodno istraživanju, Kalu and Fick (1983) su istakli da su zbog velike količine uzoraka analize rađene samo na uzorcima koji reprezentuju prolećni, letnji i jesenji period rasta. Pošto nije sasvim jasno koji je kriterijum primenjivan u odabiru uzoraka za izvođenje regresija, postavlja se pitanje objektivnosti prikazanih jednačina. Naime, broj uzoraka po godinama je bio relativno mali, slično kao kod Kalu and Fick (1981). Imajući u vidu da uzorci u svakoj godini reprezentuju tri otkosa, to praktično znači da je verovatno iz svakog otkosa uzimano maksimalno po 4 uzorka. Takođe, naglašeno je da je uzorcima predstavljena cela vegetacija svakog otkosa (Kalu and Fick, 1983). MSW vrednosti sakupljenih uzoraka kao i prikaz regresionih jednačina iz ovog istraživanja su dali Fick and Mueller (1989) (Grafikon 3-7). Verovatno zbog svih pomenutih razloga, Kalu and Fick (1983) su istakli da nakon ovog rada imaju više pouzdanja u korišćenje MSW kao parametra za predviđanje, ali da su buduće provere potrebne. Prema ovim autorima primena jednačina [3-6], [3-17], [3-22], [3-33] i [3-43] je moguća uz oprez. U daljim istraživanjima, ove jednačine su nazvane "Njujork jednačinama". Upotreba ovih jednačina je dalje ispitivana u istraživanjima Fick and Onstad (1988), Fick and Janson (1990). Kalu and Fick (1983) zaključuju ovo istraživanje rečima da budući rad treba da bude fokusiran na pojednostavljenje procedure potrebne za određivanje srednje morfološke faze kao i na određivanju boljih jednačina za procenu. Prema njima koncept MSW pruža preciznost koja nije moguća konvencionalnim načinom prepoznavanja faze razvoja.





Grafikon 3-7. MSW uzoraka i oblik regresionih jednačina Kalu and Fick (1983) (jednačine [3-6], [3-17], [3-22], [3-33] i [3-43]). Prema Fick and Mueller (1989)
\* \* \*

Iako su istaknuti brojni problemi eventualne primene jednačina koje su prikazali Kalu and Fick (1981, 1983) treba imati u vidu opsežnost istraživanja koja su izvedena u ovim radovima. Naime, cilj oba ova istraživanja je bio detaljno sagledavanje promena koje se dešavaju u biljkama lucerke u različitim delovima godine i uticaj ovih promena na srednju morfološku fazu. Ovakav cilj istraživanja je zahtevao kompleksniju postavku istraživanja nego što je to kasnije bilo uobičajeno. Da bi ispitali novi koncept određivanja srednje morfološke faze, Kalu and Fick (1981, 1983) su znatno usložili postavku ogleda. Povećanjem broja parcela koje su košene u različitim terminima, je postignuto da se porast MSW i MSC vrednosti isprati u mnogo više različitih vegetacionih ciklusa (otkos) nego što je to uobičajeno. Na ovaj način, je postignuto da je lucerka npr. 3. oktobra bila stara 3, 6, 9 i 12 nedelja. Zbog ovoga sa oprezom treba prihvatiti gore pomenutu konstataciju da je njihovo istraživanje bilo koncipirano u II, III i IV otkosu. Kao što je već naglašeno, Kalu and Fick (1981, 1983) nisu tačno naveli o kojim otkosima se radilo u njihovom istraživanju, ali su istakli da su istraživanjem obuhvaćeni prolećni, letnji i jesenji period rasta lucerke.

U radovima Kalu and Fick (1981, 1983), hemijskim i *in vitro* analizama su obuhvaćene ne samo promene u kompletnim uzorcima, nego i u pojedinačnim fazama svakog uzorka. Osim ovoga, ovi radovi su imali za cilj da isprate i promene u stablu i lišću biljaka u svim morfološkim fazama svih uzoraka. Ako se pretpostavi da je neki njihov uzorak imao 8 morfoloških faza, to znači da je svaka morfološka faza razdvojena na deo koji čini lišće i deo koji čini stablo, čime se dobija ukupno 16 pod uzoraka (eng. *sub samples*) u kojima su određeni SP, IVTD, NDF, ADF i ADL. Ova istraživanja su objavljena u sledećim radovima: Kalu and Fick (1981, 1983) i Kalu *et al.* (1988, 1990) kao i Fick and Onstad (1988). U ovim radovima su prikazani svi osnovni podaci, za svih 35 uzoraka, na osnovu kojih je moguće steći detaljan uvid o promenama MSW i promenama procenta lišća i stabla u zavisnosti od datuma uzorkovanja. Podaci obuhvataju i nivoe svih pet ispitivanih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti, kako u lišću i stablu, tako i u celom uzorku, pri određenim nivoima MSW.

#### Fick and Onstad (1988)

U cilju provere robusnosti MSW kao prediktora hranljive vrednosti u različitim agroekološkim uslovima, Fick and Onstad (1988) su sakupili uzorke lucerke sa

većeg broja različitih areala. Uzorci iz ovog istraživanja su sakupljeni u šest američkih saveznih država i to: Novi Meksiko (6 uzoraka), Kalifornija (4 uzorka), Džordžija (10 uzoraka), Kentaki (6 uzoraka), Njujork (10 uzoraka) i Viskonsin (9 uzoraka). Regresione jednačine dobijene u ovom istraživanju su nazvane "Nacionalnim jednačinama". Prikupljanje uzoraka je obavljeno tokom 1982. godine osim u državi Njujork gde su iskorišćeni podaci iz 1980. godine iz istraživanja Kalu and Fick (1983). U svim državama je korišćena različita sorta lucerke, a uzorkovanjem su obuhvaćena tri otkosa, osim u Džordžiji gde su ispitivana dva otkosa. Nije precizirano o koja tri otkosa se radilo. Svi uzorci su analizirani u istoj laboratoriji.

Ovo istraživanje je imalo dva cilja:

- Da se obavi validacija "Njujork jednačina" (jednačine [3-6], [3-17], [3-22], [3-33] i [3-43]) sa nezavisnim setom podataka.
- Da se izvrši kalibracija "Nacionalnih jednačina" koje bi mogle da se koriste u širem geografskom području SAD.

Pomenuti rezultati validacije "Njujork jednačina" će biti obrađeni u zasebnom delu koji će se ticati validacije različitih prikazanih jednačina. Kao što je već naglašeno, set podataka iz države Njujork je u istraživanju Kalu and Fick (1983) iskorišćen za kalibraciju jednačina iz 1980. godine što daje mogućnost direktnog poređenja ovih jednačina sa "Nacionalnim jednačinama". Jednačine koje su kalibrisane za specifičnu lokaciju (jednačine za 1980., Kalu and Fick (1983): [3-4], [3-15], [3-20], [3-31], [3-41]) su upoređene sa jednačinama za nespecifičnu lokaciju (jednačine Fick and Onstad (1989): [3-7], [3-18], [3-23], [3-34], [3-44]). U slučaju svih pet ispitivanih parametara hranljive vrednosti "Nacionalne jednačine" su imale značajno niže  $R^2$  i više RMSE. Zbog čega se može zaključiti da jednačine za predviđanje hranljive vrednosti treba izvoditi za specifičnu lokaciju ili region. Ovo je takođe potvrđeno i u istraživanjima Fick and Janson (1990) i Sanderson (1992). Sličan zaključak se može izvesti i iz podataka o validaciji "Njujork jednačina" o čemu će kasnije biti reči. Osim uticaja različitih lokacija na kojima su sakupljani uzorci, potencijalni problem pravi i činjenica da je u radu korišćeno 6 različitih sorti lucerke. U literaturi nisu pronađeni navodi o uticaju različitih sorti na rezultate kalibracije ili validacije regresionih jednačina.

#### Sanderson and Wedin (1989)

Ovo istraživanje je imalo za cilj da uporedi različitu srednju morfološku fazu kod različitih biljnih vrsta. Zbog čega ono nije bilo dovoljno opsežno da bi prikazane jednačine mogle biti posmatrane kao jednačine za predviđanje. Slično jednačinama Kalu and Fick (1981), zbog ograničenog obima uzoraka sve jednačine za procenu pomoću MSW su imale visoke R<sup>2</sup>. U radu nije navedeno o kom broju uzoraka se tačno radilo ali je na osnovu prikazanih grafikona zaključeno da je u pitanju 8 uzoraka koji su najverovatnije sakupljeni tokom dve godine istraživanja. Takođe, nije tačno navedeno o kom otkosu se radilo ali se verovatno radi o II otkosu u obe godine istraživanja.

#### Hintz and Albrecht (1991)

Ovo istraživanje je imalo za cilj da se testira 15 različitih parametara i uporedi mogućnost predviđanja hemijskog sastava pomoću ovih parametara. U ispitivane parametre su spadali MSW i MSC. Ujedno, ovde su prikazane jedine eksperimentalno utvrđene jednačine za predviđanje hemijskog sastava pomoću MSC vrednosti.

Uzorci su sakupljani tokom dve godine, sa dve lokacije. U prvoj godini uzorci su sakupljani iz dva otkosa, dok su tokom druge godine ispraćena četiri otkosa. U čitavom periodu istraživanja u ogledu je korišćeno čak pet sorti lucerke. Sakupljanje svih uzoraka je obavljeno košenjem površine od 0,4 m<sup>2</sup>. Pri uzorkovanju ova parcela je podeljena na četiri podparcele od po 0,1 m<sup>2</sup>, od čega su dve iskorišćene kao materijal za hemijske analize, jedna za određivanje morfološke faze, a jedna za utvrđivanje praćenih morfoloških parametara. To praktično znači da hemijske analize nisu rađene na istom biljnom materijalu na kom su određeni MSW i MSC. Obimnost ovog istraživanja kao i broj parametara koji su određivani na biljnom materijalu su verovatno činili osnovni razlog ovakve obrade uzoraka. Kod svih do sada obrađenih istraživanja osnovni princip je bio da isti materijal služi za određivanje morfološke faza kao i za hemijske analize. U tom smislu rad Hintz and Albrecht (1991) predstavlja izuzetak.

Prikazane jednačine ovih autora (Tabele od 3-3 do 3-7) su prema parametrima tačnosti ( $R^2$  i RMSE) slične jednačinama Fick and Onstad (1988). Kao objašnjenje se nameće činjenica da su za oba ova istraživanja uzorci sakupljani na

više lokacija i da je u ogled bilo uključeno pet odnosno šest različitih sorti lucerke. Sa druge strane, u istraživanjima Fick and Onstad (1988) i Hintz and Albrecht (1991) je korišćen najveći broj uzoraka. Broj uzoraka iz istraživanja Hintz and Albrecht (1991) je drastično veći od svih pomenutih radova. Međutim, parametre tačnosti svih jednačina Hintz and Albrecht (1991) treba uslovno prihvatiti zbog velike metodološke razlike u odnosu na do sada pomenute radove. Nameće se pitanje da li je biljni materijal na kom su rađene hemijske analize bio u istoj morfološkoj fazi? Prema saznanjima iz ove disertacije blisko pozicionirani uzorci na polju se mogu drastičnije razlikovati u utvrđenoj MSW i MSC vrednosti.

Kao što je već istaknuto, prikazane jednačine za MSC predstavljaju jedine eksperimentalno utvrđene jednačine. Sanderson (1992) je, takođe, prikazao jednačine za MSC, ali su one dobijene konverzijom MSW u MSC prema Mueller and Fick (1989). Pošto je u radu Hintz and Albrecht (1991) na istom biljnom materijalu utvrđivan MSW i MSC, ove jednačine su uporedive prema utvrđenim R<sup>2</sup> i RMSE. Kod svih hemijskih parametara (SP, NDF, ADF, ADL) jednačine za MSC su imale R<sup>2</sup> oko 0,72, sa druge strane jednačine za MSW su imale uvek više R<sup>2</sup>. Razlika između tačnosti jednačina sa MSC i MSW je bila naročito naglašena kod svih frakcija vlakana (NDF, ADF, ADL) i kretala se između 0,8 i 1,1 u korist MSW (izraženo u jedinicama R<sup>2</sup>). Na osnovu ovoga se može zaključiti da je MSW bolji prediktor od MSC. U istraživanju Allen and Fick (1990) MSC je bio ispitan u farmskim uslovima, nakon čega je potvrđeno da su jednačine sa MSC bile statistički pristrasne. Fick *et al.* (1994) i Sulc *et al.* (1997) su proširili zaključke Allen and Fick (1990) i istakli da su jednačine bile pristrasne i da su zahtevale rekalibraciju za svaki otkos.

#### Komprda et al. (1993, 1997b)

Ova dva rada su imala za cilj da ispitaju postojanje veze između MSW i: razgradivosti SP, razgradivosti OM, svarljivosti SP i svarljivosti NEL. Istraživanje Komprda *et al.* (1993) je sprovedeno u jednoj godini tokom prvog otkosa, dok je istraživanje Komprda *et al.* (1997b) sprovedeno u dve godine tokom prolećnog (I otkos) i letnjeg (II otkos) otkosa. U prvom istraživanju (Komprda *et al.* 1993), uzorkovanjima je obuhvaćena čitava vegetacija prvog otkosa, uzorci su sakupljani u nedeljnim intervalima od 9. do 109. dana vegetacije. U drugom istraživanju (Komprda *et al.* 1997b), tokom prolećnog otkosa u obe godine je sakupljeno 15 odnosno 16 uzoraka, dok je tokom letnjeg otkosa sakupljeno po 10 uzoraka u obe godine. Slično istraživanju Hintz and Albrecht (1991), u oba rada MSW nije određen na istom materijalu u kom su rađene ostale analize. Razgradivost SP i razgradivost organske materije (OM) je utvrđivana nakon *in situ* inkubacije od 24 h i to korišćenjem tri fistulisana vola. Ovakva postavka ogleda je povećala broj ponavljanja na šest, za svaki od dva utvrđivana parametra razgradivosti, zbog čega je sakupljano oko 2,1 kg zelene mase. Zbog toga je paralelno sa uzorkovanjem materijala za utvrđivanje razgradivosti košen red od 60 cm za određivanje srednje morfološke faze.

Tabela 3-8. Jednačine za procenu *in situ* razgradivosti SP i organske materije (OM), proteina svarljivog u tankom crevu (PDI), NEL prema Komprda *et al.* (1993, 1997b)<sup>a</sup>

Br. jedn.	Otkos	Godina	n	Jednačina	$R^2$	RMSE
Ke	omprd	a et al. (	199	4)		
				Utvrđeni parametri razgradivosti		
[3-47]	Ι	10 <sup>b</sup>	15	Razgradivost SP (%) = 92,3 - 2,71 $\times$ MSW	0,959	1,393 <sup>d</sup>
[3-48]	Ι	ije Jen	15	Razgradivost OM (%) <sup>c</sup> = 92,6 - 8,72 × MSW + 0,4094 × MSW <sup>2</sup>	0,983	1,808 <sup>d</sup>
		Vec N		Parametri izračunati na osnovu razgradivosti		
[3-49]	Ι	na	15	PDI (g/kg SM) = $95,5 - 3,27 \times MSW$	0,925	2,323 <sup>d</sup>
[3-50]	Ι		15	NEL $(MJ/kg SM)^{c} = 8,7 - 0,91 \times MSW + 0,0400 \times MSW^{2}$	0,989	0,155 <sup>d</sup>
Ke	omprd	a et al. (	199	(7 <i>b</i> )		
				Utvrđeni parametri razgradivosti		
[3-51]	Ι		31	Razgradivost SP (%) = 90,7 - 2,45 × MSW	0,84	
[3-52]	II	ne ima	20	Razgradivost SP (%) = $87,5 - 1,50 \times MSW$	0,54	_
[3-53]	Ι	iibc	31	Razgradivost OM (%) = $86.8 - 5.51 \times MSW$	0,95	zan
[3-54]	II	e ge otl	20	Razgradivost OM (%) = $81,0 - 4,26 \times MSW$	0,88	ika
		i pc		Parametri izračunati na osnovu razgradivosti		e pr
[3-55]	Ι	ci iz ijen	31	PDI (g/kg SM) = $100,2 - 4,38 \times MSW$	0,73	Nij
[3-56]	II	oda( edir	20	PDI (g/kg SM) = 99,5 - 4,01 × MSW	0,74	_
[3-57]	Ι	P( obj	31	NEL (MJ/kg SM) = $8,6 - 0,62 \times MSW$	0,95	
[3-58]	II	•	20	NEL (MJ/kg SM) = 7,5 - 0,44 $\times$ MSW	0,86	
an ra		1 , 1 ,	100	(10071) DDL: $(1000)$ ME	· ~	

<sup>a</sup>Prema Komprda et al. (1993, 1997b), PDI izračunat prema Verité and Peyraud (1988), NEL izračunat prema Vencl (1990).

<sup>b</sup>Nije navedena tačna godina u kojoj su sakupljeni uzorci ali svi uzorci su sakupljeni tokom iste godine <sup>c</sup>Na osnovu provere prikazanih osnovnih podataka u radu Komprda *et al.* (1993), utvrđene su jednačine sa drugačijim regresionim parametrima. Razgradivost OM (%) =  $90,6 - 8,72 \times MSW + 0,4094 \times MSW^2$ ; NEL (MJ/kg SM) =  $8,7 - 0.92 \times MSW + 0.0413 \times MSW^2$ 

<sup>d</sup>Prakazane vrednosti za RMSE su dobijene na osnovu obračuna podataka prikazanih u radu Komprda *et al.* (1993)

Jednačine utvrđene u oba istraživanja su prikazane u tabeli 3-8. Zbog relativno manjeg broja uzoraka ove jednačine se mogu posmatrati kao trendovi, a ne kao jednačine za procenu hemijskog sastava u biljci lucerke. Protein svarljiv u tankom crevu i NEL su određeni upotrebom eksperimentalno utvrđene razgradivosti SP i OM. Sve jednačine izvedene za II otkos su imale manje  $R^2$  od jednačina za I otkos. Primetno je i da su  $R^2$  svih parametara hranljive vrednosti u drugom istraživanju (Komprda *et al.* 1997b) bili niži od prikazanih u radu Komprda *et al.* (1993). Drugo istraživanje obuhvatilo rezultate iz dve godine i nisu utvrđene statistički značajne razlike između istih otkosa iz različitih godina i to u slučaju razgradivosti SP, razgradivosti OM i NEL. Međutim, i pored ovoga evidentan je uticaj godine na smanjenje tačnosti jednačina izvedenih za višegodišnja istraživanja. U okviru iste godine u odnosu na količinu NEL su utvrđene statistički značajne razlike između prolećnog i letnjeg otkosa, (Komprda *et al.* 1997b).



Početak vegetacije 1. april (prilagođeno prema podacima Komprda et al. 1993)

Vrlo visok procenat objašnjene varijabilnosti ( $\mathbb{R}^2$ ), nagoveštava da se MSW može koristiti kao parametar za predviđanje razgradivosti i neto energije (NE). Međutim, vrlo visoki  $\mathbb{R}^2$  za NEL su verovatno posledica ograničenog broja uzoraka. Uticaj malog broja uzoraka se može videti na primeru dinamike uzorkovanja i porasta MSW vrednosti tokom istraživanja Komprda *et al.* (1993) (Grafikon 3-8). Ukoliko se posmatra u okviru jednog otkosa, uzorci su bili ravnomerno raspoređeni zbog čega se može reći da je čitav otkos bio adekvatno sagledan (Grafikon 3-8). Sa druge strane, evidentno je da se svi uzorci razlikuju po utvrđenom MSW. Vremenski interval od nedelju dana između dva uzorkovanja je bio dovoljan da obezbedi ravnomeran porast MSW vrednosti. Zbog svega

navedenog, ni jedan uzorak nije imao sličan MSW, što je dovelo do linearnog porasta svih utvrđivanih parametara hranljive vrednosti (Grafikon 3-8).

Kao i u istraživanju Hintz and Albrecht (1991), rezultate iz oba ova istraživanja treba uslovno prihvatiti pošto analize razgradivosti nisu rađene na istom materijalu u kom je utvrđivana MSW vrednost.

#### Griffin et al. (1994)

U ovom istraživanju tokom 1991. i 1992. godine su ispraćeni I i III otkos. Tokom svake godine praćene su četiri sorte lucerke. U drugoj godini jedna sorta je zamenjena drugom, tako da je tokom ispitivanja korišćeno ukupno pet sorti lucerke. Uzorkovanja su vršena u po šest termina tokom vegetacije svakog otkosa, osim u III otkosu 1992. kada je uzorkovanje obavljeno u četiri termina. Tokom svakog termina uzorkovane su sve četiri ispitivane sorte. Košenjem površine od  $0.5 \text{ m}^2$  je sakupljan biljni materijal nakon čega je iz takvog uzorka nasumično odabrano 100 stabljika na osnovu kojih je određen MSW. Nakon odvajanja 100 stabljika za određivanje MSW, preostali deo uzorka je sušen i iz njega su rađene hemijske analize. Dakle, i u ovom radu MSW nije određen na istom biljnom materijalu koji je iskorišćen za hemijske analize. Za razliku od Hintz and Albrecht (1991) i Komprda et al. (1993), u ovom istraživanju, materijal za određivanje srednje morfološke faze nije bio u potpunosti odvojen od materijala na kom su vršene ostale analize, što predstavlja prednost u odnosu na pomenute radove. Sa druge strane, postavlja se pitanje reprezentativnosti odabranih stabljika za određivanje MSW.

Skoro sve prikazane regresione funkcije u ovom istraživanju (Tabele 3-3, 3-5, 3-6) su imale visoke  $\mathbb{R}^2$ . Utvrđene vrednosti  $\mathbb{R}^2$  treba posmatrati iz svetla ispitanog broja uzoraka. Otkosi su ispraćeni kroz šest termina za uzorkovanje što je relativno malo, imajući u vidu da I otkos po pravilu traje preko 100 dana. Zbog praćenja četiri sorte lucerke dobijen je broj od 24 uzorka (svaka sorta po 6 uzoraka) u I otkosu.

Osim trendova za osnovne hemijske parametre (Tabele 3-3, 3-5, 3-6) u tabeli 3-9 su prikazane i sve ostale jednačine iz ovog istraživanja. Prikazani su trendovi za *in situ* razgradivost suve materije (ISDMD), azot nerastvorljiv u neutralnom deterdžentu (NDIN), azot nerastvorljiv u kiselom deterdžentu (ADIN), *in situ*  određen nerazgradivi protein (EP), *in situ* određen nerazgradivi protein izražen u

SP (EPCP), *in situ* određen nerazgradivi protein umanjen za ADICP (net EP).

Tabela 3-9. Jednačine za procenu *in situ* razgradivosti suve materije (ISDMD), azota nerastvorljivog u neutralnom deterdžentu (NDIN), azota nerastvorljivog u kiselom deterdžentu (ADIN), *in situ* određenog nerazgradivog proteina (EP), *in situ* određenog nerazgradivog proteina izraženog u SP (EPCP), *in situ* određenog nerazgradivog proteina umanjenog za ADICP (net EP) u biljci lucerke, prema Griffin *et al.* (1994)

Br. jedn.	Otkos	Godina <sup>a</sup>	n	Jednačina	$\mathbf{R}^2$	RMSE
[3-59]	Lothog	1991	24	ISDMD (g/kg SM) = 927,4 - $85,5 \times MSW + 5,4 \times MSW^2$	0,96	Nije
[3-60]	1 Otkos	1992	24	ISDMD (g/kg SM) = 907,6 - $84,6 \times MSW + 5,9 \times MSW^2$	0,96	naveden
[3-61]	III othog	1991	24	ISDMD (g/kg SM) = $876,7 - 52,4 \times MSW + 3,8 \times MSW^2$	0,94	Nije
[3-62]	III Otkos	1992	16	ISDMD (g/kg SM) = 817,7 - 22,0 × MSW	0,88	naveden
[3-63]	Lotkos	1991	24	NDIN (g/kg SP) = $52,5 + 28,0 \times MSW$	0,89	Nije
[3-64]	1 01803	1992	24	NDIN $(g/kg SP) = 72,5 + 6,4 \times MSW$	0,66	naveden
[3-65]	III otkos	1991	24	NDIN (g/kg SP) = $71,6 + 18,8 \times MSW - 2,4 \times MSW^2$	0,29	Nije
[3-66]	III Otkos	1992	16	NDIN (g/kg SP) = $76,6 + 27,2 \times MSW - 3,3 \times MSW^2$	0,74	naveden
				2		
[3-67]	Lotkos	1991	24	ADIN (g/kg SP) = $20,2 + 11,1 \times MSW - 0,5 \times MSW^2$	0,96	Nije
[3-68]	1 01803	1992	24	ADIN $(g/kg SP) = 20,9 + 10,2 \times MSW - 0,4 \times MSW^2$	0,95	naveden
[3-69]	III otkos	1991	24	ADIN (g/kg SP) = $36.9 + 3.8 \times MSW$	0,68	Nije
[3-70]	III Otkos	1992	16	ADIN (g/kg SP) = $22,2 + 11,9 \times MSW - 1,1 \times MSW^2$	0,92	naveden
[3-71]	Lotkos	1991	24	$EP (g/kg SM) = 8,9 + 2,8 \times MSW$	0,85	Nije
[3-72]	TOIKUS	1992	24	EP (g/kg SM) = nije značajna	-	naveden
[3-73]	III otkos	1991	24	$EP (g/kg SM) = 13,2 + 1,2 \times MSW$	0,70	Nije
[3-74]	III Otkos	1992	16	EP (g/kg SM) = $29,9 - 2,2 \times MSW$	0,57	naveden
[3-75]	I otkos	1991	24	EPCP (g/kg SP) = $20,1 + 23,0 \times MSW$	0,93	Nije
[3-76]		1992	24	EPCP (g/kg SP) = $48,2 + 10,3 \times MSW$	0,76	naveden
[3-77]	III otkos	1991	24	EPCP (g/kg SP) = $54,8 + 8,6 \times MSW$	0,64	Nije
[3-78]	III OIKOS	1992	16	EPCP (g/kg SP) = nije značajna	-	naveden
[3-79]	Lotkos	1991	24	net EP (g/kg SP) = $-3.7 + 15.5 \times MSW$	0,86	Nije
[3-80]	1 0 11 0 0	1992	24	net EP (g/kg SP) = $24,5 + 3,1 \times MSW$	0,23	naveden
[3-81]	III otkoa	1991	24	net EP (g/kg SP) = $17,9 + 4,7 \times MSW$	0,55	Nije
[3-82]		1992	16	net EP (g/kg SP) = 56,2 - 4,0 × MSW	0,26	naveden

<sup>a</sup> Godina u kojoj su sakupljeni uzorci u navedenom istraživanju

Slično rezultatima Komprda *et al.* (1993), razgradivost OM i razgradivost SM se pokazala visoko zavisna od zrelosti lucerke izražene MSW. Na osnovu rezultata mnogih autora za MSW bi se moglo reći da je on visoko povezan sa svarljivošću (Kalu and Fick, 1981, 1983; Sanderson and Wedin, 1989) i razgradivošću (Komprda *et al.* 1993; Griffin *et al.* 1994). Nasuprot tome razgradivost SP u buragu, izražena pomoću EP, EPCP i net EP, je bila varijabilno korelisana sa

MSW (Tabela 3-9). Deo proteina nerastvorljiv u neutralnom i kiselom deterdžentu je prema Sniffen *et al.* (1992) važan pokazatelj razgradivosti proteina. Ova proteinska frakcija je u istraživanju Griffin *et al.* (1994) bila izražena sa NDIN i ADIN. Slično EP i NDIN je bio slabo povezan sa MSW dok je ADIN, osim u III otkosu 1992. godine, bio visoko zavisan od MSW. Izražena je sumnja da se košenjem može uticati na EP, pošto se manje povećanje može očekivati sa odlaganjem košenja, ali na račun povećanja NDF i ADF i smanjenja SP, odnosno ISDMD.

Rad Griffin *et al.* (1994) predstavlja prvo istraživanje u kome su jednačine za predviđanje razvijene zasebno za različite otkose. Analiza varijanse je potvrdila značaj uticaj otkosa u slučaju svih ispitivanih parametara, zbog čega su regresije razvijene zasebno za otkose. Prema Griffin *et al.* (1994), Sanderson and Wedin (1988) i Allen *et al.* (1991) su, takođe, prikazali uticaj otkosa na ćelijski zid lucerke, dok Kalu and Fick (1981, 1983), Onstad and Fick (1983) nisu pronašli razlike između otkosa. Griffin *et al.* (1994) ističu da je načelno gledano smanjenje hranljive vrednosti sporije tokom III otkosa nego tokom I otkosa. ADF i ADIN su bili viši na početku vegetacije i niži na kraju u letnjem nego u prolećnom otkosu. Nasuprot ovoj tvrdnji, Fick and Onstad (1988) nisu utvrdili razlike između jednačina izvedenih za prvi i naredne otkose. Nije sasvim jasno na osnovu čega je izneta ova tvrdnja, pošto rezultati testiranja jednačina u različitim otkosima nisu dalje obrazlagani. Osim analize varijanse, slično istraživanju Komprda *et al.* (1997b), regresionom analizom je utvrđena razlika između I i III otkosa. Naime, u obe godine je treći otkos po pravilu imao niže R<sup>2</sup> od prvog.

Kod većine parametara jednačine iz 1992. godine su često imale niže R<sup>2</sup>, što je objašnjeno činjenicom da su uslovi tokom ove godine bili neuobičajeno hladni i sa mnogo padavina (Griffin *et al.* 1994). Ovo nagoveštava mogućnost da procenat objašnjene varijabilnosti hranljive vrednosti lucerke pomoću MSW, može biti uslovljen hladnim vremenskim prilikama. Razlike između ispitivanih sorti prema hemijskim parametrima su analizirane zasebno za svaku ispitivanu godinu kao i objedinjeno za obe godine. Nijedna od praćenih sorti se nije razlikovala od drugih tokom obe praćene godine. Manje razlike između ispitivanih sorti su utvrđene kod ISDMD tokom 1991., SP tokom 1992. i ADIN tokom 1991. godine.

#### 3.4.1.1 Validacija jednačina zasnovanih na srednjoj morfološkoj fazi

Validacija jednačina podrazumeva utvrđivanje greške neke jednačine na uzorcima koji su u potpunosti nezavisni od uzoraka kojim je izvršena kalibracija te jednačine. Drugim rečima, validacija predstavlja proveru jednačine sa nezavisnim uzorcima. U slučaju srednje morfološke faze kao parametra za predviđanje, objavljene jednačine su bile predmet validacije u sledećim istraživanjima: Fick and Onstad (1988), Fick and Janson (1990) i Sanderson (1992). Pri validaciji modela, RMSE predstavlja grešku predviđanja (Fick and Onstad 1988). U svim pomenutim radovima validacija je izvršena stavljanjem u odnos procenjene i stvarno utvrđene količine parametra u uzorku koji se procenjuje. Za ova dva niza podataka je utvrđena linearna jednačina oblika  $y_i = a + b \times \hat{y}_i$ , pri čemu je:

y<sub>i</sub> – količina parametra hranljive vrednosti u uzorku dobijena laboratorijski;

 $\hat{y}_i$  – procenjena količina parametra hranljive vrednosti u uzorku dobijena pomoću jednačine koja se proverava;

*i* – redni broj uzoraka kojim se vrši validacija;

*a* i *b* – su regresioni parametri.

U idealnom slučaju je a = 0 i b = 1, dok bi R<sup>2</sup> bio 1, zbog čega se statističkom analizom proverava da li su ovi regresioni koeficijenti statistički značajno različiti od "0" i "1". Grafički predstavljeno navedena regresiona jednačina bi počinjala iz koordinatnog početka i bila pozicionirana pod uglom od 45°. Svako odstupanje od ugla od 45° se smatra statističkom pristrasnošću.

Kao što je već pomenuto, jedan od ciljeva u radu Fick and Onstad (1988) je bio da se "Njujork jednačine" (Kalu and Fick, 1983) provere pomoću uzoraka sakupljenih u šest američkih saveznih država. Rezultati ove validacije su prikazani u tabeli 3-10. Jednačine Kalu and Fick (1983) su se pokazale statistički nepristrasne, uz prihvatljivu tačnost (Fick and Onstad, 1988). Greška ovih jednačina (RMSE) je bila nešto veća nego što je bila greška kalibracije. Ovo znači da je, na primer, SP u uzorcima sakupljenim iz šest američkih saveznih država procenjen sa greškom od  $\pm$  2,76 % SM. Praktično, navedena greška predstavlja grešku jednačine [3-6] po Kalu and Fick (1983).

U istraživanju Fick and Janson (1990) uzorci za validaciju su gajeni u laboratorijskim uslovima pod kontrolisanim svetlosnim režimom i temperaturom. Na

ovaj način su dobijeni potpuno nezavisni uzorci za validaciju i poređenje tačnosti jednačina Kalu and Fick (1983) i Fick and Onstad (1990). Prikazani podaci validacije (Tabela 3-10) pokazuju da su oba seta jednačina imala vrlo sličnu grešku.

Derinder	Ka	alibracija		Validacija				
DI. jeuli.	Parametar	$R^2$	RMSE <sup>a</sup>	n	$R^2$	RMSE <sup>b</sup>	Nepristrasnost <sup>c</sup>	
	Kalu and Fick (1983)				and Onst	ad (1988)		
[3-6]	SP	0,883	2,4	43	0,62	2,76	+	
[3-17]	IVTD	0,957	1,9	42	0,67	3,31	+	
[3-22]	NDF	0,946	2,205	43	0,71	3,64	+	
[3-33]	ADF	0,899	2,498	44	0,68	2,99	+	
[3-43]	ADL	0,841	0,843	44	0,59	0,92	+	
	<u>Kalu ar</u>	nd Fick (1	198 <u>3)</u>	Fick of	and Jans	on (1990)		
[3-6]	SP	0,883	2,4	33	0,61	21,6	-	
[3-17]	IVTD	0,957	1,9	33	0,86	21,8	-	
[3-22]	NDF	0,946	2,205	30	0,63	38,3	-	
[3-33]	ADF	0,899	2,498	30	0,74	23,8	-	
[3-43]	ADL	0,841	0,843	30	0,6	8,3	-	
	<u>Fick and</u>	Onstad	<u>(1988)</u>	Fick of	and Jans	<u>on (1990)</u>		
[3-7]	SP	0,64	2,74	33	0,62	21,4	-	
[3-18]	IVTD	0,70	3,15	33	0,89	19,7	-	
[3-23]	NDF	0,70	3,66	30	0,61	38,9	-	
[3-34]	ADF	0,70	2,91	30	0,78	21,8	-	
[3-44]	ADL	0,59	0,91	30	0,67	7,6	+	
	<u>Fick and Onstad (1988)</u>			<u>Sa</u>	nderson	<u>(1992)</u>		
			<u>Ajova 198</u>	<u>34., 1985.</u>				
[3-7]	SP	0,64	2,74	16	0,73	21,1	+	
[3-23]	NDF	0,70	3,66	16	0,94	18,4	-	
[3-34]	ADF	0,70	2,91	16	0,94	13,2	-	
<u>Teksas 1 1989., 1990.</u>								
[3-18]	IVTD	0,70	3,15	829	0,49	46,9	-	
[3-23]	NDF	0,70	3,66	829	0,60	45,1	+	
<b>FR</b> 4.0-			Teksas 2 19	<u>980., 1990.</u>				
[3-18]	IVTD	0,70	3,15	164	0,64	42,5	+	
[3-23]	NDF	0,70	3,66	164	0,74	39,5	-	

Tabela 3-10. Prikaz rezultata validacije jednačina Kalu and Fick (1983) i Fick and Onstad (1988) prema različitim autorima.

<sup>a</sup> RMSE u kalibraciji izražen kao % SM.

<sup>b</sup> Prikazane su originalno date vrednosti RMSE. U validaciji kod Fick and Onstad (1988) RMSE je izražen kao % SM, a kod Fick and Janson (1990) i Sanderson (1992) izražen u g/kg SM. Za prevođenje % SM u g/kg SM vrednosti treba pomnožiti, odnosno podeliti, sa 10.

<sup>c</sup> Statistička nepristrasnost jednačine označena sa "+", pristrasnost označena sa "-"

Načelno gledano, nešto viši R<sup>2</sup> i niži RMSE su imale jednačine Fick and Onstad (1988), što ukazuje na njihovu veću tačnost. Osim u slučaju NDF, u odnosu na validaciju Fick and Onstad (1988), Fick and Janson (1990) su dobili više R<sup>2</sup> i niže RMSE za "Njujork jednačina". Fick and Janson (1990) ukazuju na razliku u obliku "Njujork i nacionalnih jednačina", koja može predstavljati razlog zbog čega su "Nacionalne jednačine" bile robusnije. Naime, kao što se može videti (Tabele od 3-3 do

3-7) "Nacionalne jednačine" su imale kvadratni i logaritamski oblik, dok su "Njujork jednačine" imale kvadratni i linearni oblik. Ovi podaci ukazuju da logaritamske forme MSW jednačina mogu biti tačnije od drugih formi, ali su prema Fick and Janson (1990) neophodna dalja istraživanja. Kako ističu ovi autori mnoge od testiranih jednačina su imale manje validacione RMSE od kalibracionih, osim u slučaju NDF. Razlog za povećanje RMSE kod NDF, u validaciji, nije poznat (Fick and Janson, 1990). Za razliku od Fick and Onstad (1988) sve testirane jednačine, osim [3-44], su bile statistički pristrasne, pošto se koeficijent "a" značajno razlikovao od 0, a koeficijent "b" od 1. Fick and Janson (1990) su dali grafički prikaz validacije prema kom bi se idealni model poklapao sa linijom 1:1 (Grafikon 3-9). Iako su markeri na grafikonu pozicionirani blizu linije, pristrasnost se ogleda u činjenici da su markeri asimetrično postavljeni u odnosu na liniju (Fick and Janson, 1990).



Grafikon 3-9. Predviđeni NDF i IVTD pomoću "Nacionalnih jednačina" [3-23] i [3-18]. 1:1 linija prikazuje idealno predviđanje. Prilagođeno prema Fick and Janson (1994)

Prema Fick and Janson (1990) pronađena pristrasnost ukazuje na ograničenja MSW pristupa u predviđanju hranljive vrednosti, međutim postoje neki nagoveštaji da MSW modeli mogu biti poboljšani. Ovi autori naglašavaju da kalibracioni podaci za "Njujork jednačine" obuhvataju tri godine, tri starosti useva, dva tipa zemljišta i jednu sortu. Takođe, "Nacionalni" set podataka je pokrivao šest sorti i tipova zemljišta uključujući različite agroekološke uslove. Sa druge strane, uzorci iz ovog istraživanja su gajeni u uslovima sa veoma malo varijabilnosti. Fick and Janson (1990) zaključuju da, generalno gledano, izgleda da je veličina greške predviđanja u korelaciji sa

varijabilnošću uzoraka za testiranje. Bolja procena greške predviđanja i eliminisanja statističke pristrasnosti bi bila moguća razvojem regionalnih modela i njihovim testiranjem sa uzorcima iz istog regiona.

Sanderson (1992) je testirao "Nacionalne jednačine" pomoću uzoraka koji su sakupljeni u dve američke savezne države (Tabela 3-10). Uzorci iz Teksasa su gajeni na dve bliske lokacije, korišćena je ista sorta lucerke, ali su ove lokacije imale različite nivoe đubrenja. Set iz Ajove predstavlja uzorke iz istraživanja Sanderson and Wedin (1989). Ova dva seta uzoraka su različito analizirana pri čemu je analiza uzoraka iz Teksasa urađena NIRS-om, dok su uzorci iz Ajove analizirani standardnim laboratorijskim analizama.

Test jednačina Fick and Onstad (1988) je u istraživanju Sanderson (1992) obavljen testiranjem svakog seta podataka u okviru jedne godine kao i za obe godine objedinjeno. U tabeli 3-10 su prikazani samo podaci validacije objedinjenih setova podataka, dok rezultati testa po godinama nisu prikazani. Na osnovu posmatranja svih validacija u ovom istraživanju (podaci po godinama i objedinjeni po setovima podataka), Sanderson (1992) je istakao da su u većini slučajeva jednačine bile pristrasne. Sa druge strane, greška predviđanja je često bila manja od kalibracione greške. Slično Fick and Janson (1990), Sanderson (1992) zaključuje da su zasebne jednačine neophodne za široke agroekološke uslove, verovatno na regionalnom nivou ili bar na nivou država, kao i da je potrebna periodična rekalibracija jednačina.

Iako su Fick and Onstad (1988) pošli od činjenice da će kalibracijom jednačina pomoću uzoraka sakupljenih sa veoma širokog područja povećati robusnost jednačina baziranih na MSW, kasnija validacija ovih jednačina nije to potvrdila. Rezultati Fick and Janson (1990) su specifični pošto su uzorci za validaciju gajeni u potpuno kontrolisanim uslovima, što je suprotno od varijabilnosti u prirodi. Sa druge strane, rezultati istraživanja Sanderson (1992) mogu biti sporni ako se zna da su analize skoro svih uzoraka rađeni pomoću NIRS-a. U ovom istraživanju se često dešavalo da jednačine budu pristrasne na nivou p<0,05, NIRS analiza je zbog svoje varijabilnosti mogla doprineti ovakvom zaključku. Međutim, zaključci iz ova jedina tri "validaciona" istraživanja su dosta neujednačeni, što ukazuje na činjenicu da nije sasvim sigurno da li su jednačine zasnovane na MSW-u pristrasne ili ne. Kao što su Fick and Janson (1990)

38

istakli, mnogo pouzdaniji zaključak u ovom smislu bi se mogao dobiti razvojem lokalnih jednačina i njihovom validacijom sa nezavisnim uzorcima sa iste lokacije. Nezavisni uzorci sa iste lokacije bi se mogli dobiti razdvajanjem godina istraživanja koje imaju za cilj kalibraciju i validaciju jednačina. U sva tri pomenuta istraživanja, često se događalo da greška validacije bude niža, u nekim slučajevima čak i drastično niža, od greške kalibracije, a da jednačina bude statistički pristrasna. Vrlo često greška validacije je bila na više nego prihvatljivom nivou za praksu. Zbog svega ovoga se nameće pitanje da li je prihvaćeni način validacije adekvatan?

#### 3.4.1.2 Procena hranljive vrednosti stabla i lišća lucerke

U tabelama od 3-3 do 3-9 su prikazane jednačine koje su se odnosile na procenu hranljive vrednosti cele biljke lucerke. Međutim, postoji niz istraživanja u kojima su prikazane jednačine za procenu kao i jednačine koje prikazuju trend različitih parametara hranljive vrednosti u stablu i u lišću lucerke (Onstad and Fick, 1983; Fick and Onstad, 1988; Sanderson and Wedin, 1988). U istraživanju Sanderson and Wedin (1988) upotrebom MSW su procenjivane različite frakcije ćelijskog zida u stablu lucerke, dok su kod Fick and Onstad (1988) pomoću MSW procenjivani SP, IVTD u stablu i lišću. U ovim istraživanjima je pokazano da se značajan deo varijabilnosti hranljive vrednosti lišća i stabla može objasniti sa MSW-om. Validacija ovih jednačina je obavljena u istraživanjima Fick and Onstad (1988) i Sanderson (1992).

# 3.4.2 OSTALE METODE ZA PREDVIĐANJE HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE NA POLJU

Osim modela za predviđanje zasnovanih na srednjoj morfološkoj fazi, vršena su i istraživanja u kojima su ispitivani drugi parametri. Ispitivana je i mogućnost upotrebe sume efektivnih temperatura – SET (eng. *Growing Degree Days*) kao parametra za predviđanje hranljive vrednosti. SET predstavlja kumulativni zbir dnevnih temperatura, od dana kada je dnevna temperatura postigla fiziološki minimum. Onstad and Fick (1983) su pokazali da količina SP u lišću i u stabljici zasebno, mogu biti procenjeni na osnovu SET. Prema Fick *et al.* (1994), rad Onstad and Fick (1983) predstavlja prvo istraživanje u kome je SET korišćen kao parametar za predviđanje kvaliteta lucerke. U istraživanju Fick and Onstad (1988) SET i MSW su korišćeni zajedno i u kombinaciji sa

drugim parametrima (broj sati sa suncem i procenat lišća) za predviđanje SP, IVTD, NDF, ADF i ADL. U jednačinama izvedenim za celu biljku, osim kod ADL, nijedna kombinacija sa SET nije imala veći R<sup>2</sup> od kombinacije MSW i procenta lišća kao nezavisnih parametara za predviđanje. Sanderson (1992) je zaključio da jednačine izvedene za SET ne mogu biti primenjive u širem području, nego treba da budu izvedene lokalno specifične jednačine. Sulc et al. (1999) su istakli da su mnogi autori zaključili da je SET metod u slučaju lucerke primenjiv samo na I otkos. Razlog ovog ograničenja primene SET leži u činjenici da smanjena količina vlage u zemljištu u svim otkosima posle I otkosa predstavlja osnovni limitirajući faktor razvoja lucerke (Sulc et al. 1999). Prema Fick et al. (1994) modeli bazirani na starosti i klimatskim parametrima su praktični i razumljivo tačni kada je prisutna velika količina podataka za kalibraciju. Moguć problem kod SET predstavlja bazna temperatura. Naime, za ove modele, kod većine autora, temperature se kumulativno sabiraju od dana kada je dnevna temperatura tri dana uzastopno bila iznad 5 °C. Prema Fick et al. (1994) izmena ovog sistema možda može dovesti do poboljšanja. Upotreba broja sati pod suncem (Onstad and Fick, 1983) kao dodatnog parametra za predviđanje, se čini moguća, međutim zahteva šira ispitivanja kao i beleženje oblačnosti (Fick et al. 1994).

Hintz and Albrecht (1991) su uradili opsežno istraživanje u kom su isprobali 15 različitih parametara za predviđanje pojedinih hemijskih parametara (SP, NDF, ADF, ADL). U 15 ispitivanih parametara za predviđanje su spadali MSC i MSW, prosečna dužina stabljike u uzorku, procenat lišća, procenat stabla, dužina najduže stabljike, najveća faza u uzorku po Kalu and Fick (1981), prosečan broj nodusa (nodus ili kolence je mesto račvanja lisnih drški i ogranaka od stabla), prosečna visina stabljike u uzorku na osnovu broja stabljika i na osnovu mase i tako dalje. U odnosu na sve ispitivane parametre za procenu, ni u jednom slučaju jednačine zasnovane na MSW i MSC nisu imale najviši R<sup>2</sup>, ali su ove jednačine po R<sup>2</sup> spadale među prve. Prosečan broj nodusa i prosečna visina stabljike su se pokazali kao dobri parametri za procenu hemijskog sastava, međutim ovi parametri su dosta komplikovani za utvrđivanje. Iako su jednačine za neke parametre bile bolje od jednačina za MSW, ove rezultate treba uslovno prihvatiti zbog prethodno pomenutih velikih metodoloških odstupanja istraživanja Hintz and Albrecht (1991).

U pomenutom istraživanju, Hintz and Albrecht (1991) su takođe razvili i brzi metod za procenu hemijskog sastava zasnovan na korišćenju dva nezavisna faktora, najviše stabljike i najveće faze po Kalu and Fick (1981) u uzorku. Ovaj metod je kasnije, u radovima Owens et al. (1995) i Sulc et al. (1997), nazvan PEAO (Predictive Equations for Alfalfa Quality) metodom. Validacija ove metode (Owens et al. 1995; Sulc et al. 1997) je pokazala da je metod adekvatan samo za procenu vlakana (NDF i ADF), dok je imao veću grešku u proceni količine SP u biljkama. Dalja istraživanja PEAQ metode su potvrdila da se sistem može još dodatno uprostiti smanjivanjem faza, po Kalu and Fick (1981), potrebnih za prepoznavanje (Sulc et al. 1999, 2001). Prema Sulc et al. (2001) od značaja za procenu su samo kasna faza vegetacije (2. faza), faze pupoljenja (3. i 4. faza) i faze cvetanja (5. i 6. faza). Zbog toga su ove faze spojene pa su dobijene: faza vegetacije (označena sa 2), faza pupoljenja (označena sa 3,5) i faza cvetanja (označena sa 5,5). Razlika između pomenutog tro i peto-faznog sistema je bila zanemarljiva (Sulc et al. 2001). Takođe, u istraživanju Hintz and Albrecht (1991) prikazana je i mogućnost procene NDF samo na osnovu najviše stabljike. Ova metoda je bila predmet daljeg istraživanja u radu Sulc et al. (1999).

Kalu i Fick (1981) su pokazali da se tokom vegetacije promene hranljive vrednosti dešavaju samo u stablu, dok lišće lucerke u svim morfološkim fazama ima konstantnu količinu SP i IVTD. Ovo je kasnije potvrđeno i za frakcije vlakana NDF, ADF i ADL. Ova činjenica je bila povod za pretpostavku da lišće ublažava smanjenje hranljive vrednosti tokom vegetacije (Kalu *et al.* 1988). Druga polazna osnova za ova istraživanja je predstavljala poznata činjenica da se sa starenjem biljaka lucerke smanjuje udeo lišća na račun povećanja udela stabla. Kalu *et al.* (1988, 1990) su pokazali da procenat lišća može biti sličan prediktor hranljive vrednosti lucerke kao i MSW. Predviđanje pomoću procenta lišća je takođe predstavljalo deo istraživanja Hintz and Albrecht (1991). Kao što je pomenuto, u radu Fick and Onstad (1988) procenat lišća je korišćen zajedno sa MSW za predviđanje parametara hranljive vrednosti. Ove jednačine su imale najveće R<sup>2</sup> od svih prikazanih jednačina u ovom istraživanju i nazvane su "Najbolje nacionalne jednačine". Utvrđivanje procenta lišća je dosta zahtevna metoda tako da ova tehnika može teoretski predstavljati samo istraživačku metodu ali ne i metodu koja je praktično primenljiva.

## 4 MATERIJAL I METODE ISTRAŽIVANJA

## 4.1 SAKUPLJANJE UZORAKA

Sakupljanje uzoraka lucerke je obavljeno tokom 2010. godine na proizvodnom polju Poljoprivredne Korporacije Beograd (PKB), gazdinstvo Pionir, Besni Fok (Slika 4-1). Proizvodno polje (44°59'38"N, 20°25'11"E; 67 m nadmorske visine) je bilo veličine 44 ha, lucerka je korišćena pre svega za pripremu sena i silaže od provenute mase (senaža). Polje je zasnovano prolećnom setvom sorte "Banat", 2008. godine.



Slika 4-1. Proizvodno polje na kom je vršeno uzorkovanje (http://www.google.com/earth/index.html)

Lucerka je gajena uobičajeno za uslove Srbije, bez navodnjavanja. Od agrotehničkih mera primenjivane su (hronološki poređano):

- Mere suzbijanja glodara (postavljanjem mamaca na bazi cink fosfida) kraj prethodne vegetacione sezone
- Đubrenje ureom (100 kg/ha) pred početak vegetacione sezone
- Površinska obrada zemljišta (drljanje) nakon đubrenja ureom
- Suzbijanje korova pre početka vegetacije (preparat "Dankor" 0,8 kg/ha)
- Suzbijanje insekata tokom prvog otkosa (preparat "Etiol" 2 l/ha)

 Suzbijanje insekata tokom drugog otkosa (preparat "Bayer-Deltamethrin" 200 ml/ha)

Košenje proizvodnog dela parcele je obavljano samohodnom kosačicom marke Krone. Visina košenja je iznosila oko 10 cm. Ostale manipulacije na polju su bile prevrtanje pokošene mase, baliranje i odvoženje bala (Slika 4-2).



Slika 4-2. Manipulacije na polju, sa leva na desno: košenje; visina košenja (prikazana letvica pokazuje visinu od 3,5 cm); prevrtanje mase; baliranje

Uzorkovanjima su obuhvaćena prva tri otkosa. U okviru svakog ciklusa vegetacije, uzorkovanja su obavljana od početka vegetacije (visina biljaka u momentu prvog uzorkovanja je bila u proseku niža od 15 cm) do završetka vegetacije (biljke u fazi zrelog semena). Ukupno je sakupljen 141 uzorak u sva tri praćena otkosa. Uzorci su sakupljani košenjem parcelica površine 0,12 m<sup>2</sup>. Košenje je obavljeno ručno, makazama, na visini od 3,5 cm, pri čemu su sakupljeni svi izdanci sa stablom višim od 3,5 cm. Površine na kojima je vršeno sakupljanje uzoraka iz ispitivanih otkosa su ograđivane od ostatka proizvodne površine pošto je na tim delovima vršeno ispitivanje

lucerke do faze zrelog semena. Za svaki ciklus vegetacije je ograđivana zasebna površina. Veličina ograđenih površina na kojima je vršeno sakupljanje uzoraka je iznosila između 200 do 300 m<sup>2</sup>, u svakom otkosu.

#### I otkos

Kao početak vegetacije uzet je 21. mart kada je primećeno formiranje zelenih izdanaka (Slika 4-3). Ograđivanjem površine (oko 300 m<sup>2</sup>) (Slika 4-4) formiran je deo lucerišta na kom su sakupljani uzorci iz prvog otkosa počev od 7.4.2010. (najviša stabljika u uzorku oko 24 cm) do 15.7.2010. (najviša stabljika u uzorku oko 124 cm u fazi zrelih mahuna). Tokom prvog otkosa sakupljen je najveći broj uzoraka, s obzirom da prema prinosu I otkos predstavlja najvažniji otkos u umerenom klimatu u uslovima bez navodnjavanja. U prvom otkosu je sakupljeno ukupno 72 uzorka. Ostali deo površine (van ograđenog dela) je košen 24. maja.



Slika 4-3. Peti dan od početka vegetacije

Slika 4-4. Ograđena površina za sakupljanje uzoraka iz prvog otkosa

#### II otkos

Kao početak drugog ciklusa vegetacije uzet je momenat košenja I otkosa (24.5.2010.) na komercijalnom delu površine. Sakupljanje uzoraka je obavljeno u periodu od 10.6.2010. (najviša stabljika u uzorku oko 41 cm) do 18.7.2010. (najviša stabljika u uzorku oko 41 cm) do 18.7.2010. (najviša stabljika u uzorku oko 120 cm u fazi zrenja mahuna). Tokom ovog ciklusa vegetacije sakupljeno je 35 uzoraka. Nakon košenja prvog otkosa, na delu površine koja je komercijalno korišćena, ograđen je novi deo površine namenjen za sakupljanje uzoraka iz drugog otkosa (Slika 4-5). Na delu površine na kom nije vršeno sakupljanje uzoraka košenje drugog otkosa je obavljeno 1.7.2010.

#### III otkos

Kao početak trećeg ciklusa vegetacije uzet je momenat košenja II otkosa. Prvo uzorkovanje je obavljeno 6.7.2010. (najviša stabljika u uzorku 18 cm), dok je poslednje obavljeno 13.8.2010. (najviša stabljika u uzorku 84 cm u fazi zrenja mahuna). Na delu površine koja je komercijalno korišćena, nakon drugog otkosa, je izvršeno ograđivanje površine na kojoj je vršeno sakupljanje uzoraka iz trećeg ciklusa vegetacije (Slika 4-6). Tokom ovog ciklusa vegetacije sakupljeno je 34 uzorka.



Slika 4-5. Ograđena površina za sakupljanje uzoraka iz drugog otkosa

Slika 4-6. Ograđena površina za sakupljanje uzoraka iz trećeg otkosa

Uobičajeno vreme košenja prvog otkosa lucerke u ravničarskim predelima Srbije je oko 1. maja. Košenje prvog otkosa na delu površine koja je komercijalno iskorišćavana je bilo odloženo za oko dve nedelje, u odnosu na planirano, zbog loših vremenskih uslova ali su i prvi i drugi otkos su pokošeni u toku cvetanja lucerke. Tokom celog prvog i polovine drugog ciklusa vegetacije dnevne temperature su bile ispod proseka za to doba godine. Dnevne temperature u kombinaciji sa kišovitim vremenom su najverovatnije bile uzrok za usporavanje porasta lucerke.

	_	-	-			
Otkog na radu	Uzor	kovanje	Broj termina	Ukupan broj sakupljenih		
Otkos po redu	Prvo	Poslednje	uzorkovanja	uzoraka		
Prvi	7. april	15. jul	33	72		
Drugi	10. jun	18. jul	15	35		
Treći	6. jul	9. avgust	13	34		
		Suma	61	141		

Tabela 4-1. Dinamika uzorkovanja po otkosima u 2010. godini.

Dinamika uzorkovanja je prikazana u tabeli 4-1. Broj uzoraka sakupljenih u jednom terminu uzorkovanja kao i vremenski period između odlazaka na polje je varirao. Tokom faza koje su najznačajnije za korišćenje lucerke (faza pupoljenja i cvetanja) uzorkovanja su obavljana svakog dana. Tokom najvažnijih faza sakupljano je i do četiri uzorka tokom jednog termina uzorkovanja.

Košenje površine od 0,12 m<sup>2</sup> po uzorku (Slika 4-7) je obavljano makazama uz pomoć drvene letvice visine 3,5 cm (Slika 4-8). Nakon košenja pokošena parcelica je obeležavana pobijanjem grančice u sredinu. Obeležavanje je vršeno u cilju sprečavanja ponovnog košenja iste parcelice tokom sakupljanja uzoraka iz kasnijih faza razvoja lucerke u istom otkosu. Za označavanje parcele je korišćen metalni ram sa kliznim metalnim nogama. Klizne noge omogućavaju da se parcela za košenje obeleži (sa 4 tačke), a da se pri tom ram za obeležavenje ne mora spuštati preko stabljika (Slike 4-7 i 4-8). Ovakvom konstrukcijom rama je izbegnuto lomljenje biljaka.



Slika 4-7. Parcelica za košenja

Slika 4-8. Pokošena parcelica sa slike 4-7

Nakon košenja uzorci su smeštani u plastične kese i u ručnom frižideru transportovani do laboratorije (Slika 4-9). Ručni frižider je rashlađivan zamrznutim kontejnerima. U laboratoriji je istog dana obavljano razvrstavanje stabljika svakog sakupljenog uzorka na morfološke faze prema metodi Kalu and Fick (1981) (Slike 4-10 i 4-11). Nakon razdvajanja na faze, merena je masa svake faze u svežem stanju sa tačnošću od 0,01 g, nakon čega su biljke grubo usitnjavane u pojedinačne plastične kese za svaku fazu (Slika 4-12). Kese sa pojedinačnim fazama svakog uzorka su smeštane u zasebnu kesu za svaki uzorak. Tako pripremljeni uzorci su odmah zamrzavani na -18°C, i čuvani minimalno 3 dana, nakon čega su sušeni u produvnoj sušnici na 60°C.



Slika 4-9. Ručni frižider za prenos sakupljenih uzoraka

Slika 4-10. Sakupljeni uzorak pre razdvajanja na morfološke faze



Slika 4-11. Sakupljeni uzorak posle razdvajanja na morfološke faze

Slika 4-12. Razdvojene, usitnjene faze spremne za zamrzavanje

## 4.2 Određivanje morfološke faze

Nakon donošenja uzorka u laboratoriju, sve stabljike istog uzorka su razdvajane na morfološke faze prema tabeli 3-1. Detaljan opis morfoloških faza je dat u brošuri koju su objavili Fick and Mueller (1989). Prema ovim autorima pri razdvajanju uzoraka na morfološke faze najvažnije je držati se principa konzistentnosti, odnosno ujednačenosti kriterijuma tokom razdvajanja. Pored činjenice da su faze definisane, relativno često se nailazi na stabljike koje je teško klasifikovati, tako da je ostavljen prostor da istraživač odluči u koju će fazu takve stabljike biti svrstane. Upravo zbog ove subjektivnosti samog metoda, od strane Fick and Mueller (1989) je naglašeno da je najvažnija konzistentnost, odnosno da istraživač zadrži princip i da ga na dalje uvek primenjuje. U daljem delu teksta pri definisanju faza će biti objašnjeni konkretni problemi u definisanju pojedinih faza. Deset morfoloških faza iz tabele 3-1 se može svrstati u četiri grupe: 1. vegetativne faze (0., 1., i 2. faza), 2. faze pupoljenja (3. i 4. faza), 3. faze cvetanja (5. i 6. faza) i 4. faze formiranja i zrenja mahuna (7., 8. i 9. faza). Iako se u literaturi koristi termin "morfološka faza" u punom smislu reči faze od 3. pa na dalje predstavljaju morfološke faze. Prve tri faze se određuju samo prema dužini stabla pa se zbog toga ne mogu smatrati morfološkim fazama.

Dužina stabla kod faza koje se klasiraju prema dužini (0., 1. i 2. faza), je određivana u laboratoriji i pri tome u dužinu stabla nije uključivana visina košenja. Prema tome, dužina stabla se može definisati kao dužina između tačke na kojoj je izdanak odsečen i tačke na kojoj se završava stablo. Tačka završetka stabla nije uvek jasna zbog prisutnog lišća tako da se pritiskom prsta mora osetiti (Slika 4-13). Pri uzorkovanju se vodilo računa o visini košenja, pošto ona definiše početnu tačku merenja. U cilju što preciznijeg definisanja visine košenja korišćena je letvica visine 3,5 cm, prikazana na slici 4-2, dok je sam način košenja prikazan na slici 4-8. Zakrivljenost stabla je uzimana u obzir pri merenju dužine stabljike. U II i III otkosu se dešavalo da se iz biljaka, koje su pokošene na većoj visini, razvija mlada biljka. Ovakve biljke nisu odbacivane, u laboratoriji je mlada biljka odvajana od stare i to presecanjem stabla mlade biljke na 3,5 cm od tačke izbijanja (slika 4-13, četvrta stabljika sa leva na desno).

#### 0. MORFOLOŠKA FAZA

Prema tabeli 3-1, 0. fazom se definiše izdanak sa stablom manjim od 15 cm. Ova granica je striktno poštovana bez obzira što se ponekad dešavalo da nekoliko stabljika budu vrlo grube i različite od ostalih stabljika u istoj fazi (Slika 4-14, prva biljka sa leva na desno). Takve grube stabljike su bile sličnije starijim fazama, ali zbog smanjenja subjektivnosti ovo nije uvažavano. Naime, teško je definisati u kojim sve slučajevima neka stabljika treba da se prebaci u višu (ili nižu) kategoriju, da bi se ta subjektivizacija eliminisala, stabljike su striktno razdvajane prema definiciji. Slični problemi su se dešavali u svim nižim fazama, ne samo u 0. fazi. Takođe, pri sakupljanju uzoraka naročito je vođeno računa da se sakupe svi izdanci sa stablom višim od visine košenja. Ovaj princip je dosledno poštovan tako da su sakupljane čak i veoma niske biljke (Slika 4-14). U kasnijim fazama vegetacije pojavljuje se podrast – novi mladi izdanci koji izbijaju iz korena. Biljke prikazane na slici 4-14

predstavljaju podrast. Ovi izdanci nisu zanemarivani zbog principa da se sakupljaju sve biljke sa stablom višim od 3,5 cm iako je njihov udeo u ukupnoj masi veoma mali. Ove biljke do kraja vegetacije mogu doći i do reproduktivnih faza.



Slika 4-13. Različit izgled biljaka u 0. fazi Slika 4-14. Biljke istog uzorka u 0. fazi u kasnoj vegetaciji

#### 1. MORFOLOŠKA FAZA

U 1. fazu se ubrajaju sve stabljike visine od 16 do 30 cm (Tabela 3-1). Biljke u 1. fazi su prikazane na slici 4-15. U III otkosu se dešavalo da stabljike sa ovom visinom dobiju i pupoljke, zbog čega su takve stabljike klasifikovane u više faze. Konkretno, u III otkosu 1. fazu je često smenjivala 3. faza. Fick and Mueller (1989) takođe ističu da 2. faza biva preskočena sredinom leta zbog brze pojave pupoljaka na kratkim stabljikama. Ovo je rezultat uslova okoline koji ubrzavaju zrenje lucerke.

#### 2. MORFOLOŠKA FAZA

Nakon 2. faze (Slika 4-16) sledeća faza u razvoju izdanaka lucerke je 3. faza, odnosno prva reproduktivna faza kada biljka ima pupoljke. Zbog toga je pri klasifikovanju naročita pažnja obraćana na eventualno prisustvo pupoljaka. Pri određivanju prisustva pupoljaka poštovan je princip Fick and Mueller (1989), da se pupoljci ne broje dok se ne vide. Naime, često se dešavalo da se pupoljci mogu osetiti pritiskom prstiju unutar vršnog klastera lišća (Slika 4-15). Prema pomenutom principu, ovakve biljke su razdvajane u 3. fazu samo ako su pupoljci bili vidljivi.



Slika 4-15. Biljke u 1. fazi, u uokvirenom delu slike je uvećan lisni klaster

Slika 4-16. Biljke u 2. fazi

3. fazom se definišu one biljke koje imaju jedan ili dva pupoljka bez cvetova. Kao što je istaknuto pri opisu 2. faze, pupoljci su brojani samo kada mogu da se vide na biljci. Pri definisanju prisustva pupoljaka biljke su morale ostati neoštećene. Prilikom brojanja pupoljaka obraćala se pažnja na njihov raspored. Često se može videti grupa sačinjena od dva ili tri pupoljka, međutim ako peteljke koje nose pupoljke "niču" iz jedne tačke na stablu ovo je brojano kao jedan pupoljak (Slika 4-17). Po pravilu sve do 4. faze biljka lucerke se ne grana, od stabla se odvajaju samo lisne drške ali one ne predstavljaju grane. Zbog toga u prvim danima pojave pupoljaka oni su isključivo koncentrisani na vrhu u lisnom klasteru. U slučaju prisustva bočnih grana obraćala se pažnja da li su i na njima prisutni pupoljci.



Slika 4-17. Biljka u 3. fazi, vršni pupoljci se broje kao jedan pošto niču iz iste tačke

Kako izdanak u 3. fazi raste, tako dolazi do povećanja visine stabla, zbog čega se tačke "nicanja" pupoljaka razdvajaju. U prvim danima, samo su na vrhu biljke zapažani formirani i potpuno razdvojeni pupoljci, kasnije, sa razvojem bočnih grana, pupoljci su se pojavljivali i na vrhu bočnih grana. Daljim rastom biljaka dolazi do formiranja latica, najčešće ljubičaste boje. Pojava zatvorenih ljubičastih cvetova nije značila da je biljka u 5. ili 6. fazi. Tek nakon potpunog otvaranja barem jednog cveta, biljka više nije klasifikovana u 4. fazi. Na slici 4-18 je prikazana biljka u 4. fazi, zatvoreni ljubičasti cvetovi se mogu primetiti na donjim pupoljcima.



Slika 4-18. Biljka u 4. fazi, prisutni zatvoreni cvetovi se broje kao pupoljci

Prelaskom pupoljaka u cvetove, peteljke pupoljaka se razvijaju u cvetonosne grane. Definisanje cvetonosnih grana je od suštinske važnosti za sve dalje morfološke faze. Pored originalnog opisa iz tabele 3-1, važno je imati na umu da se pod terminom "jedan otvoren cvet" u stvari smatra jedna cvetonosna grana sa barem jednim cvetom koji je u potpunosti otvoren. Na cvetonosnoj grani se nalazi cvast koja se sastoji od velikog broja cvetova. Poštujući navedeni princip, u slučaju da je samo na jednoj cvetonosnoj grani bilo otvoreno nekoliko cvetova (ili teoretski svi) za stabljika je klasifikovana kao 5. faza (Slika 4-19). Iz tog razloga "jedna cvetonosna grana sa bar jednim otvorenim cvetom" bi bio precizniji termin. U praksi se vrlo retko dešava da na jednoj cvetonosnoj grani većina cvetova bude otvorena, a da na drugim granama nema cvetova.



Slika 4-19. Biljka u 5. fazi, otvoreni cvetovi na istoj cvetonosnoj grani se broje kao jedan cvet

Pojava više otvorenih cvetova na jednoj grani u većini slučajeva dovodi do pojave otvorenih cvetova i na drugim cvetonosnim granama (Slika 4-20). Međutim, vremenski rok između cvetanja i formiranja mahuna je vrlo kratak, zbog čega obe faze cvetanja vrlo kratko traju. Biljke u 6. fazi su brzo smenjivale 5. fazu, sa druge strane, mahune su se vrlo brzo pojavljivale. U nekim slučajevima pojava mahuna je bila toliko brza da je 6. faza preskakana. Generalno, 5. i 6. faza su se najređe pojavljivale u uzorcima.



Slika 4-20. Biljka u 6. fazi

#### 7. morfološka faza

Mahune lucerke nastaju direktno rastom tučka, zbog čega se izduženi tučak (mlada mahuna) vrlo brzo pojavljuje nakon formiranja otvorenog cveta. Zbog toga je pri diferenciranju faza cvetanja i 7. faze, naročita pažnja obraćana na pregledanje i

brojanje prisutnih cvetova. Ne može se tačno definisati granica između tučka i mahune. Prelaz tučka u mladu mahunu je određivan kada zametak mahune dobije sabljast izgled. Vrlo često je pronalažena "sabljasta mahuna" obavijena osušenim laticama, koje još uvek nisu otpale, ovakvi slučajevi su takođe brojani kao mahune. Sa daljim rastom, mahuna formira spiralu zbog čega ih je lako prepoznati. Formiranje mahuna se nije odvijalo istom brzinom na jednoj cvetonosnoj grani, zbog čega se dešavalo da neki pupoljci imaju formirane mahune, a neki su u cvetanju. Slično kao i kod faza cvetanja, korišćeni termin u tabeli 3-1, "1-3 mahune" se odnosi na 1 do 3 cvetonosne grane sa mahunama (Slika 4-21).



Slika 4-21. Biljka u 7. fazi (mahune prisutne na dve cvetonosne grane)

Slika 4-22. Biljka u 8. fazi

#### 8. MORFOLOŠKA FAZA

Ukoliko biljke formiraju mahune na više od tri cvetonosne grane, biljka prelazi u 8. fazu (Slika 4-22). Osma faza vremenski traje dosta dugo i tokom nje biljka polako gubi lišće. Takođe, kada dođe do razvoja 8. faze, usev počinje da poleže, nakon čega je vrlo otežano uzorkovanje. Mahune se zbog svog oblika često upliću sa drugim stabljikama, pa uzorkovanje mora biti veoma oprezno. U slučaju ishitrenog uzorkovanja dolazi do lomljenja grana i do otpadanja mahuna zbog čega je kasnije teško obaviti klasifikaciju morfoloških faza.

Deveta faza nije nedvosmisleno definisana. Naime, trenutak u kome je preko 50% mahuna bilo braon boje je predstavljalo stvar slobodne procene. Ova faza je takođe prepoznavana i po tome što su ovakve biljke imale vrlo malo lišća i što se stablo polako sušilo (Slika 4-23).



Slika 4-23. Biljka u 9. fazi

Nakon donošenja uzoraka u laboratoriju prvo je vršena klasifikacija, razdvajanje, svih sakupljenih izdanaka jednog uzorka. Izdanci su klasifikovani u navedene morfološke faze prema prethodno opisanom sistemu. Na slici 4-24 je prikazan razdvojeni uzorak sa 9 morfoloških faza. Za razdvajanje faza, ovakvih uzoraka, je bilo potrebno oko 45 minuta. Kod uzoraka sa nekoliko morfoloških faza (Slika 4-11), za razdvajanje je obično bilo potrebno između 15 i 20 minuta. Nakon klasifikovanja svih stabljika u uzorku, vršeno je brojanje stabljika u svakoj fazi. Nakon brojanja vršeno je grubo usitnjavanje faza. Svaka faza zasebno je sečena makazama i smeštana u obeleženu plastičnu kesu (Slika 4-12) i merena na vagi sa tačnošću od 0,01g.



Slika 4-24. Izgled razdvojenog uzorka (39. dan vegetacije II otkos) sa devet morfoloških faza, nakon određivanja broja stabljika u svakoj fazi. U snopovima je grupisano po 10 stabljika

Na svim slikama do sada prikazan je tipičan izgled stabljika u morfološkim fazama. Sa starenjem uzoraka dolazi do promene izgleda biljaka, zbog čega se sve morfološke faze prisutne u uzorku menjaju, stablo postaje grublje, listovi manji i proređeni. Svi izdanci iz jednog korena stare bez obzira u kojoj su morfološkoj fazi. Ova pojava je naročito bila naglašena u I otkosu u kom je vegetacija trajala mnogo duže. Na slici 4-25 je prikazan izgled uzorka sa devet morfoloških faza sa kraja I otkosa. Može se uočiti sličnost svih stabljika ovog uzorka (Slika 4-25), kao i razliku među stabljikama iste faze ovog uzorka i uzorka na slici 4-24. Razlika između ova dva uzorka (Slika 4-24 i 4-25) nije predstavljala posledica pripadanja različitim otkosima, već različitim srednjim morfološkim fazama, odnosno različitoj zrelosti ovih uzoraka.



Slika 4-25. Izgled morfoloških faza u uzorku sa kraja vegetacije I otkosa (101. dan vegetacije)

Posle određivanja sveže mase morfoloških faza, kese sa fazama istog uzorka su smeštane u zajedničku kesu za jedan uzorak i stavljane u zamrzivač (-18 °C) gde su čuvane do daljih analiza. Svi uzorci su minimalno tri dana stajali u zamrzivaču. Odmah po vađenju iz zamrzivača obavljano je sušenje zasebno za svaku fazu. Faze su sušene u produvnoj sušnicu u termo otpornim plastičnim kutijama na temperaturi od 60 °C do konstantne mase. Nakon sušenja je određivana masa faze osušene na 60 °C, sa tačnošću od 0,01 g. Pojedinačne faze istog uzorka su spajane i zajedno mlevene do finoće od 1 mm, nakon zasebnog sušenja i merenja njihove mase. Na ovaj način je dobijen osušeni biljni materijal sa svake parcelice koja je košena u cilju prikupljanja uzoraka. Ovako pripremljeni uzorci su smeštani u plastične kese i čuvani u frižideru (+4 °C) do hemijskih analiza.

Pri klasifikaciji uzoraka na morfološke faze sakupljeni su sledeći podaci:

- Morfološke faze (prema Kalu and Fick, 1981) koje su bile zastupljene u svakom sakupljenom uzorku
- Broj stabljika u svakoj morfološkoj fazi
- Najviša stabljika u uzorku
- Morfološka faza u kojoj se nalazi najviša stabljika
- Masa morfoloških faza u svežem stanju
- Masa morfoloških faza osušenih na 60 °C do konstantne mase

#### 4.2.1 METOD IZRAČUNAVANJA MSW I MSC VREDNOSTI

Kalu and Fick (1981, 1983) su određivali MSW sušenjem pojedinačnih faza na 65 °C do konstantne mase. U ovom istraživanju zbog planiranih laboratorijskih analiza (NDF, ADF i *in vitro* svarljivost organske materije - IVSOM), pri određivanju MSW, faze su sušene na 60 °C do konstantne mase. Kao što je već pomenuto, ova temperatura sušenja pri određivanju MSW je korišćena i u radovima Komprda *et al.* (1997), Machado *et al.* (2007), Pembleton *et al.* (2010). U tabeli 4-2. uporedo je prikazan način utvrđivanja MSW i MSC vrednosti. Podaci prikazani u tabeli 4-2. predstavljaju podatke jednog odabranog uzorka iz obavljenog istraživanja.

S Faza	N Broj stabljika	S×N	D Osušena masa faze <sup>a</sup>	S×D
0	38	0	1,01	0
1	2	2	0,17	0,17
2	21	42	9,32	18,64
3	9	27	9,18	27,54
4	15	60	35,51	142,04
5	9	45	22,69	113,45
6	5	30	18,29	109,74
7	2	14	6,77	47,39
Σ	101 (C)	220,0	102,94 (W)	458,97

Tabela 4-2. Način utvrđivanja MSC i MSW vrednosti.

<sup>a</sup>Određeno sušenjem na 60 °C

Jednačina za određivanje MSC prema Kalu and Fick (1981) je prikazana pod rednim brojem [4-1], obračun MSW je prikazan u jednačini [4-2]. Način izračunavanja MSC i MSW na osnovu vrednosti iz tabele 4-2. je prikazan u jednačinama [4-3] i [4-4].

[4-1] 
$$MSC = \left[\sum_{S=0}^{9} (S \cdot N)\right] / C$$
 [4-2]  $MSW = \left[\sum_{S=0}^{9} (S \cdot D)\right] / W$   
[4-3]  $MSC = 220,0/101 = 2,18$  [4-4]  $MSW = 458,97/102,94 = 4,46$ 

### **4.3 HEMIJSKE ANALIZE**

U svim sakupljenim uzorcima urađene su sledeće hemijske analize:

- sirovi protein (SP),
- sirovi pepeo (SPe),
- sirove masti (SMa),
- vlakna nerastvorljiva u neutralnom deterdžentu (aNDF),
- vlakna nerastvorljiva u kiselom deterdžentu (ADF),
- lignin (ADL),
- protein nerastvorljiv u neutralnom deterdžentu (NDICP),
- protein nerastvorljiv u kiselom deterdžentu (ADICP).

Svi navedeni parametri su neophodni pri određivanju NE po NRC (2001) sistemu, što je ujedno bio kriterijum za izbor hemijskih parametara koji će biti utvrđivani u sakupljenim uzorcima. SP je određen metodom po Kjeldahl-u (ISO, 2005), na aparatu Tecator Kjeltec Auto Analyzer 1030. Analiza SPe je obavljena spaljivanjem oko 3 g uzorka na 600 °C prema AOAC 942.05 (AOAC, 2000). SMa su određene

indirektnom metodom uz korišćenje Soxlet-ove aparature i dietiletra prema AOAC 920.39 (AOAC, 2000). Aparatom Gerhardt FibreBag su određeni aNDF, ADF i ADL. aNDF je određen uz korišćenje 50 µl amilaze (Sigma A 3306) po ponavljanju, bez korišćenja natrijum sulfita, prema Van Soest *et al.* (1991). ADF i ADL su utvrđeni prema ISO (2008). aNDF i ADF analiza su rađeni nesekvencijalno, rezultati su izraženi uključujući pepeo nerastvorljiv u neutralnom, odnosno, kiselom deterdžentu. Analize NDICP i ADICP su rađene Kjeldahl-ovom analizom iz aNDF, odnosno ADF nakon određivanja ovih frakcija vlakana.

Osim navedenih hemijskih parametara, obračunom su dobijeni celuloza, hemiceluloza i nevlaknasti ugljeni hidrati (NFC). Obračun celuloze je izvršen jednačinom [4-5]

$$Celuloza = ADF - ADL - ADICP$$
[4-5]

Hemiceluloza je dobijena računski korišćenjem jednačine [4-6].

$$Hemiceluloza = (aNDF - NDICP) - (ADF - ADICP)$$
[4-6]

Ovaj način obračuna celuloze i hemiceluloze nije najispravniji pošto aNDF i ADF analize nisu rađene sekvencijalno. Međutim, obračun je prihvaćen da bi se stekao uvid u promene koje se odvijaju unutar aNDF, sa zrenjem lucerke. Problem nesekvencijalne analize predstavljaju pektin i silicijum (Van Soest *et al.* 1991). Pektin i silicijum se rastvaraju u neutralnom deterdžentu, a ne rastvaraju u kiselom. Zbog toga je ovim načinom obračuna hemiceluloza podcenjena na račun pektina i silicijuma zaostalog u ADF, dok je celuloza precenjena.

Nevlaknasti ugljeni hidrati (NFC) su dobijeni primenom jednačine [4-7] (Van Soest *et al.* 1991)

$$NSC = 100 - [(NDF - NDF \text{ protein}) + \text{protein} + fat + ash]$$
 [4-7]

pri čemu je *NSC* – nestrukturni ugljeni hidrati, *NDF protein* – NDICP, *protein* – SP, *fat* – SMa, *ash* – SPe. Razliku NSC i NFC čine neke komponente ćelijskog zida koje se rastvaraju u neutralnom deterdžentu, a pri tome ne spadaju u vlakna. Prema Van Soest *et al.* (1991) u ovi grupu spadaju  $\beta$ -glukani, pektini kao i galaktani koji spadaju u strukturne ugljene hidrate ali ne u vlakna. Iako se prema originalnoj formuli (jednačina

[4-7]) dobija NSC, u NSC ne spada nabrojana grupa jedinjena koja su deo ćelijskog zida, a rastvorljiva je u neutralnom deterdžentu. Zbog svega ovoga, primenom jednačine
[4-7] je dobijen NFC, što je u saglasnosti sa Fox *et al.* (2003) i Hall (2003).

## 4.4 IN VITRO SVARLJIVOST ORGANSKE MATERIJE (IVSOM)

Analiza *in vitro* svarljivosti organske materije (IVSOM) je obavljena metodom merenja gas produkcije (Menke *et al.* 1979) u inkubiranom tečnom sadržaju buraga (TSB). Inkubacija je obavljana u kalibrisanim staklenim špricevima – siringama (Slika 4-26) zapremine 100 ml (Model Fortuna, Lonsee-Ettlenscheiβ, Germany) po modifikovanoj metodi Blümmel and Ørskov (1993). Za razliku od metode Tilley and Terry (1963) prema kojoj se IVSOM određuje direktno, kod ove metode svarljivost se određuje indirektno preko količine stvorenog gasa. Princip metode Menke *et al.* (1979),se zasniva na visokoj korelaciji između svarljivosti organske materije i stvorene količine gasa, nastale inkubacijom uzorka u mešavini TSB i pufera. Prema originalnoj metodi (Menke *et al.* 1979) siringe su inkubirane u inkubatoru u koji je bio smešten rotor na kome su siringe bile horizontalno položene. Modifikacija koju su napravili Blümmel and Ørskov (1993) podrazumeva da se inkubacija vrši u vodenom kupatilu, a da su siringe vertikalno okrenute. Ova modifikacija omogućava da se očitavanje može vršiti u svakom trenutku bez bojazni od preteranog hlađenja siringi koje se inkubiraju, što može da se desi u slučaju inkubacije u klasičnom inkubatoru.



Slika 4-26. Kalibrisani stakleni špric (siringa)

Slika 4-27. Filtriranje buražnog soka
Analiza gas produkcije je obavljena 2010. godine u Poljoprivrednom Institutu Slovenije (*Kmetijski Inštitut Slovenije, Ljubljana, Slovenija*). Buražni sadržaj je uziman od 2 kastrirana fistulisana ovna, hranjena travnim senom po volji uz 200 g/dan koncentrata (132 g kukuruza, 56 g sojine sačme i 12 g premiksa). Fistulisani ovnovi su držani prema pravilniku o držanju oglednih životinja (Pravilnik o pogojih za izvajanje poskusov na živalih; Ur.1. RS, št. 88/2006, 81/2009) uz dozvolu Veterinarske uprave Republike Slovenije.

Travno seno kojim su kastrirani ovnovi hranjeni je bilo sledećeg hemijskog sastava:

- SM: 89,67 %
- SP : 11,89 % SM
- SPe : 8,02 % SM
- SMa : 3,03 % SM
- aNDF: 46,62 % SM
- ADF: 31,60 % SM
- ADL: 4,28 % SM
- NDICP: 2,85 % SM
- ADICP: 0,6494 % SM

Analiza gas produkcije svih uzoraka je rađena u triplikatu, odmeravanjem oko 170 mg suve materije (SM) i dvadesetčetvoročasovnom inkubacijom u 30 ml mešavine TSB i pufera. Buražni sadržaj je uziman pre jutarnjeg hranjenja kroz buražnu fistulu i smeštan u termoizolovanu flašu (termos) koja je dopremana u termoizolovanoj torbi do laboratorije u roku od 30 - 45 minuta. Za jednu inkubaciju je uzimano oko 750 ml buražnog sadržaja od dva ovna donora, ukupno su rađene po tri inkubacije nedeljno. Sve manipulacije sa buražnim sadržajem su obavljane na temperaturi od 39°C što je postignuto zagrevanjem svih sudova (termos, menzura, sud za mešanje, siringe) korišćenjem inkubatora za zagrevanje siringi i upotrebom dva vodena kupatila. Po donošenju buražnog sadržaja i proveravanja njegove temperature, kroz dvostruku gazu je profiltrirano 640 ml TSB (Slika 4-27), koji je potom spajan sa pripremljenim rastvorom pufera u odnosu 2:1 (pufer : TSB). Rastvor pufera je pripreman mešanjem pet rastvora, prema recepturi prikazanoj u tabeli 4-3. U pravom smislu reči, ovaj rastvor (Tabela 4-3) nije pufer nego medijum za inkubaciju TSB. U prikazanom rastvoru pufersku ulogu ima samo rastvor B (Tabela 4-3).

Rastvor	Naziv rastvora	Supstanca	Količina (g)	Količina rastvora (ml)	
H <sub>2</sub> O				600	
		$CaCl_2 \times 2H_2O$	13,2		
	Pastvor Valajiuma i	$MnCl_2 \times 4H_2O$	10,0		
А	mikro elemenata	$CoCl_2 \times 6H_2O$	1,0	0,15	
	IIIKIO Elefifenata	$FeCl_3 \times 6H_2O$	0,8		
		Dopuni se do 100 ml v	vodom		
		NaHCO <sub>3</sub>	35		
В	Rastvor pufera	$(NH_4)HCO_3$	4	300	
		Dopuni se do 1 l vodo	m		
		$Na_2HPO_4 \times 2H_2O$	5,7		
C	Rastvor makro	$KH_2PO_4$	6,2	300	
C	elemenata	$MgSO_4 \times 7H_2O$	0,6	500	
		Dopuni se do 1 l vodo	Dopuni se do 1 l vodom		
		H <sub>2</sub> O	95 ml		
D	Redukcioni rastvor	1N NaOH	4 ml	60	
		$Na_2S \times 9H_2O$	0,625		
Resozurin	Rastvor researing	Resazurin	Resazurin 0,1		
Resazuriii	Kastvoi resazurilla	Dopuni se do 100 ml v	Dopuni se do 100 ml vodom		

Tabela 4-3. Receptura za pripremu pufernog rastvora (medijuma)

Tečni sadržaj buraga je spajan sa pufernim rastvorom u sudu koji se nalazio u vodenom kupatilu sa magnetnom mešalicom, zagrejanom na 39°C (Slika 4-28). Rastvor pufera je bio zasićen sa CO<sub>2</sub> pre spajanja sa TSB. Nakon spajanja pufera i TSB, ova smeša je nekoliko minuta mešana uz pomoć magnetne mešalice, dok je prostor u sudu konstantno dopunjavan sa CO<sub>2</sub>, vodeći računa da sonda kojom je ubacivan CO<sub>2</sub> ne bude uronjena u rastvor da ne bi došlo do stvaranja mehurića. Siringe sa odmerenom količinom uzorka, zagrejane na 39°C, su punjene pripremljenim rastvorom uz pomoć pipetora. Napunjenim siringama je očitavana početna vrednost i beležena zajedno sa vremenom kada je stavljena u vodeno kupatilo snabdeveno mešalicom i zagrejano na 39°C (Slika 4-28).

U jednoj turi je analizirano po 15 uzoraka (u tri ponavljanja) uz 4 siringe slepe probe (siringe napunjene samo TSB) i 4 siringe sa odmerenim standardnim senom (ukupno 53 siringe po jednoj turi) (Slika 4-29). Standardno seno (Slika 4-30) je obezbeđeno ljubaznošću Instituta za ishranu životinja Univerziteta u Hohenhajmu (*Institut für Tierernährung, Universität Hohenheim, Deutschland*). Slepa proba i standardno seno su korišćeni zbog korekcije izmerenog gasa (Menke and Steingass, 1988).



Slika 4-28. Vodena kupatila za inkubaciju siringi (levo) i suda za mešanje sa pipetorom (desno)

Slika 4-29. Pripremljene siringe (br. 1 slepa proba, br. 2 standardno seno, od 3-8 siringe sa uzorcima)

S obzirom da je analiza IVSOM svih uzoraka obavljena u 11 tura, odnosno korišćenjem 11 različitih buražnih sokova, nivelacija razlika između različitih buražnih sokova je vršena pomoću utvrđene produkcije gasa slepe probe i standardnog sena. Ova korekcija je izvršena računanjem produkcije gasa (GP), koji ne predstavlja prostu neto produkciju gasa. Obračun IVSOM je urađen jednačinom [4-8] (jednačina 43c prema Menke and Steingass, 1988). Jednačina [4-8] je prikazana u izvornom obliku.

$$dO = 16.49 + 0.9042 \ GP + 0.0492 \ XP + 0.0387 \ XA$$
 [4-8]

Pri čemu je:

- *dO* procenat svarljive organske materije
- *GP* korigovana količina stvorenog gasa u ml izražena na 200 mg SM za 24 sata inkubacije. Predstavlja prosek od tri ponavljanja.
- *XP* SP izražen u g/kg SM
- XA SPe izražen u g/kg SM

GP je određen formulom[4-9]

$$GP = \frac{(V_{24} - V_o - GP_o) \times 200 \times F}{M}$$
 [4-9]

- V<sub>24</sub> ukupna količina stvorenog gasa u siringi za 24 časa
- $V_o$  početna vrednost nakon punjenja siringe u momentu stavljanja u vodeno kupatilo

- *GP<sub>o</sub>* slepa proba produkcija gasa inkubirane mešavine (pufer TSB)
   bez uzorka za 24 časa. Izračunava se oduzimanjem početne vrednosti od krajnje vrednosti očitane na siringi
- M masa uzorka odmerenog u siringu u mg
- F faktor korekcije buražnog sadržaja, predstavlja količnik nominalne vrednosti produkcije gasa standardnog sena (49,61 ml, slika 4-30) i utvrđene vrednosti produkcije gasa standardnog sena.



Slika 4-30. Standardno seno

Slika 4-31. Siringe nakon inkubacije, sa leva na desno: slepa proba, standardno seno, različiti uzorci

U obavljenom istraživanju faktor F je određivan tokom svake ture inkubacije. Prema Menke and Steingass (1988) on treba da bude u intervalu između 0,9 i 1,1 u slučaju odstupanja od ovog intervala, inkubacija uzoraka se mora ponoviti. Prosečna vrednost faktora u 11 tura inkubacije je iznosila 1,089. Izgled siringi nakon 24 sata inkubacije je prikazan na slici 4-31. Prva siringa (Slika 4-31) predstavlja slepu probu, druga standardno seno, dok se u ostalih šest nalazi po jedno ponavljanje od prvih šest uzoraka koji su inkubirani. Redosled sadržaja u siringama prikazanim na slikama 4-29 i 4-31 je identičan. Osim kod prve siringe na slici 4-31, zapremina gasa koja se može primetiti u siringama ne predstavlja ukupnu količinu stvorenog gasa. Naime, kod svih siringi, osim slepe probe, nakon 8 sati inkubacije je očitavana vrednost na siringi i ispušten sav stvoreni gas, nakon toga je odmah vršeno ponovno očitavanje tako da je zabeležena količina gasa koja je ispuštena. Ovo se vrši u cilju sprečavanja gubitaka gasa usled stvaranja prevelike količine gasa. Zavisno od uzorka koji se inkubira, postoji opasnost od stvaranja količine gasa koji bi prevazilazio kapacitet siringe. Ukoliko stvoreni gas potisne klip siringe previše (podeok od oko 700 ml, na siringi), dolazi do spontanog izlaska stvorenog gasa iz siringe. Zbog toga se nakon 8 sati preventivno ispušta stvoreni gas uz beleženje količine ispuštenog gasa.

# 4.5 Određivanje neto energije za laktaciju (NE<sub>L</sub>) i ostalih energetskih frakcija

Izračunavanje neto energije za laktaciju (NE<sub>L</sub>) uzoraka je izvršeno prema NRC (2001). Sve jednačine iz NRC (2001) sistema su prikazane u izvornom obliku. Prema ovom sistemu obračun neto energije (NE) se vrši preko hemijskih parametara utvrđenih u hranivima i to : SP, SPe, SMa, NDF, ADF, ADL, NDICP i ADICP. Rezultati obavljenih analiza se ubacuju u regresione funkcije, koje su izvedene na osnovu rezultata većeg broja ogleda svarljivosti. Regresionim funkcijama se izračunava količina svarljivih materija i to:

tdNFC - pravo svarljivi nevlaknasti ugljeni hidrati

tdCP - pravo svarljivi SP

tdFat – pravo svarljive SMa

tdNDF - pravo svarljivi NDF

tdNFC je obračunat korišćenjem formule [4-10] (eq 2-4a, NRC (2001))

$$tdNFC = 0.98 \times (100 - [(NDF - NDICP) + CP + EE + Ash]) \times PAF$$
[4-10]

pri čemu *CP*, *EE*, *Ash* redom predstavljaju SP, SMa, SPe. Svi hemijski parametri su izraženi u % SM. *PAF (Processing adjustment factor)* predstavlja faktor korekcije koji se koristi za hraniva kod kojih usled obrade (najčešće termičke) dolazi do povećanja svarljivosti skroba. Za skoro sva kabasta hraniva prema NRC (2001) on iznosi 1. Pri obračunu NE<sub>L</sub> kod svih prikupljenih uzoraka korišćena je vrednost 1 za PAF.

tdCP je obračunat korišćenjem formule [4-11] (eq 2-4b, NRC (2001))

 $tdCP = CP \times exp[-1.2 \times (ADICP/CP)]$ [4-11]

pri čemu su SP i ADICP izraženi u % SM.

tdFat je obračunat korišćenjem formule [4-12] (jednačina prikazana u poglavlju 16 model Evaluation and Prediction Equations - SUPPLY CALCULATIONS - Energy -Contribution of Fat to the Energy Supply, NRC (2001))

$$tdFat = (Fat - 1) \times 2.25$$
 [4-12]

pri čemu Fat predstavlja SMa izraženu u % SM.

tdNDF je obračunat korišćenjem formule [4-13] (eq 2-4e, NRC (2001))

$$tdNDF = 0.75 \times (NDFn - L) \times [1 - (L/NDFn)^{0.667}]$$
 [4-13]

pri čemu je *NDFn* = NDF - NDICP , dok L predstavlja ADL. Svi hemijski parametri su izraženi u % SM.

Prikazani obračun svarljivih materija (tdNFC, tdCP, tdFat, tdNDF) predstavlja prvi korak u određivanju NE. Dalji obračun  $NE_L$  je izvršen preko obračuna svarljive energije (DE) i metaboličke energije (ME). Ukupne svarljive materije (TDN) su obračunate u cilju izračunavanja *Discount* koeficijenta, koji je potreban za određivanje  $NE_L$ .

TDN je obračunat korišćenjem jednačine [4-14] (jednačina prikazana u poglavlju 16 model Evaluation and Prediction Equations - SUPPLY CALCULATIONS - Energy - TDN Calculations, NRC (2001))

$$TDN = tdNFC + tdCP + tdFat + tdNDF - 7$$
 [4-14]

Obračun DE je obavljen korišćenjem jednačine [4-15] (jednačina prikazana u poglavlju 16 model Evaluation and Prediction Equations - SUPPLY CALCULATIONS - Energy - TDN Calculations, NRC (2001))

 $DE = (tdNFC \times 0.042) + (dNDF \times 0.042) + (tdCP \times 0.056) + (0.094 \times (tdFat / 2.25)) - 0.3 [4-15]$ 

čime je dobijena DE, izražena u Mcal/kg SM, koja je korišćena kao polazna vrednost pri obračunu ME i NE<sub>L</sub>.

#### 4.5.1 Obračun energetskih frakcija na određenom nivou konzumacije energije

Prema NRC (2001) sistemu, energetske frakcije hraniva nisu na fiksnom nivou nego variraju u zavisnosti od nivoa konzumiranja i sastava obroka u koji ulaze. Zbog toga se jedino može govoriti o energiji hraniva na određenom nivou i to za nivo uzdržnih potreba koristi se oznaka "1×", odnosno za različite frakcije energije DE<sub>1×</sub>, ME<sub>1×</sub>, NE<sub>L1×</sub>. Konkretan nivo konzumacije se označava sa "p", a konkretna energetska frakcija DE<sub>p</sub>, ME<sub>p</sub>, NE<sub>Lp</sub>. Takođe jednačina [4-14] prikazuje obračun TDN na nivou uzdržnih potreba, dakle TDN<sub>1×</sub>.

Ovakav koncept je zasnovan na činjenici da se sa povećanjem konzumacije smanjuje svarljivost kao i da svarljivost pojedinačnih hraniva zavisi od sastava obroka u koji konkretno hranivo ulazi. Iz ovog razloga pri obračunu ME i NE se koristi *Discount* koeficijent pomoću kog se vrši korekcija  $DE_{1\times}$  na  $DE_p$ . Za obračun *Discount* koeficijenta se koristi koncentracija TDN u obroku (TDNConc) i odnos konzumacije energije i energije na nivou uzdržnih potreba pretpostavljenog grla. *DiscountVariable* se koristi kao mera smanjenja svarljivosti hraniva na nivou višem od uzdržnih potreba. Obračun *DiscountVariable* je prikazan u jednačini [4-16] (jednačina prikazana u poglavlju *16 model Evaluation and Prediction Equations - SUPPLY CALCULATIONS -DiscountVariable*, NRC (2001))

$$DiscountVariable = ((0.18 \times TDNConc) - 10.3) \times (DMI to DMIMaint - 1)$$
 [4-16]

pri čemu "*DMI to DMIMaint*" označava odnos očekivane konzumacije energije i energije na nivou uzdržnih potreba. *DiscountVariable* ne može biti manja od 0, ako obrok sadrži <60% TDN za ovu varijablu se uzima vrednost 1. Ukoliko obrok sadrži <60% TDN tada se računa *Discount* koeficijent koji služi za korekciju izračunavanja TDN i DE na odgovarajući produktivni nivo (jednačine [4-18] i [4-19]). Obračun TDN<sub>p</sub> i DE<sub>p</sub> se dobija množenjem TDN<sub>1×</sub> i DE<sub>1×</sub> sa *Discount* koeficijentom. Izračunavanje *Discount* koeficijenta je prikazano u jednačini [4-17] (jednačina prikazana u poglavlju *16 model Evaluation and Prediction Equations - SUPPLY CALCULATIONS - DiscountVariable*, NRC (2001))

$$TDN_p = TDN_{1\times} \times Discount$$
 [4-18]  $DE_p = DE_{1\times} \times Discount$  [4-19]

Kod hraniva sa manje od 3% SMa izračunavanje ME je prikazano u jednačini [4-20] (eq 2-2, NRC (2001))

$$ME (Mcal/kg) = 1.01 \times DE (Mcal/kg) - 0.45$$
 [4-20]

pri čemu se dobija ME u Mcal/kg SM. Izračunavanje ME na odgovarajućem produktivnom nivou se dobija primenom jednačine [4-21]

$$ME_p (Mcal/kg SM) = 1.01 \times DE_p - 0.45$$
 [4-21]

Prikazana jednačina je dobijena u eksperimentima u kojima je ispitivani obrok imao ispod 3% SMa. Iz tog razloga kod hraniva sa više od 3% SMa se primenjuje korigovana jednačina [4-22] (eq 2-10, NRC (2001))

$$ME_p (Mcal/kg) = [1.01 \times (DE_p) - 0.45] + 0.0046 \times (EE - 3)$$
[4-22]

ME<sub>p</sub> i DE<sub>p</sub> su izražene u Mcal/kg SM.

Obračun  $NE_{Lp}$  hraniva sa manje od 3% SMa, za pretpostavljeni nivo konzumacije energije životinje je prikazan u jednačini [4-23] (eq 2-11, NRC (2001))

$$NE_{Lp} (Mcal/kg) = [0.703 \times ME_p (Mcal/kg)] - 0.19$$
 [4-23]

prikazane NE<sub>Lp</sub> i ME<sub>p</sub> su izražene u Mcal/kg SM.

Izračunavanje NE<sub>L</sub> za hraniva sa više od 3% SMa je prikazano u jednačini [4-24] (eq 2-12, NRC (2001))

 $NE_{Lp} (Mcal/kg) = 0.703 \times ME_p - 0.19 + ([(0.097 \times ME_p + 0.19)/97] \times [EE - 3]) [4-24]$ 

Prikazane vrednosti za  $NE_{Lp}$  i  $ME_p$  i EE su izražene po kg SM.

#### 4.5.2 Obračun energetskih frakcija u sakupljenim uzorcima

Na osnovu hemijskih analiza u svim prikupljenim uzorcima, izračunate su TDN, DE, ME i NE<sub>L</sub> korišćenjem prethodno datih jednačina. Zbog obračuna *Discount* 

koeficijenta bilo je potrebno uzeti određeni nivo TDN kao i određeni nivo konzumacije energije za pretpostavljeni obrok, odnosno grlo. Za nivo TDN u obroku uzeta je vrednost od 74% (TDNConc), dok je za nivo konzumacije energije (*DMI to DMIMaint*) uzet nivo 3 puta veći od uzdržnih potreba, pri čemu su dobijene  $ME_{3\times}$  i  $NE_{L3\times}$ . Ovi nivoi TDN i konzumacije energije su takođe korišćeni pri izračunavanju energetske vrednosti hraniva prikazanih u NRC (2001) (*Table 15-1*, NRC (2001)).

Primenjeni *Discount* koeficijent iskorišćen za obračun  $ME_{3\times}$  i  $NE_{L3\times}$  je dobijen na sledeći način:

$$DiscountVariable = ((0,18 \times 74) - 10,3) \times (3 - 1) = 6,04$$
$$Discount = (74 - 6,04) / 74 = 0,9184$$

Za obračun ME i NE uzoraka sa manje od 3% SMa su primenjivane jednačine [4-17] i [4-19], dok su kod uzoraka sa više od 3% SMa korišćene jednačine [4-18] i [4-20]. Korišćenjem formula datih u NRC (2001), sve energetske frakcije se dobijaju izražene u Mcal/kg SM. Konverzija Mcal u MJ je obavljena množenjem dobijenih vrednosti sa koeficijentom 4,184.

#### 4.5.3 OBRAČUN ME I NE NA OSNOVU GAS PRODUKCIJE

U cilju poređenja dva sistema obračuna ME i NE, ove energetske frakcije su izračunate i na osnovu rezultata gas produkcije. Obračun ME (jednačina [4-25]) i neto energije za laktaciju (NEL) (jednačina [4-26]) je obavljen jednačinama 12c iz istraživanja Menke and Steingass (1988). Jednačine su date u izvornom obliku.

$$ME = 2.43 + 0.1206 GP + 0.0069 XP + 0.0187 XL$$
 [4-25]

$$NEL = 0.81 + 0.0816 GP + 0.0046 XP + 0.0135 XL$$
 [4-26]

pri čemu su *ME* i *NEL* izraženi u MJ/kg SM, XP - SP u g/kg SM i XL - SMa u g/kg SM. Količina gasa stvorenog za 24 h izražena u ml/200 mg SM je označena sa *GP*. U cilju razdvajanja energije obračunate NRC sistemom i obračuna energije na osnovu gas produkcije, ME određena na osnovu gas produkcije će biti označena sa ME<sub>M&S</sub>, dok će NE za laktaciju biti označena sa NEL<sub>M&S</sub>.

## 4.6 STATISTIČKE ANALIZE

Sve statističke analize su obavljene korišćenjem softverskog paketa STATISTICA v.6 (StatSoft, 2003). Pri statističkoj analizi nije izostavljen nijedan uzorak koji je bio sakupljen tokom ovog istraživanja.

Poređenje različitih nizova podataka je izvršeno jednofaktorskom analizom varijanse (ANOVA), dok je test sredina obavljen pomoću Fisher LSD testa. Poređenje mogućnosti predviđanja hranljive vrednosti pomoću srednjih morfoloških faza, je izvršeno na osnovu izvedenih regresija za ispitivane parametre hranljive vrednosti. Takođe, regresiona analiza je primenjena i pri izvođenju jednačina za međusobnu konverziju srednjih morfoloških faza.

Pri regresionoj analizi, nakon unosa podataka nezavisne i zavisne varijable, u statističkom programu je definisan oblik jednačine. Korišćeni su sledeći oblici regresije:

Osnovni oblici:

Linearni	$y = a + b \times x$
Kvadratni	$y = a + b \times x + c \times x^2$
Eksponencijalni	
Eksponencijalni 1	$y = a \times x^b$
Eksponencijalni 2	$y = a + b \times x^c$
Logaritamski oblici	
Logaritamski 1	$y = a + b \times ln(x)$
Logaritamski 2 (Fick and Janson, 1990)	$y = a + b \times ln(x+1)$
Uprošćeni oblici:	
Linearni	$y = a \times x$
Kvadratni 1	$y = a \times x + b \times x^2$
Kvadratni 2	$y = a + b \times x^2$
Eksponencijalni 1	$y = x^a$
Eksponencijalni 2	$y = a + x^b$

Drugi logaritamski oblik (Logaritamski 2) je predložen od strane Fick and Onstad (1988) i Fick and Janson (1990). Prema Fick and Janson (1990) ovaj oblik se pokazao kao najbolji u njihovom istraživanju. Uprošćeni oblici su korišćeni zbog mogućnosti da neki od regresionih koeficijenta nije statistički značajan (p>0,01). Za svaki niz podataka su računati svi navedeni oblici, a odabirana je regresija sa najvećim koeficijentom determinacije ( $R^2$ ) i sa statistički značajnim (p<0,01) svim regresionim koeficijentima.

Pored R<sup>2</sup> kao parametar za poređenje regresija je korišćen kvadratni koren sredine sume kvadrata greške – RMSE (*Root Mean Square Error*). Ova dva parametra će se u daljem tekstu nazivati parametrima tačnosti izvedenih regresija. Prema Fick and Onstad (1988) oba parametra prikazuju odstupanja podataka od izvedene krive pri čemu bolji modeli imaju viši R<sup>2</sup> i niži RMSE. R<sup>2</sup> predstavlja procenat objašnjene varijabilnosti zavisne varijable pomoću nezavisne varijable, zbog toga R<sup>2</sup> predstavlja relativan parametar. Pošto R<sup>2</sup> ukazuje na frakciju varijacije u uzorcima određenu pomoću regresije, on može biti pod uticajem broja podataka. Sa druge strane, RMSE predstavlja prosečno odstupanje izvedene regresije od utvrđenih vrednosti (uzorci). Drugim rečima, RMSE predstavlja standardnu devijaciju uzoraka oko regresione linije, i pokazuje apsolutnu meru odstupanja podataka od izvedene krive (Fick and Onstad, 1988). Izračunavanje RMSE se vrši pomoću jednačine [4-28].

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} \left(y_{i} - \hat{y_{i}}\right)^{2}}{n}}$$
[4-28]

Pri čemu je n – broj uzorka,  $y_i$  – ogledom utvrđena vrednost zavisne varijable;  $\hat{y}_i$  – vrednost zavisne varijable određene na osnovu jednačine. RMSE je apsolutan pokazatelj greške izvedene jednačine i izražen je u jedinicama zavisne varijable i ponekad se naziva kalibraciona greška.

# **5 REZULTATI I DISKUSIJA**

# 5.1 PROMENE SREDNJIH MORFOLOŠKIH FAZA UZORAKA TOKOM VEGETACIJE

Za sve sakupljene uzorke je određena MSC i MSW vrednost. Ove vrednosti su prikazane na grafikonu 5-1. Na grafikonu se može primetiti veća linearnost MSW u sva tri otkosa u odnosu na MSC.



Grafikon 5-1. MSC i MSW vrednost svih sakupljenih uzoraka po datumima uzorkovanja

Porast MSW u sva tri otkosa je bio relativno konstantan i sličan dok se najbitnija razlika ogleda u trajanju vegetacije. Tokom prvog otkosa dužina vegetacije (od nicanja izdanaka do pojave zrelog semena) je iznosila oko četiri meseca (116 dana), a u drugom i trećem otkosu 55 odnosno 39 dana (Tabela 5-1). Za razliku od MSW, MSC je pokazao mnogo veću varijabilnost. U prvom otkosu između 11. i 31. maja je zabeležen pad MSC vrednosti nakon čega se ponovo zapaža linearni porast MSC.

U tabeli 5-1 je dat prikaz dinamike uzorkovanja kao i trajanje otkosa izraženo danima vegetacije. Kao prvi dan vegetacije je uzet momenat kada je primećeno formiranje zelenih izdanaka (I otkos) odnosno momenat košenja površine na kojoj će se vršiti sakupljanje uzoraka (II i III otkos). Korelacija dana vegetacije i utvrđene MSC vrednosti uzoraka izražena koeficijentom korelacije (R) je iznosila 81,4; 94,6 i 94,1 redom za I, II i III otkos. U slučaju MSW, R je iznosio 97,0; 95,2 i 97,3 respektivno za I, II i III otkos. Veći R ukazuje na veću povezanost i ravnomerniji porast MSW vrednosti sa odmicanjem vegetacije. Utvrđeni R je u saglasnosti sa koeficijentima determinacije ( $R^2 = 0,96$  i 0,99) između MSW i dana od početka vegetacije koje su prikazali Sanderson and Wedin (1989).

	Poč	etak vegeta	acije	Zavr	Završetak vegetacije			
	Datum		Dan vegetacije	Datum	Opis	Dan vegetacije	uzoraka	
		Formiranje	e		Stabljike			
I otkos	21. mart 2010.	zelenih	1.	15. jul 2010.	sa zrelim	116.	72	
-		izdanaka			mahunam	a		
		Momenat			Stabljike			
II otkos	24.maj 2010.	košenja I	1.	18. jul 2010.	sa zrelim	55.	35	
		otkosa			mahunam	a		
		Momenat			Stabljike			
III otkos	1. jul 2010.	košenja II	1.	9. avgust 2010.	. sa zrelim	39.	34	
		otkosa			mahunam	a		

Tabela 5-1. Trajanje vegetacije po otkosima izraženo danima vegetacije

U ovom istraživanju nije zabeležen pad MSW vrednosti krajem vegetacije. Naime, malo smanjenje MSW vrednosti kod uzorka iz kasne vegetacije je prikazano u radu Kalu and Fick (1981). Takođe, trend smanjenja MSC je ustanovljen samo u sredini prvog otkosa. Ovaj trend je trajao oko 2 nedelje nakon čega je, posle dostizanja najniže vrednosti od 0,99, MSC nastavio linearno da raste do kraja vegetacije (vrednost MSC od 6,54). U istom periodu zabeležen je konstantan rast MSW vrednosti. Literaturni podaci su oskudni o dinamici kretanja MSC i MSW vrednosti tokom različitih otkosa. Utvrđeni pad MSC je zabeležen posle 8. nedelje, dok je nakon dve nedelje MSC ponovo počeo da raste što predstavlja razliku u odnosu na rezultate Kalu and Fick (1981). Naime, ovi autori su prikazali pad MSC vrednosti samo krajem vegetacije. Smanjenje MSC vrednosti nakon 8. nedelje je u saglasnosti sa rezultatima Mueller and Fick (1989).

Istraživanje Kalu and Fick (1981) je obavljeno u agroekološkim uslovima države Njujork (SAD) od 21. maja (datum košenja površine za uzorkovanje) do 1. oktobra (Grafikon 3-2), početak vegetacione sezone je bio 16. aprila (Kalu and Fick, 1983). Pomenuto istraživanje je sprovedeno u tri otkosa, pri čemu nije tačno definisano o kojim se otkosima radi, ali najverovatnije su u pitanju II, III i IV otkos. Zbog razlike između otkosa, poređenje dobijenih rezultata se može obaviti samo za identične otkose. U sprovedenom istraživanju u II i III otkosu nije zabeležen pad MSC i MSW vrednosti nakon 7. i 8. nedelje, što je bio slučaj u istraživanju Kalu and Fick (1981). U odnosu na istraživanje Kalu and Fick (1981), u agroekološkim uslovima u kojima je ovo istraživanje sprovedeno, zabeležen je brži porast lucerke. Trajanje II i III otkosa je iznosilo 55 i 39, dana za razliku od istraživanja Kalu and Fick (1981) u kom je trajanje istih otkosa iznosilo 70 dana.

Kao što je već pomenuto, svi autori koji su se bavili ovim problemom (Kalu and Fick 1981, 1983; Fick and Mueller 1989; Mueller and Fick 1989; Fick *et al.* 1994; Sulc *et al.* 1997) su definisali MSW kao najbolji pokazatelj zrelosti lucerke. Osnovni problem MSC metode je nepravilnost njegovog porasta što je prikazano na grafikonu 3-1. Pad MSC vrednosti se u literaturi (Kalu and Fick 1981; Fick and Mueller 1989) definiše kao posledica javljanja novih izdanaka. Pošto se MSC određuje brojanjem stabljika uticaj stabljika u nižim fazama (koje su prema suvoj masi zanemarljive) je veći nego što je to slučaj kod MSW, koji se određuje na osnovu suve mase morfoloških faza. Naime stabljike u nižim morfološkim fazama imaju niži procenat suve materije u odnosu na stabljike većih morfoloških faza, a zbog svoje veličine imaju mali udeo u ukupnoj masi uzorka.

Uticaj broja i mase stabljika na MSC i MSW vrednost je prikazana na primeru 57. sakupljenog uzorka iz obavljenog istraživanja (Tabela 5-2). Ovaj uzorak je sakupljen tokom I otkosa, 71. dana vegetacije odnosno 31. maja. MSC vrednost je iznosila 1,36, a MSW vrednost 5,03. Na slici 5-1 je prikazan izgled ovog uzorka nakon razdvajanja na morfološke faze.

Tabela 5-2. Prikaz distribucije broja i suve mase stabljika po morfološkim fazama, u 57. uzorku I otkosa obavljenog istraživanja (uzorkovanje 31. maj 2010., 71. dan vegetacije I otkosa)

Ears	Broj	stabljika	Suva	Suva Masa <sup>1</sup>		
Faza	Ukupno po fazi	% ukupnog broja	Ukupno po fazi	% ukupne mase		
0.	104	55,61	4,19	4,29		
1.	20	10,70	3,05	3,12		
2.	23	12,30	13,31	13,62		
3.	15	8,02	6,74	6,90		
4.	7	3,74	15,49	15,85		
5.	5	2,67	6,70	6,86		
6.	1	0,53	1,26	1,29		
7.	11	5,88	37,52	38,40		
8.	1	0,53	9,45	9,67		
Σ	187	100	97,71	100		

<sup>1</sup>Suva masa određena sušenjem na 60 °C do konstantne mase



Slika 5-1. Izgled morfoloških faza 57. uzorka iz obavljenog istraživanja

Na osnovu tabele 5-2 i slike 5-1 može se zaključiti da je udeo suve mase 0. i 1. faze, u ukupnoj masi uzorka, zanemarljiv (7,4%). Sa druge strane, udeo broja stabljika ove dve faze u ukupnom broju stabljika je bio 66,3%. Ukoliko bi se uticaj ovih faza sagledao u odnosu na hranljivu vrednost čitavog uzorka, sigurno je da masa ovih faza mnogo više opisuje njihov uticaj na hranljivu vrednost nego što je to slučaj sa brojem stabljika u ovim fazama. Kalu and Fick (1983) su pokazali da stablo 0. faze može imati istu količinu SP kao i lišće (Grafikon 3-3). Iako je u prikazanom uzorku ova faza činila 55,61 % ukupnog broja, ona je činila samo 4,29 % ukupne mase (Tabela 5-2). Ova

činjenica predstavlja razlog definisanja MSW kao boljeg pokazatelja srednje morfološke faze.

Broj stabljika u nultoj i prvoj morfološkoj fazi I otkosa je opadao sa odmicanjem vegetacije do oko 11. maja. Dok je u periodu između 11. i 31. maja broj stabljika u ovim fazama ponovo počeo da raste (Grafikon 5-2), što se poklapa sa padom MSC vrednosti (Grafikon 5-1). Udeo broja i mase stabljika 0. i 1. faze u ukupnom broju i masi sakupljenih uzoraka se menjao tokom I otkosa (Grafikon 5-3). Uticaj broja stabljika i mase u ovim fazama na ukupan broj i masu je prikazan na grafikonu 5-3. Većina uzoraka prvog otkosa je imala više od 20% stabljika u 0. i 1. fazi, dok je, sa druge strane, udeo mase ove dve faze u ukupnoj masi uzorka prevazilazio 20% samo kod prvih 11 uzoraka.



Grafikon 5-2. Broj stabljika u 0. i 1. faze u uzorcima sakupljenim tokom I otkosa

Uticaj podrasta se verovatno ispoljio i na MSW, ali je on zanemarljiv pošto je udeo mase ovih faza zanemarljiv (Grafikon 5-3). Na osnovu rezultata Kalu and Fick (1981), prikazanih na grafikonu 3-1, istaknuto je da je utvrđeno smanjenje MSC vrednosti verovatno posledica podrasta. Ukoliko se MSW sagleda u periodu u kom dolazi do smanjenja MSC, jasno je da je i u ovom periodu podrast rezultirao smanjenjem MSW vrednosti. Međutim, ovo smanjenje ni u jednom slučaju nije bilo toliko da mlađi uzorci mogu imati viši MSW od starijih, kao što je to bio slučaj kod MSC.



Grafikon 5-3. Udeo broja i mase stabljika 0. i 1. faze u ukupnom broju stabljika i masi uzorka, u I otkosu

MSC sistem ocene prosečne morfološke faze bi verovatno mogao da se unapredi ako bi se ograničio uticaj nulte i prve faze. Jednu od mogućnosti predstavlja zanemarivanje ove dve faze, međutim u tom slučaju se ulazi u problem objektivizacije metode i odstupanja od izvorne metodologije. Prema metodologiji Kalu and Fick (1981), pri uzorkovanju moraju se sakupiti svi izdanci kod kojih je stablo više od visine košenja. Ukoliko bi se krenulo u pravcu ovakve modifikacije morao bi se razviti potpuno objektivan sistem pomoću kog bi se ove dve faze mogle zanemariti ako je njihov uticaj na prosečnu morfološku fazu veći od njihovog uticaja na hranljivu vrednost lucerke. Međutim, Hintz and Albrecht (1991) su istakli da se u cilju tačnog odslikavanja promena u hranljivoj vrednosti, pri definisanju faze razvoja moraju sagledati sve biljke jednog uzorka. Treba imati u vidu da je ovde obrađen uticaj samo 0. i 1. faze, ali ostaje otvoreno pitanje uticaja i ostalih nižih faza na srednju morfološku fazu, kod starijih uzoraka.

#### 5.1.1 NOVI METOD ODREĐIVANJA SREDNJE MORFOLOŠKE FAZE

Uprkos činjenici da MSW predstavlja najbolji metod ocene prosečne morfološke faze (Kalu and Fick, 1981; Sulc *et al.* 1997), komplikovanost utvrđivanja MSW u odnosu na MSC je ograničila njegovo korišćenje u praktičnim uslovima (Fick *et al.* 1994). Još u izvornom radu Kalu and Fick (1981) su istakli da će bez pojednostavljenja, MSC i MSW metode ostati specijalizovane istraživačke tehnike koje su teško primenjive u praktičnim uslovima. Uprkos ovome, Fick and Mueller (1989) su istakli da bi dalja unapređenja jednačina za predviđanje hranljive vrednosti lucerke trebalo da budu zasnovana na unapređenju MSC metode, zbog jednostavnije primene ovog sistema u praktičnim uslovima u odnosu na MSW metod. Iz tog razloga neki autori su vršili istraživanja u cilju testiranja MSC kao parametra za predviđanje nutritivne vrednosti lucerke (Allen and Fick, 1990) ili uvođenja jednostavnijih metoda za procenu koje nisu bazirane na prosečnoj fazi nego na markantnim stabljikama u uzorku (Hintz and Albrecht, 1991; Parsons *et al.* 2009; Hakl *et al.* 2010).

I pored problema sa ocenom prosečne faze izražene MSC vrednošću, složenost MSW procedure je predstavljala razlog nekolicini autora da svoja istraživanja baziraju na korišćenju MSC (Berg, 2000). Mueller and Fick (1989) su predložili metod za konvertovanje MSC vrednosti u MSW, koja bi se onda mogla koristiti u jednačinama za procenu hranljive vrednosti lucerke izvedene za MSW. Međutim, u istraživanjima koja su usledila utvrđeno je da su jednačine bazirane na MSC imale veću apsolutnu grešku (Alen and Fick, 1990), odnosno da je u slučaju procene NDF i ADF na osnovu ovog parametra greška prevazilazila 40 g/kg suve materije (Sulc et al. 1997). Sanderson (1992) je prikazao validaciju jednačina Fick and Onstad (1988) u kojima je MSW dobijen konverzijom MSC. Ovako dobijene vrednosti su imale sličan R<sup>2</sup> kao i vrednosti dobijene upotrebom MSW. Međutim, većina jednačina proverenih pomoću konvertovane MSC vrednosti je bila statistički pristrasna (Sanderson, 1992). Od strane nekih autora (Fick et al. 1994; Sulc et al. 1997) je potencirano da MSC nije pogodan metod za procenu parametara hranljive vrednosti, čime je dovedeno u pitanje mogućnost korišćenja ove metode u praktičnim uslovima. Sa druge strane, pojedini autori su u svojim istraživanjima koristili MSC za ocenu prosečne faze razvoja lucerke (Berg, 2000; Hall et al. 2000). Prema Berg (2000), MSW je bio razmatran za korišćenje u njihovom istraživanju, ali je bio odbačen zbog predugog intervala sušenja. Predugo vreme potrebno za određivanje MSW je i kod drugih autora istaknuto kao osnovni problem njegove primene (Fick et al. 1994; Sulc et al. 1997).

Cilj ovog dela istraživanja je bio razvoj i testiranje pojednostavljenog načina određivanja MSW vrednosti. Ispitana je mogućnost modifikacije MSW vrednosti utvrđivanjem na osnovu mase faza u svežem stanju. Ova "nova" MSW vrednost je upoređena sa MSC i MSW vrednošću, koje su određene na klasičan način po metodi Kalu and Fick (1981). U daljem tekstu modifikovana MSW vrednost je označena sa MSFW (eng. Mean Stage by Fresh Weight).

#### 5.1.1.1 Metod izračunavanja MSFW vrednosti

Ispitivana modifikacija MSW metode se sastojala u određivanju MSW vrednosti na osnovu mase faza u zelenom stanju. U tabeli 5-3 uporedo je prikazan način utvrđivanja MSW i MSFW vrednosti. Metod izračunavanja je prikazan na jednom odabranom uzorku iz obavljenog istraživanja.

Tabela 5-3.	Način utvrđivanja	MSW i modifikov	ane MSW vrednosti	(MSFW)
Faza (S)	Masa suve faze <sup>1</sup> (D) u g	$S \!\!\times\!\! D$	Masa sveže faze (D*) u g	S×D*
0.	1,01	0	5,35	0
1.	0,17	0,17	0,74	0,74
2.	9,32	18,64	34,06	68,12
3.	9,18	27,54	32,35	97,05
4.	35,51	142,04	123,18	492,72
5.	22,69	113,45	78,08	390,40
6.	18,29	109,74	62,63	375,78
7.	6,77	47,39	23,45	164,15
Σ	102,94 (W)	458,97	359,84 (W*)	1588,96
1				

...... . . . . . . .

<sup>1</sup>Suva masa određena sušenjem na 60 °C do konstantne mase

Jednačina za određivanje MSW prema Kalu and Fick (1981) je prikazana pod rednim brojem [5-1], obračun MSFW je prikazan u jednačini [5-2]. Način izračunavanja MSW i MSFW na osnovu vrednosti iz tabele 2. je prikazan u jednačinama [5-3] i [5-4]. Opis korišćenih oznaka je dat u tabeli 5-3.

$$[5-1] \quad MSW = \left[\sum_{S=0}^{9} (S \cdot D)\right] / W \qquad [5-2] \quad MSFW = \left[\sum_{S=0}^{9} (S \cdot D^*)\right] / W^*$$

[5-3] *MSW* = 458,97/102,94 = 4,46

$$[5-4]$$
 *MSFW* = 1588,96/359,84 = 4,42

#### 5.1.1.2 Opravdanost MSFW metode

U literaturi nije obrađivana mogućnost modifikacije MSW metode. Kao što je već pomenuto, više autora je ukazalo na nužnost modifikovanja MSW metode (Kalu and Fick, 1981; Mueller and Fick, 1989), međutim to nije dovelo do pokušaja modifikovanja metodologije. Pretpostavka je da je većina autora zbog primetne razlike u procentu suve materije (odnosno vlage) među različitim fazama eliminisala mogućnost utvrđivanja MSW vrednosti na osnovu sveže mase.

Tokom ovog istraživanja primećena je razlika u procentu SM različitih faza (Grafikoni 5-4, 5-5 i 5-6). Naime, u uzorcima sakupljanim od sredine vegetacije, u svim otkosima, dolazi do diferencijacije faza prema procentu SM u njima. Od sredine vegetacije uzorci iz svih otkosa su imali 6 ili više morfoloških faza. U ovim uzorcima stabljike nulte i prve faze najčešće imaju sličan procenat SM koji je niži od procenta SM viših faza. Sa druge strane, kod uzoraka sa manje od 6 morfoloških faza, biljke u svim fazama imaju sličan procenat SM. Drugim rečima, količina suve materije, odnosno vlage, u konkretnim morfološkim fazama nije ista tokom cele vegetacije.

Na grafikonima 5-4, 5-5 i 5-6 su prikazane promene procenata suve materije pojedinačnih morfoloških faza tokom vegetacije u I, II i III otkosu. Svaki marker označava prosečnu količinu suve materije (dobijene sušenjem na 60 °C) u svim stabljikama, prikazane morfološke faze, sakupljenog uzorka. Kao što je već napomenuto, masa sveže i osušene faze je određivana spajanjem svih stabljika iste morfološke faze istog uzorka, iz tog razloga prikazani procenti predstavljaju prosečnu vrednost suve materije stabljika u datoj morfološkoj fazi.

U literaturi nema navoda o promeni količine suve materije u morfološkim fazama tokom vegetacije. Međutim, u istraživanjima Kalu and Fick (1983) i Kalu *et al.* (1988, 1990) su prikazane promene procenta različitih parametara hranljive vrednosti kao i udela lišća i stabla u biljci tokom vegetacije. Neki od ovih rezultata su prikazni na grafikonima 3-3 do 3-6. Rezultati pomenutih autora ukazuju na velike strukturne i fiziološke promene koje se odvijaju u biljkama tokom vegetacije, čak i ako su one u istoj morfološkoj fazi. Na osnovu ovoga može se reći da prikazani rezultati promena procenta suve materije u morfološkim fazama (Grafikoni 5-4, 5-5 i 5-6) potvrđuju rezultate Kalu and Fick (1983) i Kalu *et al.* (1988, 1990)



Grafikon 5-4. Prikaz kretanja procenta suve materije morfoloških 0., 1. i 2. faze kroz vegetaciju ispitivanih otkosa (y-osa %SM; x-osa dani vegetacije)



Grafikon 5-5. Prikaz kretanja procenta suve materije morfoloških 3., 4. i 5. faze kroz vegetaciju ispitivanih otkosa (y-osa %SM; x-osa dani vegetacije)



Grafikon 5-6. Prikaz kretanja procenta suve materije morfoloških 6., 7. i 8. faze kroz vegetaciju ispitivanih otkosa (y-osa %SM; x-osa dani vegetacije)

Od nulte do pete morfološke faze primetna je tendencija porasta udela suve materije sa odmicanjem vegetacije. Za razliku od prvih pet faza, 6., 7. i 8. faze imaju relativno konstantniju suvu materiju, što je verovatno posledica činjenice da se ove faze javljaju u užem intervalu vegetacije. Podaci o 9. fazi su prikazani zajedno sa 8. fazom i to samo za prvi otkos (Grafikon 5-6), što je posledica činjenice da su stabljike u ovoj fazi bile prisutne samo u tri poslednja uzorka iz prvog otkosa. Kod 9. faze se primećuje veća varijabilnost što je verovatno posledica malog broja stabljika u toj fazi (po prikazanim uzorcima 2, 6, i 4 stabljike) kao i činjenice da ova faza nije decidno definisana. Prema Kalu and Fick (1981) u fazu 9 se klasifikuju stabljike koje imaju više od 50% zrelih mahuna od ukupnog broja mahuna. U nekim slučajevima nije sasvim jasno kada je neka stabljika u 8. fazi a kada u 9. fazi.

Sumarno, procenat suve materije nije konstantan u morfološkim fazama tokom vegetacije. Načelno gledano, sve faze prisutne u uzorcima sa kraja vegetacije imaju više suve materije nego faze uzoraka sa početka ili sredine vegetacije. Ova pojava je bila prisutna u svim otkosima.

Faza	I OTKOS	II OTKOS	III OTKOS
0.	17,58 <sup>B</sup> (71; 2,70)	18,60 <sup>B</sup> (32; 2,07)	23,26 <sup>A</sup> (32; 4,23)
1.	19,04 <sup>B</sup> (72; 3,49)	19,51 <sup>B</sup> (32; 2,29)	23,71 <sup>A</sup> (34; 3,23)
2.	$22,30^{\text{B}}$ (70; 4,35)	$20,92^{\text{B}}$ (35; 3,33)	$25,18^{A}$ (30; 2,61)
3.	23,65 <sup>ABb</sup> (57; 3,09)	$22,06^{\text{Aa}}$ (35; 3,64)	24,82 <sup>Bab</sup> (34; 2,88)
4.	26,24 <sup>B</sup> (50; 2,59)	$23,14^{A}$ (34; 3,22)	$26,25^{\text{B}}_{(31;\ 2,54)}$
5.	27,64 <sup>B</sup> (37; 2.66)	24,64 <sup>A</sup> (25; 2,45)	$27,79^{\text{B}}$ (24; 2,04)
6.	29,47 <sup>B</sup> (20; 3,33)	25,17 <sup>A</sup> (19; 1,79)	$28,14^{\text{B}}$ (23; 2,08)
7.	$29,12^{b}$ (25; 2,47)	$27,13^{a}$ (15; 3,24)	$28,15^{ab}$ (23; 2,04)
8.	31,46 (16; 2,66)	30,35 (9; 2,44)	29,94 (9; 1,65)
9.	47,13 (3; 11,98)	-	-
Prosečno po otkosu	23,43 (72; 5,57)	23,08 (35; 4,29)	25,29 (34; 3,72)

Tabela 5-4. Prosečan procenat  $SM^1$  morfoloških faza sakupljenih uzoraka, prikazan po otkosima i prosečan procenat SM u svim sakupljenim uzorcima po otkosima (n; SD).

<sup>1</sup>Suva masa određena sušenjem na 60 °C do konstantne mase

A,B,C Proseci u istom redu sa različitim slovom se razlikuju veoma značajno (LSD test; p<0,01)

<sup>a,b,c</sup> Proseci u istom redu sa različitim slovom se razlikuju značajno (LSD test; p<0,05)

Uočene su i razlike između procenata SM istih faza među različitim otkosima (Tabela 5-4). Prosečno 0., 1. i 2. faza uzoraka iz III otkosa su imale više suve materije, dok su faze (3., 4., 5., 6. i 7.) II otkosa prosečno imale manje SM od ovih faza u druga dva otkosa. Ove razlike treba uslovno prihvatiti, pošto postoji velika razlika u distribuciji i broju sakupljenih uzoraka tokom ispitivana tri otkosa. U II i III otkosu,

zbog manjeg broja uzoraka kao i kraće vegetacije, udeo uzoraka sakupljenih sredinom vegetacije je bio relativno veći od udela uzoraka sa početka i kraja vegetacije. Sa druge strane, distribucija sakupljenih uzoraka u I otkosu je bila relativno ravnomerna (Grafikon 5-1). Takođe, ove razlike su sporne i zbog uočene varijabilnosti SM konkretnih faza tokom vegetacije.

Prosečan procenat SM kompletnih uzoraka se nije statistički značajno razlikovao među otkosima. Obračun SM za cele uzorke se razlikovao od obračuna za pojedinačne faze, računat je direktno na osnovu sveže mase uzorka kao i suve mase kompletnog uzorka. Suva i sveža masa celog uzorka je računata sabiranjem masa svih pojedinačnih morfoloških faza u svakom uzorku.

Uprkos činjenici da procenat suve materije nije konstantan u morfološkim fazama tokom vegetacije, kao i da se generalni trend porasta procenta suve materije razlikuje između faza, distribucija suve i sveže mase je bila veoma slična u okviru istog uzorka. U tabelama 5-5, 5-6 i 5-7 je prikazana distribucija broja stabljika, suve i sveže mase faza za nekoliko uzoraka iz različitih faza vegetacije u okviru različitih otkosa. Kod svih ispitivanih otkosa, u pomenutim tabelama, prikazan je uzorak sa najmanjom MSW vrednošću (sakupljen tokom prvog termina uzorkovanja), uzorci iz sredine vegetacije (MSW oko 2,8 i 4,1) i uzorak sa najvećom MSW vrednošću (poslednji sakupljeni uzorak). Broj stabljika po fazama prikupljenih uzoraka i MSC vrednost su prikazani u cilju poređenja ove tri metode.

Kao merilo distribucije mase faza (suve i sveže) su prikazani koeficijenti varijacije (CV) kao i procentualno izražen udeo standardne devijacije (SD) mase faza u ukupnoj masi uzorka ( $\Sigma$ ). Ovi pokazatelji su prikazani i za distribuciju broja stabljika po morfološkim fazama uzorka. Podudarnost CV izračunatih za svežu i suvu masu faza se može primetiti kod svih prikazanih uzoraka. Razlike između prikazanih CV su bile male. Izračunati relativni udeo SD mase faza u ukupnoj masi (SD/ $\Sigma$ ) je bio veoma sličan kod svih uzoraka. Velika sličnost između ovih pokazatelja je rezultirala veoma visokim koeficijent determinacije (R<sup>2</sup>) (grafikoni 5-7 i 5-8). Sličnost između distribucije masa faza, bilo da su utvrđene na osnovu sveže ili suve mase, je potvrđena i analizom varijanse kojom nisu utvrđene statistički značajne razlike (p = 0,6611) između

koeficijenata varijacije utvrđenih za masu faza u suvom i svežem stanju svih sakupljenih uzoraka u svim otkosima.

Datum	Dan	Broj		Broj	Suva	Sveža			
uzorkovanja	vegetacije	uzorka	Faza	stabljika	masa (g)	masa (g)	MSC	MSW	MSFW
7.4.2010	17	1	0.	106	10,26	75,42			
			1.	38	10,93	79,89			
			Σ	144	21,19	155,31	0,26	0,52	0,51
			x	72	10,59	77,65			
			SD	48,08	0,47	3,16			
			CV	66,78	4,47	4,07			
12 5 2010		20	$SD/\Sigma \times 100$	33,39	2,24	2,03			
12.5.2010	52	28	0.	14	0,27	1,51			
			1.	14	1,50	8,20			
			2.	33 10	23,20	112,39			
			3. 4	19	0 11	130,74			
			<del>- +.</del> <u> </u>	70	68.43	312.3	1 00	2 74	2 70
			<u>~</u> <del>v</del>	15.80	13.60	62.46	1,99	2,74	2,70
			x SD	12.23	14 57	66.09			
			CV	77 44	106.46	105.81			
			$SD/\Sigma \times 100$	15.49	21.29	21.16			
27.5.2010.	67	49	0.	26	0.92	4.14			
		.,	1.	5	0.75	2.91			
			2.	18	10,36	38,2			
			3.	8	8,33	27,5			
			4.	9	19,56	69,75			
			5.	1	0,89	2,97			
			6.	2	7,87	25,68			
			7.	2	6,36	21,77			
			Σ	71	55,04	192,92	1,86	4,01	3,95
			x	8,88	6,88	24,11			
			SD	8,85	6,38	22,67			
			CV	99,77	92,78	93,99			
	11.4		$SD/\Sigma \times 100$	12,47	11,60	11,75			
15.7.2010.	116	112	0.	2	0,14	0,59			
			1.	3	0,42	2,02			
			2.	2	0,05	2,70			
			3. A	0	1,94	8,07			
			-+. 5	1	1 25	3 73			
			5. 6	1	2.00	5,75			
			7.	6	6.03	17.27			
			8.	34	75,92	202,13			
			9.	4	20,33	42,17			
			Σ	59	108,67	283,77	6,54	7,90	7,75
			x	6,56	12,07	31,53	,	,	,
			SD	10,4656	24,78	65,29			
			CV	159,6440	205,21	207,07			
			$SD/\Sigma \times 100$	17,7382	22,80	23,01			

Tabela 5-5. Prikaz analize distribucije broja stabljika, suve i sveže mase po morfološkim fazama odabranih uzoraka sa početka, sredine i kraja vegetacije I otkosa

Datum	Dan	Broj		Broj	Suva	Sveža			
uzorkovanja	vegetacije	uzorka	Faza	stabljika	masa (g)	masa (g)	MSC	MSW	MSFW
10.6.2010.	17	66	0.	92	4,42	23,39			
			1.	69	13,49	70,30			
			2.	2	1,46	7,06			
			3.	10	3,22	15,68			
			4.	2	1,01	4,46			
			Σ	175	23,60	120,89	0,63	1,28	1,24
			x	35,00	4,72	24,18			
			SD	42,45	5,09	26,84			
			CV	121,29	107,84	111,02			
			$SD/\Sigma \times 100$	24,26	21,57	22,20			
15.6.2010.	22	71	0.	30	0,88	4,83			
			1.	24	2,68	14,24			
			2.	31	12,12	66,15			
			3.	32	25,49	129,44			
			4.	11	13,56	66,16			
			Σ	128	54,73	280,82	1,77	2,88	2,85
			x	25,60	10,95	56,16			
			SD	8,74	9,87	49,90			
			CV	34,12	90,14	88,85			
			$SD/\Sigma \times 100$	6,82	18,03	17,77			
28.6.2010.	35	87	0.	3	0,10	0,50			
			1.	18	1,63	7,54			
			2.	23	5,98	28,86			
			3.	11	6,58	29,42			
			4.	30	34,44	144,78			
			5.	8	13,76	56,63			
			6.	5	8,36	33,07			
			Σ	98	70,85	300,8	2,93	4,09	4,04
			x	14,00	10,12	42,97			
			SD	10,00	11,62	48,46			
			CV	71,43	114,79	112,78			
			$SD/\Sigma \times 100$	10,20	16,40	16,11			
18.7.2010.	55	113	0.	14	0,57	2,23			
			1.	4	0,27	1,34			
			2.	3	0,65	2,14			
			3.	10	2,38	7,17			
			4.	-	-	-			
			5.	-	-	-			
			6.	-	-	-			
			7.	10	7,52	22,31			
			8.	36	83,63	241,86			
			<u>Σ</u>	77	95,01	277,05	5,17	7,69	7,65
			X	12,83	15,83	46,18			
			SD	12,07	33,32	96,19			
			CV	94,08	210,45	208,32			
			$SD/\Sigma \times 100$	15,68	35,07	34,72			

Tabela 5-6. Prikaz analize distribucije broja stabljika, suve i sveže mase po morfološkim fazama odabranih uzoraka sa početka, sredine i kraja vegetacije II otkosa

Datum	Dan	Broj		Broj	Suva	Sveža			
uzorkovanja	vegetacije	uzorka	Faza	stabljika	masa (g)	masa (g)	MSC	MSW	MSFW
6.7.2010.	5	102	0.	282	21,15	124,51			
			1.	10	1,85	10,79			
			2.	-	-	-			
			3.	1	0,32	1,59			
			Σ	293	23,32	136,89	0,04	0,20	0,11
			x	97,67	7,77	45,63			
			SD	159,70	11,61	68,47			
			CV	163,52	149,38	150,05			
			$SD/\Sigma \times 100$	54,50	49,79	50,02			
21.7.2010.	20	117	0.	28	1,56	7,87			
			1.	18	3,53	14,88			
			2.	3	1,50	6,54			
			3.	25	7,44	31,67			
			4.	24	12,48	50,87			
			Σ	98	26,52	111,83	1,99	2,97	2,92
			x	19,60	5,30	22,37			
			SD	9,96	4,68	18,81			
			CV	50,84	88,25	84,11			
			$SD/\Sigma \times 100$	10,17	17,65	16,82			
25.7.2010.	24	123	0.	20	0,79	3,78			
			1.	25	5,00	20,81			
			2.	5	1,58	6,88			
			3.	17	7,36	30,1			
			4.	19	14,15	54,71			
			5.	7	6,61	24,13			
			6.	2	2,62	9,69			
			7.	4	5,85	22,03			
			Σ	99	43,96	172,13	2,39	4,02	3,93
			x	12,38	5,49	21,52			
			SD	8,81	4,24	16,26			
			CV	71,23	77,12	75,59			
			$SD/\Sigma \times 100$	8,90	9,64	9,45			
13.8.2010.	39	143	0.	-	-	-			
			1.	1	0,08	0,28			
			2.	6	1,04	3,64			
			3.	5	1,26	4,29			
			4.	6	2,89	9,60			
			5.	3	1,51	5,35			
			6.	1	0,74	2,4			
			/.	22	14,82	50,77			
			<u>8.</u>	31	45,41	149,09	6.00	7.00	7.01
			<u>Σ</u> Ξ	- 15	67,75	225,42	6,33	1,33	7,31
			X	9,38	8,47	28,18			
			SD	11,02	15,68	51,56			
			CV	117,53	185,18	183,00			
			$SD/\Sigma \times 100$	14,6915	23,15	22,87			

Tabela 5-7. Prikaz analize distribucije broja stabljika, suve i sveže mase po morfološkim fazama odabranih uzoraka sa početka, sredine i kraja vegetacije III otkosa







Zanimljivo da je 1. uzorak iz III otkosa imao vrlo malu razliku u CV za suvu i svežu masu ali je razlika između MSW i MSFW, relativno izraženo, iznosila skoro 50% MSW. U ovom slučaju CV se nije pokazao kao dobar pokazatelj sličnosti MSW i MSFW vrednosti, međutim ovaj uzorak u tom smislu verovatno predstavlja izuzetak.

Distribucija broja stabljika po fazama nije pratila distribuciju mase faza, bez obzira da li je izražena suvom ili svežom masom. Ovo ukazuje na razliku između srednje morfološke faze određene na osnovu broja stabljika i srednje morfološke faze određene na osnovu mase. Kod prikazanih uzoraka, u tabelama 5-5, 5-6 i 5-7, srednje morfološke faze izražene MSW i MSFW vrednošću su bile veoma slične. Razlika MSC i srednjih morfoloških faza određenih na osnovu mase (MSW i MSFW) nije bila konstantna.

#### 5.1.2 PROMENE MSWF KROZ OTKOSE U POREĐENJU SA MSC I MSW

Kao što je već pomenuto, razlika između MSW i MSFW uzoraka je bila veoma mala. Na grafikonu 5-8 su prikazane sve srednje morfološke faze (MSC, MSW i MSFW) uzoraka sakupljenih u svim ispitivanim otkosima. Primetna je velika sličnost između MSW i MSFW vrednosti. Promene, kroz otkos, srednjih morfoloških faza određenih na osnovu mase (MSW i MSFW) su se razlikovale od promena srednje morfološke faze utvrđene na osnovu broja stabljika u fazama (MSC). Skoro potpunu podudarnost između MSW-MSFW je verovatno uslovila sličnost između distribucije mase faza, bez obzira da li su određene sušenjem ili kao sveže, što je ranije pokazano. Sa druge strane, razlika između MSC i MSW-MSFW je verovatno rezultat razlike u distribuciji broja stabljika u fazama, distribucije mase faza (suve ili sveže), kao i razlike u uticaju broja stabljika nižih faza (MSC) u odnosu na uticaj mase ovih faza u ukupnoj masi (MSW i MSFW).



Grafikon 5-8. Uporedni prikaz kretanja MSC, MSW i MSFW uzoraka u ispitivanim otkosima

Prethodno, na slikama 4-11, 4-24, 4-25 i 5-1 su prikazana tri različita uzorka razdvojena na morfološke faze. U cilju poređenja izgleda uzoraka kao i utvrđenih srednjih morfoloških faza ovih uzoraka, u tabeli 5-8 su prikazane vrednosti za MSC, MSW i MSFW. Takođe, prikazane su i količine najvažnijih parametara hranljive vrednosti utvrđenih u prikazanim uzorcima.

Slike Other		Dan	Srednja morfološka faza		Parametri hranljive vrednosti u prikazanim uzorcima			
бика	Otkos	vegetacije	MSC	MSW	MSFW	SP (g/kg SM)	aNDF (g/kg SM)	NE <sub>L</sub> (MJ/kg SM)
4-11	Ι	44	1,97	2,55	2,50	184,3	417,3	5,78
4-24	II	39	4,64	6,01	5,94	174,3	481,9	5,18
4-25	Ι	94	5,76	7,60	7,55	166,5	536,6	4,80
5-1	Ι	71	1,36	5,03	4,78	186,4	462,0	5,60

Tabela 5-8. Srednje morfološke faze prethodno prikazanih uzoraka

## 5.2 Odnos između utvrđenih srednjih morfoloških faza

#### 5.2.1 RAZLIKA IZMEĐU UTVRĐENIH SREDNJIH MORFOLOŠKIH FAZA

Apsolutna razlika između MSC i MSW, odnosno MSFW, prikazana je na grafikonu 5-9. Ova razlika je izračunata oduzimanjem MSC vrednosti od MSW odnosno MSFW vrednosti i izražena je u jedinicama mere. Utvrđeno je da se ova razlika povećavala sa odmicanjem vegetacije, što je naročito bilo izraženo tokom I otkosa. Od 25. maja (65. dan vegetacije), tokom prvog otkosa, ova razlika je bila veća od 2 i nije bila konstantna u daljem toku vegetacije ovog otkosa. U II i III otkosu razlika od preko 2 je zabeležena samo u 3 poslednja sakupljena uzorka. Drugi otkos je kod većine uzoraka imao nešto konstantniju razliku, oko 1, dok je u III otkosu razlika rasla sa odmicanjem vegetacije.



Grafikon 5-9. Razlika između srednje morfološke faze određene brojem stabljika (MSC) i srednjih morfoloških faza određenih prema masi (MSW, MSFW) u svim sakupljenim uzorcima

Uočava se sličnost u trendu porasta ove razlike u prvom otkosu sa trendom prikazanim na grafikonima 5-2 i 5-3, u kojima je prikazan broj stabljika u 0. i 1.fazi (Grafikon 5-2) kao i procenat ovih stabljika u ukupnom broju stabljika (Grafikon 5-3). Na osnovu ovoga se može zaključiti da do razlike između MSC i MSW, odnosno MSFW, dolazi usled porasta udela prve dve morfološke faze. Kao što je već prikazano, (Grafikon 5-3), porast broja stabljika u ovim fazama se pre svega ispoljava na njihov udeo u ukupnom broju, dok je njihov udeo u ukupnoj masi zanemarljiv. Ova činjenica uslovljava razliku između ova dva principa utvrđivanja srednje morfološke faze (na osnovu broja stabljika u fazama i na osnovu mase faze).

Apsolutna razlika između srednjih morfoloških faza određenih na osnovu mase faza, suve (MSW) i sveže (MSFW), je dobijena oduzimanjem ovih vrednosti. U odnosu na razliku među ovih srednjih morfoloških faza sa MSC, razlika je bila daleko manja. Generalno gledano, MSFW je kod većine uzorka bio manji od MSW vrednosti. Prosečno za 141 uzorak, razlika je iznosila 0,074 uz standardnu devijaciju od 0,074, takođe. Na grafikonu 5-10 se može primetiti da je razlika bila veća od 0,1 kod 27 uzoraka, odnosno veća od 0,15 kod 15 uzoraka (14 iz I otkosa i jedan iz III otkosa). Samo kod jedanaest uzoraka, sa kraja vegetacije I otkosa, razlika je bila veća od 0,2. Analizom varijanse nije utvrđena statistički značajna razlika (p = 0,7269) između MSW i MSFW.



Grafikon 5-10. Apsolutna razlika između MSW i MSFW po datumima uzorkovanja, određena kod svih uzoraka tokom sva tri ispitivana otkosa

Ovi rezultati ukazuju na veliku sličnost između MSW metode i prikazane modifikovane MSW metode – MSFW. Razlika je bila nešto veća kod uzoraka sakupljenih krajem I otkosa. Nije ustanovljeno povećanje ove razlike kod uzoraka koji su sakupljani tokom kišovitih dana, koje je moglo nastati usled povećanja mase faza zbog vlage na biljkama (ovi rezultati nisu prikazani). Sa druge strane, razlika MSC vrednosti od MSW i MSFW ukazuje na metodološku razliku u određivanju ove srednje morfološke faze.

#### 5.2.2 JEDNAČINE ZA KONVERZIJU MSC U MSW I MSFW I OBRATNO

Na osnovu određenih MSC, MSW i MSFW vrednosti, u svim sakupljenim uzorcima, izvedene su regresione jednačine za konverziju MSC vrednosti u MSW i MSFW vrednost i obratno (Tabele 5-9 i 5-10). Oblici jednačina sa maksimalnim R<sup>2</sup> i minimalnim RMSE su prikazani u tabeli 5-9, dok su u tabeli 5-10 prikazani linearni oblici jednačina za konverziju.

Br.jedn.	Konvertovanje	Jednačina	n	R²	RMSE
	MSC u MSW				
[5-5]	Svi otkosi	$MSW = 2,1323 \times MSC^{0,7115}$	141	0,7591	0,8728
[5-6]	I otkos	$MSW = 2,2435 \times MSC - 0,1558 \times MSC^2$	72	0,6689	1,0760
[5-7]	II otkos	$MSW = 0,7816 + MSC^{1,1112}$	35	0,9428	0,3786
[5-8]	III otkos	$MSW = 1,8513 \times MSC - 0,1108 \times MSC^2$	34	0,9703	0,2877
[5-9]	II i III otkos	$MSW = 1,7815 \times MSC^{0,8133}$	69	0,9473	0,3775
	MSC u MSFW				
[5-10]	Svi otkosi	$MSFW = 2,0662 \times MSC^{0,7242}$	141	0,7815	0,8161
[5-11]	I otkos	$MSFW = 2,1716 \times MSC - 0,1468 \times MSC^2$	72	0,6909	1,0035
[5-12]	II otkos	$MSFW = 0,7441 + MSC^{1,1074}$	35	0,9432	0,3742
[5-13]	III otkos	$MSFW = 1,8050 \times MSC - 0,1027 \times MSC^2$	34	0,9714	0,2843
[5-14]	II i III otkos	$MSFW = 1,7341 \times MSC^{0,8255}$	69	0,9489	0,3718
	MSW u MSC				
[5-15]	Svi otkosi	$MSC = 0,5691 \times MSW^{1,059}$	141	0,7468	0,6631
[5-16]	I otkos	$MSC = 0.5477 \times MSW^{0.9874}$	72	0,6314	0,7123
[5-17]	II otkos	$MSC = -0,5395 + MSW^{0,8855}$	35	0,9456	0,2857
[5-18]	III otkos	$MSC = 0,4606 \times MSW + 0,0456 \times MSW^2$	34	0,9639	0,2588
[5-19]	II i III otkos	$MSC = -0.3512 + 0.7802 \times MSW$	69	0,9439	0,3129
	MSFW u MSC				
[5-20]	Svi otkosi	$MSC = 0,5612 \times MSFW^{1,0823}$	141	0,7713	0,6302
[5-21]	I otkos	$MSC = 0,5291 \times MSFW^{1,029}$	72	0,6595	0,6846
[5-22]	II otkos	$MSC = -0.5134 + MSFW^{0.8882}$	35	0,9459	0,2850
[5-23]	III otkos	$MSC = 0.4885 \times MSFW + 0.0419 \times MSFW^2$	34	0,9644	0,2570
[5-24]	II i III otkos	$MSC = -0,3111 + 0,7809 \times MSFW$	69	0,9454	0,3087

Tabela 5-9. Jednačine sa najvišim R<sup>2</sup> i najnižim RMSE za konverziju MSC u MSW i MSFW i obratno. Svi prikazani regresioni parametri su statistički značajni (p < 0,01)

U svim varijantama konverzije jednačine izvedene za sve otkose i I otkos su imale niži  $R^2$ , odnosno višu grešku (RMSE) u odnosu na jednačine izvedene za II i III otkos. Odstupanje uzoraka I otkosa verovatno predstavlja razlog koji je doveo do smanjenja  $R^2$  odnosno povećanja greške (RMSE) kod jednačina izvedenih za sve otkose. Na linearnost veze između ovih parametara ukazuje mala razlika između  $R^2$ linearnog oblika jednačina (Tabela 5-10) i složenijih oblika jednačine sa najvišim  $R^2$  i najnižim RMSE (Tabela 5-9). Razlika između prikazanih parametara tačnosti regresije složenijih i linearnih oblika je bila najviša između jednačina [5-6] i [5-26], za  $R^2$  je iznosila 0,0333.

Br.jedn.	Konvertovanje	Jednačina	n	R²	RMSE
	MSC u MSW				
[5-25]	Svi otkosi	$MSW = 1,1652 \times MSC + 1,0486$	141	0,7456	0,8969
[5-26]	I otkos	$MSW = 1,2707 \times MSC + 1,1001$	72	0,6356	1,1288
[5-27]	II otkos	$MSW = 1,3789 \times MSC$	35	0,9305	0,4173
[5-28]	III otkos	$MSW = 1,1944 \times MSC + 0,7660$	34	0,9488	0,3781
[5-29]	II i III otkos	$MSW = 1,2098 \times MSC + 0,6528$	69	0,9439	0,3897
	MSC u MSFW				
[5-30]	Svi otkosi	$MSFW = 0.9828 + 1.1619 \times MSC$	141	0,7691	0,8389
[5-31]	I otkos	MSFW = 1,0481 + 1,2507 × MSC	72	0,6611	1,0507
[5-32]	II otkos	$MSFW = 1,3624 \times MSC$	35	0,9318	0,4100
[5-33]	III otkos	$MSFW = 0,6855 + 1,2037 \times MSC$	34	0,9505	0,3741
[5-34]	II i III otkos	$MSFW = 0,5954 + 1,2106 \times MSC$	69	0,9454	0,3844
	MSW u MSC				
[5-35]	Svi otkosi	$MSC = 0,626 \times MSW$	141	0,7452	0,6652
[5-36]	I otkos	$MSC = 0,5367 \times MSW$	72	0,6313	0,7124
[5-37]	II otkos	$MSC = 0,7192 \times MSW$	35	0,9395	0,3014
[5-38]	III otkos	$MSC = -0,4778 + 0,7943 \times MSW$	34	0,9488	0,3083
[5-39]	II i III otkos	$MSC = -0.3512 + 0.7802 \times MSW$	69	0,9439	0,3129
	MSFW u MSC				
[5-40]	Svi otkosi	$MSC = 0,6399 \times MSFW$	141	0,7681	0,6346
[5-41]	I otkos	$MSC = 0,554 \times MSFW$	72	0,6591	0,6850
[5-42]	II otkos	$MSC = 0,728 \times MSFW$	35	0,9402	0,2997
[5-43]	III otkos	$MSC = -0.415 + 0.7896 \times MSFW$	34	0,9505	0,3030
[5-44]	II i III otkos	$MSC = -0.3111 + 0.7809 \times MSFW$	69	0,9454	0,3087

Tabela 5-10. Jednačine linearnog oblika za konverziju MSC u MSW i MSFW i obratno. Svi prikazani regresioni parametri su statistički značajni (p < 0,01)

Odnos između MSC sa jedne strane i MSW ili MSFW sa druge strane, je prikazan na grafikonu 5-11. Kod većine uzoraka primetan je linearni trend, odstupanje od ovog trenda je primetno samo kod 20-ak uzoraka iz prvog otkosa. Pomenuta grupa uzoraka sa većim odstupanjem je imala kontinuiran rast MSW, odnosno MSFW

vrednosti, dok je sa druge strane, imala stagnaciju ili veoma usporen rast MSC vrednosti. Tokom prvog otkosa ova stagnacija MSC vrednosti je primećena u uzorcima koji su imali MSW ili MSFW vrednost između 3,5 i 6,5. Ovu grupu čine uzorci sakupljeni između 21. maja i 17. juna odnosno, između 61. i 88. dana vegetacije. Ovaj period se poklapa sa povećanjem učešća broja stabljika 0. i 1. faze (Grafikon 5-12). U navedenom periodu udeo ovih stabljika u ukupnom broju stabljika se povećavao od 28% do 74% (od 61. do 71. dana vegetacije) i potom ponovo opadao do 31% (88. dan vegetacije).



U II i III otkosu porast MSW odnosno MSFW je bio kontinuirano praćen porastom MSC. Samo kod 6 uzoraka iz II otkosa koji su imali MSW vrednost između
6.0 i 7.0 je primetno stagniranje MSC. Ovakav rezultat je verovatno posledica promena broja stabljika u 0. i 1. fazi tokom vegetacije (Grafikon 5-12) odnosno zanemarljivog učešća suve mase ovih faza u ukupnoj suvoj masi uzorka (Grafikon 5-13). U odnosu na I otkos udeo broja stabljika u 0. i 1. fazi je ravnomerno opadao sa odmicanjem vegetacije, takođe udeo suve mase ovih faza u ukupnoj masi uzorka je ravnomerno opadao tokom II i III otkosa. Pomenute dve činjenice objašnjavaju veće R<sup>2</sup> i niže RMSE kod jednačina za konverziju MSC izvedenih za II i III otkos, kao i za oba ova otkosa zajedno. Ovo je uočljivo i na grafikonu 5-11 na kom su primetna samo manja odstupanja od linearnog trenda u slučaju uzoraka sakupljenih tokom II i III otkosa.



Grafikon 5-12. Procenat stabljika 0. i 1. faze u ukupnom broju stabljika u uzorku tokom sva tri otkosa



Grafikon 5-13. Učešće mase 0. i 1. faze u ukupnoj suvoj masi uzorka u procentima, tokom sva tri otkosa

Jedini rad u kom je prikazana jednačina za konverziju MSC u MSW su objavili Mueller and Fick (1989). U ovom radu je prikazana jednačina za konverziju MSC u MSW i detaljnije objašnjen problem konverzije ovih vrednosti. U radu je data samo jednačina za konvertovanje MSC u MSW koja je imala za cilj da reši problem primene MSW vrednosti u praktičnim uslovima (jednačina [5-45]).

 $MSW = 0,456 + 1,153 \times MSC \qquad n = 569; R^2 = 0,982; RMSE = 0,311 \quad [5-45]$ 

Jednačina [5-45] je razvijena za uzorke stare do 8 nedelja, zbog pojave podrasta koji utiče na smanjenje MSC (Mueller and Fick, 1989). Primena ove jednačine isprobana je na uzorcima sakupljenim tokom ovog istraživanja. Ogledom utvrđena MSC vrednost uzoraka sakupljenih u ovom istraživanju je iskorišćena za validaciju jednačine [5-45]. Validacija jednačine je obavljena metodom koja je korišćena u istraživanjima Fick and Onstad (1988) i Fick and Janson (1990). Kao parametar tačnosti predviđanja uzet je RMSE koji je dobijen po formuli [4-28]. Pri čemu je za *n* uzet broj sakupljenih uzoraka, za  $y_i$  je uzeta istraživanjem utvrđena MSW vrednost, a za  $\hat{y}_i$  procenjena MSW na osnovu jednačine [5-45]. Prema Fick and Janson (1990) u slučaju validacije neke jednačine, na ovaj način dobijen RMSE predstavlja pravu grešku predviđanja proveravane jednačine.

Od strane Mueller and Fick (1989) jednačina [5-45] je preporučena samo za konverziju uzoraka starih do osam nedelja. Uprkos ovoj preporuci, validacijom je utvrđena greška predviđanja prikazane jednačine na uzorcima starim do 8 nedelja (Grafikon 5-14), kao i na svim sakupljenim uzorcima (Grafikon 5-15). U slučaju primene jednačine na uzorcima starim do 8 nedelja utvrđena je prosečna greška od  $\pm$  0,44 MSW jedinica, dok se u slučaju procene MSW svih sakupljenih uzoraka greška povećala na  $\pm$  1,09 MSW jedinica. U obe varijante RMSE validacije je bio veći od RMSE kalibracije.



Sanderson (1992) je takođe ispitao jednačinu Mueller and Fick (1989) ovi rezultati su prikazan u jednačini [5-46]. Ovo istraživanje je obuhvatilo 1129 uzoraka, sakupljenih u američkim saveznim državama Ajova i Teksas. U uzorcima su paralelno određeni MSC i MSW. Za proveru jednačine Mueller and Fick (1989) je iskorišćeno 119 uzoraka, u radu nije naglašena starost uzoraka pomoću kojih je izvršena ova provera. Takođe, Sanderson (1992) ne navodi razlog zbog čega je upotrebljeno samo 119 uzoraka, a ne svi sakupljeni uzorci (1129), osim ako se ne radi o štamparskoj grešci prilikom pripreme rada.

 $MSW_{predviden} = 0,247 + 0,938 \times MSW_{utvrden}$   $R^2 = 0,95$ ; RMSE = 0,288; n = 119 [5-46]

Validacijom jednačine [5-45] sa uzorcima sakupljenim u obavljenom istraživanju dobijen je sličan  $R^2$  (Grafikon 5-14). Međutim, dobijeni RMSE od 0,44 (Grafikon 5-14) je bio viši od kalibracione vrednosti Mueller and Fick (0,311), a takođe viši od validacije Sanderson (1992), jednačina [5-46]. Ovo ukazuje da se izvođenjem jednačine za konverziju MSC u MSW na bazi istraživanja u našim uslovima možda može očekivati bolja tačnost tako izvedene jednačine.

Od strane Mueller and Fick (1989), je istaknuto da je istraživanjem iz 1975. godine utvrđeno da se u uzorcima starijim od 8 nedelja u značajnijoj pojavljivao podrast, koji je doveo do smanjenja MSC vrednosti. Takođe, kao dodatno objašnjenje je navedeno i da je R između MSC i MSW uzoraka starih do 8 nedelja iznosio 0,990 (n = 119), odnosno kod uzoraka starijih od 8 nedelja R je iznosio 0,543 (n = 24).

Kao što je već navedeno, pojava podrasta u obavljenom istraživanju je bila ograničena samo na I otkos i to od 16. maja koji je predstavljao 56. dan, odnosno kraj 8. nedelje vegetacije I otkosa, što je u saglasnosti sa navodima Mueller and Fick (1989). Od strane ovih autora nije potencirano da li je ova pojava bila ograničena samo na prvi otkos, što je bio slučaj u ovom istraživanju.

Primenom principa koji su upotrebili Mueller and Fick (1989), kumulativno je izračunat koeficijent korelacije između MSC i MSW za sve sakupljene uzorke. Ova analiza je obavljena na svim uzorcima (n = 141) prethodno sortiranim prema danu vegetacije u kom su sakupljeni. Pod kumulativnim izračunavanjem R se podrazumeva da je R izračunat na bazi svih uzoraka sakupljenih do određenog dana. Na primer R izračunat za 28. dan vegetacije je iznosio 0,9759, ovim obračunom su obuhvaćeni svi uzorci uzorkovani do 28. dana (uključujući i 28. dan) i to iz sva tri otkosa. Na grafikonu 5-16 su prikazani koeficijenti korelacije izračunati za uzorke sakupljene od početka vegetacije do određenog dana vegetacije. Kod uzoraka sakupljenih do 63. dana, odnosno u prvih devet nedelja vegetacije, utvrđena je visoka korelacija (R = 0.9718). Nakon 63. dana vegetacije, kumulativni R je počeo da opada do nivoa od 0,8351 (uzorci sakupljeni do 84. dana vegetacije). Na grafikonu 5-17 su prikazani R izračunati za svaku nedelju vegetacije. Zbog malog broja uzoraka prvi R je izračunat za prve dve nedelje vegetacije (5 uzoraka), odnosno poslednji R je dobijen za poslednje 4 nedelje (uzorkovanja 88., 99., 101., 105., 110. i 116. dana vegetacije). Ako se posmatraju koeficijenti korelacije između ove dve srednje morfološke faze, izračunati za svaku nedelju zasebno (Grafikon 5-17), primetno je smanjenje korelacije već nakon osme nedelje (56. dana) što je nedelju dana ranije u odnosu na kumulativni obračun (Grafikon 5-16). Ova razlika je posledica činjenice da je tokom prvih 8 nedelja sakupljeno ukupno 105 uzoraka, dok je u 9. nedelji sakupljeno samo 9 uzoraka. Zbog toga značajno smanjenje korelacije u 9. nedelji (R = 0,1967) (Grafikon 5-17) nije dovelo do većeg smanjenja korelacije izračunate za prvih 9 nedelja vegetacije (R = 0.9718), pošto je R kod uzoraka sakupljenih u prvih 8 nedelja iznosio 0,9782. Ova korelacija utvrđena za uzorke iz prvih 8 nedelja je bila niža od korelacije Mueller and Fick (1989) utvrđene za





Grafikon 5-16. Kumulativno obračunat koef. korelacije između MSC i MSW, utvrđen za sve uzorke sakupljene do određenog dana

Grafikon 5-17. Koeficijenata korelacije između MSC i MSW izračunat za svaku nedelju, u zagradi interval dana vegetacije za koji je izračunat R

Smanjenje korelacije između MSC i MSW, odnosno MSFW, po nedeljama sugerira da bi se za izvođenje jednačina za konverziju ove dve srednje morfološke faze trebalo izvršiti ograničenje na period od prvih 8 ili 9 nedelja vegetacije. Ovome ide u prilog i činjenica da je kod uzoraka sakupljenih između 57. i 116. dana utvrđeni R između MSC i MSW iznosio 0,7663, odnosno od 64. do 116. dana R = 0,8641. Treba imati u vidu da je u obavljenom istraživanju trajanje II i III otkosa iznosilo 55 odnosno 39 dana, što znači da bi ovim ograničavanjem bili eliminisani samo uzorci iz I otkosa. Ograničavanje uzoraka samo iz prvog otkosa je opravdano i zbog činjenice da je samo u ovom ciklusu vegetacije utvrđena pojava podrasta koja se smatra glavnim razlogom smanjenja korelacije MSC sa MSW (Mueller and Fick, 1989). U tabeli 5-11 su prikazane jednačine za konverziju MSC u MSW i MSFW za sve otkose, ukoliko se konverzija vrši za uzorke stare do 8 ili 9 nedelja. Prikazani su samo linearni oblici jednačina pošto su kod ispitanih složenijih oblika R<sup>2</sup> bili zanemarljivo veći. Linearnost ove veze je prikazana i na grafikonima 5-18 i 5-19.

U poređenju sa jednačinama izvedenim za sve otkose iz tabele 5-10, ograničavanjem konverzije na uzorke iz prvih 8 odnosno 9 nedelja je došlo do značajnog povećanja  $R^2$  kao i skoro duplog smanjenja greške (Tabela 5-11). U poređenju sa jednačinom [5-45] (Mueller and Fick, 1989) dobijena je slična greška

(RMSE) uz nešto niži  $R^2$ . U odnosu na jednačine za konverziju izračunate za objedinjene podatke iz II i III otkosa (Tabela 5-10) ovako izvedene jednačine za sve otkose su imale čak nešto veći  $R^2$ . Zbog toga se za konverziju MSC u MSW i MSFW i obratno mogu preporučiti jednačine iz tabele 5-11.

Tabela 5-11. Jednačine za konverziju MSC u MSW i MSFW za sve otkose izvedene za uzorke stare do 8 odnosno 9 nedelja. Svi prikazani regresioni parametri su statistički značajni (p < 0.01)

Br.jedn.	Konvertovanje	Jednačina	n	R²	RMSE
	MSC u MSW				
[5-47]	Prvih 8 nedelja (do 56. dana vegetacije)	$MSW = 0,4493 + 1,258 \times MSC$	105	0,9568	0,3486
[5-48]	Prvih 9 nedelja (do 63. dana vegetacije)	$MSW = 0,5117 + 1,2464 \times MSC$	114	0,9444	0,3807
	MSC u MSFW				
[5-49]	Prvih 8 nedelja (do 56. dana vegetacije)	MSFW = 0,4196 + 1,2511 × MSC	105	0,9580	0,3419
[5-50]	Prvih 9 nedelja (do 63. dana vegetacije)	MSFW = 0,4775 + 1,2403 × MSC	114	0,9467	0,3704
	MSW u MSC				
[5-51]	Prvih 8 nedelja (do 56. dana vegetacije)	$MSC = -0,2403 + 0,7606 \times MSW$	105	0,9568	0,2711
[5-52]	Prvih 9 nedelja (do 63. dana vegetacije)	$MSC = -0,2587 + 0,7577 \times MSW$	114	0,9444	0,2968
	MSFW u MSC				
[5-53]	Prvih 8 nedelja (do 56. dana vegetacije)	MSC = - 0,2225 + 0,7657 × MSFW	105	0,9580	0,2675
[5-54]	Prvih 9 nedelja (do 63. dana vegetacije)	MSC = - 0,2408 + 0,7633 × MSFW	114	0,9467	0,2906





osnovu uzoraka starih do 9 nedelja

Izvođenje jednačina zasebno za sve ispitivane otkose se nije pokazalo opravdanim. Svi parametri tačnosti jednačina ( $R^2$  i RMSE) u tabeli 5-11 su bili bolji od prikazanih parametara iz tabele 5-10. Ovome u prilog ide i činjenica da u slučaju izvođenja jednačina za konverziju uzoraka do 8. ili 9. nedelje samo za prvi otkos, nije postignuto unapređenje tačnosti u odnosu na jednačine iz tabele 5-11. Naime, jednačina za konverziju MSC u MSW za I otkos izvedena do 63. dana je imala  $R^2$  0,8395, a jednačina izvedena za uzorke stare do 56. dana  $R^2$  0,9545. Zbog toga se jednačine izvedene do 56. dana, za sve otkose (Tabela 5-11), mogu preporučiti za konverziju srednjih morfoloških faza. Takođe greška (RMSE) ovih jednačina je bila manja od greške koja je dobijena primenom jednačine Mueller and Fick [5-45]. Sa druge strane, jednačina Mueller and Fick je testirana nezavisnim uzorcima (Sanderson, 1992). Zbog toga bi eventualna primena jednačina iz ovog istraživanja, takođe zahtevala proveru na nezavisnim uzorcima.

U cilju definisanja ograničenja za izvođenje jednačina za konverziju isproban je i kumulativni obračun R između MSC i MSW ako su uzorci poređani rastuće prema MSC (grafikon 5-20) i ako su poređani rastuće prema MSW (grafikon 5-21). Na osnovu grafikona 5-20 se može reći da se limit za konverziju ne može utvrditi preko MSC. Samo na osnovu uzoraka sa MSC manjim od jedan (19 uzoraka) su utvrđeni kumulativno izračunati R veći od 0,90. Ovo praktično znači da se devijacija veze između MSC i MSW desila pri MSC većem od jedan. Kumulativno izračunat R ima veću vrednost ako se uzorci poređaju po MSW (Grafikon 5-21). Međutim, ograničavanjem na osnovu MSW vrednosti, jednačine sa R<sup>2</sup> većim od 0,94 su dobijene samo kod uzoraka sa MSW manjim od 3,31 (ukupno 60 uzoraka). Preporuka za ograničenje konverzije na osnovu MSW vrednosti bi bila od teoretskog značaja. Naime, potreba za ovom konverzijom se pojavila usled činjenice da se MSC lakše utvrđuje od MSW i da bi se ovakvom konverzijom iskoristile prednosti jednačina za predviđanje kvaliteta lucerke zasnovanim na MSW (Mueller and Fick, 1989). Međutim, proba ograničenja sa MSC i MSW je bila opravdana, budući da ovi rezultati jasno ukazuju da je devijacija odnosa MSC i MSW uslovljena danom vegetacije, a ne veličinom MSC ili MSW.



Kao što je već pomenuto, prema Mueller and Fick (1989) konverzija MSC u MSW je predložena zbog činjenice da bi se na taj način lakše moglo doći do MSW vrednosti čime bi se omogućila lakša primena jednačina za procenu hranljive vrednosti lucerke. Zbog toga, određivanje opsega ove konverzije bi verovatno bilo adekvatnije da se proceni i u odnosu na hranljivu vrednost lucerke. Prikazana obrnuta konverzija (MSW u MSC i MSFW u MSC) ima teoretski značaj pošto se srednja morfološka faza (MSW ili MSFW), koja je bolji parametar za predviđanje kvaliteta lucerke (Kalu and Fick, 1981, 1983; Mueller and Fick, 1989; Allen and Fick, 1990; Hintz and Albrecht, 1991), prevodi u srednju morfološku fazu (MSC) koja je manje povezana sa hranljivom vrednošću (Allen and Fick, 1990; Hintz and Albrecht, 1991). Međutim, ovakva konverzija bi bila korisna za poređenje istraživanja u kojima nije korišćena ista srednja morfološka faza.

## 5.2.3 JEDNAČINE ZA KONVERZIJU MSW U MSFW I OBRATNO

Jednačine za konverziju MSW u MSFW i obratno su prikazane odvojeno od MSC zbog sličnosti između ove dve metode ocene srednje morfološke faze. U tabeli 5-12 su prikazani ispitivani oblici jednačina sa utvrđenim najvišim R<sup>2</sup> odnosno najnižim RMSE, dok su u tabeli 5-13 prikazani linearni oblici za ovu konverziju.

Tabela 5-12. Jednačine sa najvišim  $R^2$  i najnižim RMSE za konverziju MSW u MSFW i obratno. Svi prikazani regresioni parametri su statistički značajni (p < 0,01)

Br.jedn.	Konvertovanje	Jednačina	n	R²	RMSE
	MSW u MSFW				
[5-55]	Svi otkosi	$MSFW = 0.9787 \times MSW^{1.0013}$	141	0,9986	0,0661
[5-56]	I otkos	$MSFW = 0,984 \times MSW^{0,9927}$	72	0,9984	0,0715
[5-57]	II otkos	$MSFW = 0,9808 \times MSW^{1,0044}$	35	0,9998	0,0206
[5-58]	III otkos	$MSFW = -0,075 + MSW^{1,0033}$	34	0,9997	0,0288
[5-59]	II i III otkos	$MSFW = -0.0543 + MSW^{0.9998}$	69	0,9997	0,0280
	MSFW u MSW				
[5-60]	Svi otkosi	$MSW = 1,0246 \times MSFW^{0.9967}$	141	0,9986	0,0672
[5-61]	I otkos	$MSW = -0.118 + 1.0885 \times MSFW - 0.0065 \times MSFW^2$	72	0,9987	0,0687
[5-62]	II otkos	$MSW = 1,0197 \times MSFW^{0.9954}$	35	0,9998	0,0207
[5-63]	III otkos	$MSW = 0.0752 + MSFW^{0.9966}$	34	0,9997	0,0286
[5-64]	II i III otkos	$MSW = 0.0625 + 0.9949 \times MSFW^{1.0022}$	69	0,9997	0,0280

Tabela 5-13. Jednačine linearnog oblika za konverziju MSW u MSFW i obratno. Svi prikazani regresioni parametri su statistički značajni (p < 0,01)

Br.jedn.	Konvertovanje	Jednačina	n	R²	RMSE
	MSW u MSFW				
[5-65]	Svi otkosi	$MSFW = 0.9808 \times MSW$	141	0,9986	0,0661
[5-66]	I otkos	$MSFW = 0.9725 \times MSW$	72	0,9984	0,0724
[5-67]	II otkos	$MSFW = 0.988 \times MSW$	35	0,9998	0,0215
[5-68]	III otkos	$MSFW = -0.0824 + 1.0067 \times MSW$	34	0,9997	0,0292
[5-69]	II i III otkos	$MSFW = -0.054 + 0.9997 \times MSW$	69	0,9997	0,0280
	MSFW u MSW				
[5-70]	Svi otkosi	$MSW = 1,0193 \times MSFW$	141	0,9986	0,0674
[5-71]	I otkos	$MSW = 1,028 \times MSFW$	72	0,9984	0,0745
[5-72]	II otkos	$MSW = 1,0121 \times MSFW$	35	0,9998	0,0218
[5-73]	III otkos	$MSW = 0.083 + 0.993 \times MSFW$	34	0,9997	0,0290
[5-74]	II i III otkos	$MSW = 0,0552 + 1,0000 \times MSFW$	69	0,9997	0,0281

Razlike utvrđene između parametara tačnosti složenijih oblika regresije i linearnih oblika su bile minimalne, iz tog razloga jednačine prikazane u tabeli 5-13 se mogu preporučiti za konverziju. Mala razlika između tačnosti složenih i linearnih oblika je posledica linearnosti veze između MSW i MSFW. Linearnost veze između ove morfološke faze je prikazana na grafikonu 5-22.



Grafikon 5-22. Veza MSW sa MSFW određena na osnovu svih uzoraka iz svih posmatranih otkosa (n = 141)

Zbog minimalne razlike u R<sup>2</sup>, kao i u RMSE, prikazanih regresija za sve otkose i pojedinačno za tri ispitivana otkosa, jednačine izvedene za sve otkose se mogu upotrebiti za konverziju ove dve srednje morfološke faze. Veoma mala razlika između ove dve ocene srednje morfološke faze je nastala kao posledica linearnosti njihove veze, visokog koeficijenta korelacije kao i činjenice da nije utvrđena statistički značajna razlika među njima. Može se reći da su promene MSW i MSFW vrednosti, u 3 praćena otkosa (Grafikon 5-8), bile skoro sasvim identične. Prosečna apsolutna razlika između ova dva parametra je iznosila 0,073. Nešto veće odstupanje između ova dva parametra je utvrđeno kod sedam uzoraka sakupljenih krajem prvog otkosa gde je apsolutna razlika između 0,23 i 0,38.

Sve jednačine linearnog oblika (Tabela 5-13) su statistički nepristrasne i sa veoma visokim R<sup>2</sup> bliskim 1, što pokazuje da se pomoću MSW može objasniti skoro celokupna varijabilnost MSFW i obratno. Pod statistički nepristrasnom regresionom

jednačinom linearnog oblika ( $y = a + b \times x$ ) se smatra ona jednačina kod koje je regresioni koeficijent "*a*" jednak 0, a regresioni koeficijent "*b*" jednak 1. Kod svih jednačina prikazanih u tabeli 5-13 svi regresioni koeficijenti su bili bliski nuli odnosno jedinici. Na grafikonu 5-22 isprekidanom linijom je prikazana jednačina kod koje je a =0 i b = 1 (jednačina je označena sa 1:1). Zapaža se izvesna devijacija izvedene regresije od linije 1:1 sa povećanjem MSW vrednosti. U teoretskom slučaju da MSW iznosi 9, MSFW bi iznosio 8,8272 što predstavlja devijaciju od 0,173. U praktičnim uslovima, za stočnu hranu se najčešće koristi lucerka sa MSW iz opsega od 1,00 do 5,00 , zbog čega bi ova devijacija bila dodatno smanjena ukoliko bi se jednačina upotrebljavala u praktičnim uslovima.

Na grafikonu 5-22 je primetno da se većina uzoraka nalazi upravo na krivoj 1:1, odstupanje je zabeleženo samo kod uzoraka sa kraja vegetacije I otkosa. Zbog ovoga kao i zbog veoma visokih R<sup>2</sup> i niskih RMSE (Tabela 5-13) moglo bi se pretpostaviti da se u slučaju MSW i MSFW radi o istoj srednjoj morfološkoj fazi i da bi se u jednačinama za procenu kvaliteta lucerke izvedenim za MSW vrednost, koje su predložene od strane drugih autora (Kalu and Fick, 1981, 1983; Fick and Onstad, 1988; Griffin *et al.* 1994; Hintz and Albrecht, 1991; Sanderson, 1992), mogla koristiti MSFW vrednost direktno bez konverzije.

Do sada je MSC, uz MSW, bio jedina srednja morfološka faza zasnovana na sistemu Kalu and Fick (1981), iz tog razloga upoređenje dobijenih rezultata nije u potpunosti moguće sa literaturnim navodima. Međutim, u poređenju sa MSC, MSFW ima mnogo veću podudarnost sa MSW. Sva dalja poređenja su izvršena u odnosu na MSW, pošto je od strane više autora MSW označen kao najbolji parametar za određivanje prosečne faze razvoja lucerke (Kalu and Fick, 1981; Mueller and Fick 1989; Sulc and sar. 1997). U slučaju MSFW u ovom istraživanju je dobijena korelacija sa MSW od 0,9993 i na osnovu uzoraka iz čitave vegetacije. Mueller and Fick (1989) su prikazali korelaciju od 0,990 između MSW i MSC. Korelacija Mueller and Fick (1989) je izvedena za uzorke stare do 8 nedelja (R za celu vegetaciju je bio znatno niži), što je niže od utvrđene R između MSFW i MSW koji je dobijen za celu vegetaciju. Sa druge strane, regresione jednačine izvedene za konverziju MSC u MSW u ovom istraživanju

(tabele 5-9 i 5-10) su imale znatno niži  $R^2$  i viši RMSE od prikazanih regresija za konverziju MSFW u MSW.

# 5.2.4 METODOLOŠKE SLIČNOSTI I RAZLIKE IZMEĐU UTVRĐENIH SREDNJIH MORFOLOŠKIH FAZA

Ukoliko se složenost određivanja MSFW posmatra u odnosu na MSC i MSW, moglo bi se reći da je ovaj metod sličniji MSC. Prilikom određivanja MSFW vrednosti jednog uzorka, nakon klasifikacije stabljika lucerke u morfološke faze prema Kalu and Fick (1981) vrši se merenje utvrđenih faza. Ukoliko se vreme za merenje zanemari, period potreban za određivanje MSFW je određen samo vremenom potrebnim za klasifikaciju faza. U obavljenom istraživanju vreme potrebno za određivanje MSFW je iznosilo oko 45 minuta kod najkomplikovanijih uzoraka (uzorci sa 5 i više morfoloških faza). U slučaju MSC nakon klasifikacije faza vrši se određivanje broja stabljika u svim prisutnim morfološkim fazama tako da je vreme za određivanje MSC slično kao kod MSFW. Međutim, u slučaju MSW, nakon klasifikacije stabljika u morfološke faze, potrebno je sušenje ovih faza u sušnici na 60 °C (na 65 °C prema Kalu and Fick, 1981) u trajanju od oko 48 sati i njihovo merenje.

Vremenski interval potreban za sušenje, kao i potrebna oprema (laboratorijska sušnica) su od strane većeg broja autora navedeni kao osnovni razlozi koji ograničavaju primenu MSW metode (Fick and sar. 1994; Sulc *et al.* 1997; Berg, 2000). Ovo ograničenje je verovatno predstavljalo osnovni razlog zbog koga je u više istraživanja korišćena MSC vrednost (Berg, 2000; Hall *et al.* 2000; Pembleton *et al.* 2010b). Prema Berg (2000) MSW je bio razmatran za korišćenje u njihovom istraživanju, ali je izostavljen zbog predugog intervala sušenja (48 h). Sa druge strane, kao što je već objašnjeno, MSC ne predstavlja najbolje merilo srednje morfološke faze, pošto ne prati u potpunosti starenje biljaka lucerke.

Iako se MSW smatra najboljim parametrom za određivanje prosečne faze razvoja lucerke (Kalu and Fick, 1981; Mueller and Fick, 1989; Sulc *et al.* 1997), ovaj metod ima značajne metodoloških probleme koji mogu ograničiti njegovu primenu. U praktičnim uslovima vreme potrebno za njegovo određivanje veoma značajno limitira njegovu upotrebnu vrednost. Ukoliko bi se njime određivao najpogodniji momenat za košenje pri spremanju sena ili silaže (senaže) nakon dva dana (koliko traje njegovo određivanje) bi moglo doći do značajnih promena vremenskih prilika koje bi mogle odložiti košenje površine pod lucerkom. Pored ovog ograničenja, prema metodologiji (Kalu and Fick, 1981) sva dalja istraživanja na biljnom materijalu se rade na istom uzorku na kom je vršeno određivanje MSW vrednosti. Ovo može predstavljati ozbiljno ograničenje ukoliko je u nekim istraživanjima neophodno da bilini materijal ne bude termički tretiran (određivanje pufernog kapaciteta, ispitivanje nekih proteinskih frakcija, siliranje...). Da bi se prevazišlo ovo ograničenje u nekim istraživanjima parcela za košenje je deljena na dva ili više delova (Hintz and Albrecht, 1991) tako da je na jednom delu biljne mase određivana MSW vrednost, dok su sve ostale analize rađene na drugom delu biljne mase. Slično ovome, zbog potrebe za velikim uzorkom u istraživanju Komprda et al. (1993) prilikom uzorkovanja materijala za analize paralelno je uziman uzorak za određivanje MSW. Ovo može predstavljati veliko ograničenje ukoliko je cilj istraživanja izvođenje regresija na osnovu MSW vrednosti. Naime, tokom ovog istraživanja kada su uzorkovanja vršena na maloj udaljenosti često su dobijane veće razlike u MSW ovako sakupljenih uzoraka, što ukazuje na različitu zrelost uzoraka koji mogu da se nalaze veoma blizu. Na grafikonu 5-1 se mogu uočiti veće razlike među uzorcima koju su sakupljani istog dana. Na primer 31. maja (I otkos) je u tri sakupljena uzorka utvrđena vrednost MSW od 3,81; 5,03 i 5,55. Ova pojava nije bila ograničena samo na I otkos, naime u III otkosu u uzorcima sakupljenim 21. jula je utvrđen MSW od 1,81; 2,51 i 2,97. Zbog toga se opravdano može reći da je u istraživanjima koja imaju za cilj izvođenje regresija neophodno da se sve analize rade na istom materijalu na kom je utvrđena srednja morfološka faza. Zbog svih ovih razloga kao i zbog utvrđene veoma velike sličnosti sa MSW, MSFW ima brojne prednosti u odnosu na ostala dva ispitivana postupka utvrđivanja srednje morfološke faze.

# 5.3 MEĐUSOBNI ODNOSI PARAMETARA HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE

U svim sakupljenim uzorcima je navedenim hemijskim analizama određen udeo sledećih hemijskih parametara: SP, SPe, SMa, aNDF, ADF, ADL, NDICP, ADICP, izražen u g/kg SM. Na osnovu hemijskih parametara, obračunom su određeni celuloza (jednačina [4-5]), hemiceluloza (jednačina [4-6]), kao i NFC – nevlaknasti ugljeni hidrati (jednačina [4-7]). *In vitro* svarljivost organske materije je određena na osnovu rezultata analize gas produkcije (Menke *et al.* 1979) kao i na osnovu količine SP i SPe. Obračun IVSOM je obavljen jednačinom [4-8]. Obračun energetskih frakcija DE, ME i NE<sub>L</sub> je izvršen prema NRC (2001), na osnovu hemijskih analiza. Prosečna količina ispitivanih parametara je prikazana u tabeli 5-14, vrednosti su prikazane po otkosima i objedinjeno za sve otkose.

Tabela 5-14. Prosečna vrednost ispitivanih parametara hranljive vrednosti lucerke po ispitivanim otkosima i objedinjeno za sve otkose. Svi parametri su izraženi u g/kg SM, osim ako je drugačije naznačeno (SD; min-max)

Parametar	I OTKOS ( <i>n</i> =72)	II OTKOS ( <i>n</i> =35)	III OTKOS ( $n=34$ )	SVI OTKOSI1 (n=141)
SP	200,97 <sup>Bab</sup> (50,21; 152,3-342,5)	199,99 <sup>ABb</sup> (30,32; 160,2-276,6)	226,61 <sup>Aa</sup> (43,88; 178,1-365,4)	206,91 <sub>(45,61; 152,3-365,4)</sub>
SPe	88,96 <sup>B</sup> (11,89; 68,2-117,62)	85,21 <sup>B</sup> (9,07; 75,5-112,7)	105,28 <sup>A</sup> (11,57; 88,5-142,88)	91,97 <sub>(13,5; 68,2-142,88)</sub>
SMa	32,15(7,84; 22,68-49,04)	32,40 <sub>(4,43; 22,96-43,05)</sub>	33,48(4,68; 28,41-44,42)	32,53 <sub>(6,43; 22,68-49,04)</sub>
aNDF	426,56 <sup>B</sup> <sub>(82,32; 234,32-558,28)</sub>	$445,\!41^{\rm B}_{(56,52;\ 279,36\text{-}525,26)}$	375,55 <sup>A</sup> (58,15; 228,7-447,49)	418,94(75,31; 228,7-558,28)
ADF	327,68 <sup>Bb</sup> (65,35; 161,26-433,54)	357,02 <sup>Ba</sup> (45,68; 236,71-409,4)	280,70 <sup>Aab</sup> (45,94; 154,76-334,98)	323,64 <sub>(62,49; 154,76-433,54)</sub>
ADL	64,05 <sup>B</sup> <sub>(18,93; 21,6-103,55)</sub>	65,69 <sup>B</sup> (15,59; 34,79-86,95)	54,37 <sup>A</sup> (11,29; 22,72-70,61)	62,12 <sub>(17,04; 21,6-103,55)</sub>
NFC	282,95 <sup>B</sup> <sub>(24,31; 214,15-356,16)</sub>	264,58 <sup>A</sup> (19,82; 239,45-333,26)	290,72 <sup>B</sup> (9,86; 268,68-312,65)	280,26(22,58; 214,15-356,16)
NDICP	31,59 <sup>B</sup> <sub>(5,1; 25,17-51,17)</sub>	27,59 <sup>A</sup> <sub>(3,43; 20,37-36,24)</sub>	31,64 <sup>B</sup> <sub>(6,95; 24,08-54,89)</sub>	30,61 <sub>(5,52; 20,37-54,89)</sub>
ADICP	9,97 <sup>B</sup> <sub>(1,85; 6,26-14,98)</sub>	10,16 <sup>B</sup> <sub>(1,13; 8,27-12,43)</sub>	9,02 <sup>A</sup> (1,42; 6,4-13,32)	9,79 <sub>(1,65; 6,26-14,98)</sub>
Celuloza	253,67 <sup>C</sup> <sub>(46,17; 132,59-324,41)</sub>	281,17 <sup>B</sup> <sub>(30,97; 192,11-321,83)</sub>	217,31 <sup>A</sup> (34,47; 125,64-256,84)	251,73 <sub>(45,83; 125,64-324,41)</sub>
Hemiceluloza	77,25 <sub>(21,18; 32,09-119,36)</sub>	70,96(13,48; 31,85-100,1)	72,23(17,85; 26,57-105,94)	74,48(18,84; 26,57-119,36)
SP/NDF	0,53 <sup>ABb</sup> (0,3; 0,28-1,41)	0,47 <sup>Bab</sup> (0,15; 0,31-0,99)	0,64 <sup>Aa</sup> (0,28; 0,4-1,6)	0,54(0,27; 0,28-1,6)
$GP (ml)^2$	42,37 <sub>(3,55; 32,59-49,5)</sub>	42,70(2,06; 36,25-48,76)	41,59(1,68; 38,94-45,12)	42,26(2,87; 32,59-49,5)
IVSOM (g/kg) <sup>3</sup>	681,29 <sub>(56,54; 565,07-812,37)</sub>	682,36 <sub>(33,11; 602,06-776,0)</sub>	693,20 <sub>(38,89; 648,89-795,41)</sub>	684,43 <sub>(47,63; 565,07-812,37)</sub>
TDN <sub>1x</sub>	621,16 <sup>ab</sup> (53,67; 536,15-758,36)	615,38 <sup>b</sup> (37,5; 556,83-720,05)	637,55 <sup>a</sup> <sub>(32,72; 597,73-747,32)</sub>	623,68 <sub>(46,06; 536,15-758,36)</sub>
$DE_{1x} (MJ)^4$	11,99 <sup>b</sup> (1,23; 10,23-15,24)	11,89 <sup>b</sup> (0,83; 10,63-14,18)	12,44 <sup>a</sup> (0,83; 11,52-15,2)	12,08(1,07; 10,23-15,24)
$ME_{3x} (MJ)^4$	9,25 <sup>b</sup> (1,15; 7,61-12,29)	9,15 <sup>b</sup> (0,78; 7,98-11,29)	9,66 <sup>a</sup> <sub>(0,78; 8,8-12,24)</sub>	9,33 <sub>(1,0; 7,61-12,29)</sub>
$NE_{L3x} (MJ)^4$	5,72 <sup>ab</sup> (0,82; 4,55-7,89)	5,64 <sup>b</sup> (0,55; 4,81-7,17)	6,00 <sup>a</sup> <sub>(0,56; 5,39-7,84)</sub>	5,77 <sub>(0,71; 4,55-7,89)</sub>

<sup>A,B,C</sup> Proseci konkretnih otkosa sa različitim slovom se razlikuju veoma značajno (LSD test; p<0,01)

<sup>a,b,c</sup> Proseci konkretnih otkosa sa različitim slovom se razlikuju značajno (LSD test; p<0,05)

<sup>1</sup>Prosečna vrednost izračunata za sve otkose nije upoređivana sa prosecima izračunatim za konkretne otkose <sup>2</sup>Stvorena količina gasa za 24 h inkubacijom u buražnom soku izražena u ml/200 mg SM

<sup>3</sup>IVSOM je izražena u g/kg organske materije

<sup>4</sup>Energetske frakcije DE, ME i NE<sub>L</sub> su izražene u MJ/kg SM

#### 5.3.1 Hemijski parametri kvaliteta lucerke

Na grafikonima od 5-23 do 5-31 utvrđene količine analiziranih hemijskih parametra u uzorcima su navedene u odnosu na datum uzorkovanja. Primetan je trend opadanja količine SP, SPe, SMa i NFC sa odmicanjem vegetacije, dok se količina aNDF, ADF i ADL u lucerki povećavala. U slučaju NFC primetna je veća raspršenost uzoraka, kao i skoro potpuno odsustvo trenda smanjenja u II i III otkosu. Potpuno odsustvo trenda je uočeno jedino kod proteinskih frakcija vezanih za ćelijski zid, NDICP i ADICP (Grafikoni 5-30 i 5-31).

Kod svih hemijskih parametara u odnosu na I i III otkos, u slučaju II otkosa primetne su drugačije početne vrednosti. Ovo je posledica kašnjenja u sakupljanju uzoraka iz II otkosa koje je bilo uslovljeno lošim vremenskim uslovima i malom količinom biljne mase po m<sup>2</sup>. U tom smislu, početnu vrednost ne treba tretirati kao razliku pri poređenju otkosa. Sa druge strane, u svim otkosima uzorci su sakupljani do kraja vegetacije, tako da je opravdano poređenje trendova praćenih hemijskih parametara.

Na grafikonima od 5-23 do 5-29 se može uočiti izdvajanje trećeg otkosa po svim glavnim hemijskim parametrima, što je prikazano i u tabeli 5-14. Prosečno, uzorci iz trećeg otkosa su imali statistički značajno više SP, SPe i NFC, a manje aNDF, ADF i ADL. Većina ovih razlika je bila veoma statistički značajna (p < 0,01). Statistički značajno (p < 0,01) manje ADICP je takođe uočeno u III otkosu, što takođe predstavlja značajnu činjenicu, ako se ima u vidu da ova frakcija proteina predstavlja lignificirani protein nedostupan životinji (frakcija C, Sniffen *et al.* 1992).



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-23. Količina SP u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-25. Količina SMa u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-24. Količina SPe u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



Grafikon 5-26. Količina NFC u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-27. Količina aNDF u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-29. Količina ADL u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-28. Količina ADF u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-30. Količina NDICP u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima



Grafikon 5-31. Količina ADICP u g/kg SM po uzorcima u ispitivanim otkosima

Povećana količina SP i NFC, odnosno smanjena količina aNDF, ADF i ADL predstavlja poželjnu karakteristiku svake kabaste hrane zbog čega se može reći da je III otkos imao veću hranljivu vrednost u odnosu na prva dva otkosa. Ovo je potvrđeno i većom količinom TDN, odnosno, svih utvrđenih energetskih frakcija o čemu će kasnije biti reči. Međutim, dobijene razlike treba uslovno prihvatiti pošto je ova analiza izvršena analizom varijanse. U ovom slučaju izvođenje zaključka analizom varijanse može predstavljati problem. Ako se zna da se tokom vegetacionih ciklusa (otkosa) dešavaju značajne promene u biljkama, u tom smislu prosečna vrednost otkosa je u značajnoj zavisnosti od frekvencije odnosno distribucije uzorkovanja tokom ciklusa vegetacije. U obavljenom istraživanju u I otkosu postoji značajna razlika broja uzoraka sakupljenih na početku, sredini i na kraju ovog ciklusa vegetacije u odnosu na II i III otkos. Uzorkovanje u II otkosu je kasnije započeto što je sigurno uticalo na utvrđenu prosečnu vrednost parametara ovog otkosa. Zbog toga je poređenje kvaliteta biljnog materijala između više otkosa moguće jedino poređenjem uzoraka sa istom morfološkom fazom iz različitih otkosa.

Na prikazanim grafikonima kod najvažnijih hemijskih parametara (SP, SPe, SMa, aNDF, ADF, ADL) primetan je linearni tok opadanja ili povećanja njihove vrednosti u prvoj polovini vegetacije (I otkos), odnosno tokom cele vegetacije kod II i III otkosa. U slučaju NFC može se govoriti o trendu smanjenja kod uzoraka iz I i II otkosa, međutim, kod III otkosa je primetno skoro potpuno odsustvo trenda. Zabeleženi trend SP, SMa, aNDF, ADF i ADL je u I otkosu bio promenljiv, za razliku od trenda u

II i III otkosu. Kod svih navedenih parametara, u I otkosu je primetan jasan linearni trend opadanja (SP, SMa) odnosno porasta (aNDF, ADF, ADL) do oko 13. maja (53. dan vegetacije), nakon čega je kod svih navedenih parametara zabeleženo stagniranje. Tačnije, početak stagnacije navedenih parametara se nije desio istog dana, nego u intervalu od 6. do 14. maja. Konkretno, za SP 6. maja, 12. maja za aNDF, ADF i ADL, a u slučaju SMa stagnacija je započela 14. maja, odnosno 46., 52. i 54. dana vegetacije I otkosa, respektivno. Izuzetak je primećen u slučaju aNDF, ADF i ADL, gde je kod poslednjih pet uzoraka primećen ponovni porast ovih parametara. Niske dnevne temperature predstavljaju mogući uzrok ove pojave. Kao što je već pomenuto, Griffin *et al.* (1994) su takođe izrazili sumnju da hladne vremenske prilike mogu uticati na hranljivu vrednost.

Celuloza je imala sličan trend kao i aNDF sa odmicanjem vegetacije (Grafikon 5-32). Količina celuloze je bila najveća u II otkosu (p<0,01). Najmanja količina celuloze je utvrđena u III otkosu (p<0,01), što je posledica utvrđene najmanje količine NDF u ovom otkosu (Tabela 5-14). U slučaju hemiceluloze (Grafikon 5-33) takođe je primetan sličan trend uz nešto veću raspršenost uzoraka u drugoj polovini svih ispitivanih otkosa.





Odnos SP i NDF je bio najveći u III otkosu (Tabela 5-14), što je razumljivo zbog značajno veće količine SP odnosno manje količine aNDF u biljkama iz III otkosa u odnosu na biljke iz I i II otkosa. Na grafikonu 5-34 prikazan je linearan odnos SP i aNDF kao i trend smanjenja SP u odnosu na povećanje aNDF izračunat za sve otkose. Primećene su razlike u brzini opadanja SP sa povećanjem aNDF u ispitivanim otkosima (Grafikon 5-35). Izraženo regresionim koeficijentom "b", u III otkosu SP je opadao za 0,73 sa povećanjem aNDF, što je značajno brže od pada u I i II otkosu.





5.3.1.1 Odnosi hemijskih parametara u okviru ćelijskog zida

Linearnost veze između ADF i aNDF je prikazana na grafikonu 5-36. Pored jasnog trenda uočljivo je veće odstupanje kod uzoraka iz I otkosa. Naime, u intervalu ADF od 330 do 390 g/kg SM primećen je konstantan nivo aNDF od oko 460 g/kg SM. Uprkos pomenutom odstupanju, jednačina [5-75], izvedena za procenu aNDF na osnovu ADF (Grafikon 5-36), je imala grešku od 14,95 g/kg SM. Ova greška čini maksimalno do 7 % aNDF kod najmlađih uzoraka sa najnižim sadržajem aNDF, dok bi kod uzoraka sa aNDF od 300 do 450 g/kg SM ona činila od 3 do 2 %.



Izvođenje jednačine [5-75] je opravdano ako se ima u vidu da je NDF analiza mnogo skuplja od ADF analize, što predstavlja razlog zbog čega se u nekim zemljama upotreba deterdžent analiza ograničava samo na ADF (Van Soest, 1994). U prilog ovome ide i činjenica da je u odnosu na ADF, NDF bolje merilo potreba u vlaknima kao i bolji pokazatelj vremena preživanja i konzumacije (Van Soest et al. 1991). U literaturi je prikazano više jednačina za konvertovanje ADF u NDF. Putnam (1998) navodi jednačinu za seno lucerke sa  $R^2$  od 0.9042. Putnam (2004) navodi vrednost  $R^2$  od 0.9156 utvrđen za 318 uzoraka sena lucerke i 0.9727 za nepoznati materijal, dok Putnam and Undersander (2006) navode 0.9343 u senu lucerke i 0.82 u različitom kabastom materijalu. Kod svih navedenih jednačina nije prikazan RMSE. U odnosu na jednačinu [5-75], sve jednačine određene na osnovu analiza lucerkinog sena imaju znatno niži  $R^2$ . Međutim, treba uzeti u obzir da su skoro sve jednačine dobijene na osnovu analiza lucerkinog sena koje svakako predstavlja izmenjen biljni materijal u odnosu na materijal iz ovog istraživanja. Iako u navedenoj literaturi nije navedena starost lucerke, na osnovu prikazanih grafikona, kao i na osnovu grafikona 5-36 se može pretpostaviti da starost lucerke nema uticaj na odnos između ovih frakcija ćelijskog zida. Opisana devijacija kod uzoraka u prvom otkosu ne predstavlja značajnije odstupanje od izvedene jednačine.

Sa druge strane, ADF analiza je kritikovana i zbog njene štetnosti po okolinu (Robinson, 1999). Kvalitet lucerkinog sena se na tržištu SAD izražava preko TDN i relativne vrednosti hraniva (RFV – *Relative Feed Value*). Jednačine za obračun TDN i RFV kod lucerke koja je predmet kupoprodaje u SAD su još uvek bazirane na ADF, zbog čega postoji potreba konverzije NDF u ADF (Putnam, 1998; Robinson 1999). Jednačina [5-76] prikazuje konverziju aNDF u ADF na osnovu rezultata obavljenog istraživanja:

 $ADF = 0.8131 \times aNDF - 17,0014$  n = 141; R<sup>2</sup> = 0.9603; RMSE = 12,41 [5-76] pri čemu su ADF i aNDF izraženi u g/kg SM. Svi regresioni koeficijenti u jednačinama [5-75] i [5-76] su bili statistički vrlo značajni (p<0.01).

Promene odnosa ispitivanih hemijskih komponenata ćelijskog zida (celuloza, hemiceluloza, lignin i NDICP) u okviru NDF, prikazane za celu vegetaciju, su date na grafikonima 5-36, 5-37 i 5-38. Može se reći da celuloza predstavlja najstabilniju



komponentu, dok hemiceluloza i lignin imaju tendenciju porasta u prvoj polovini vegetacije u sva tri otkosa. Kod NDICP su zabeležene najdrastičnije promene.

Grafikon 5-36. Međusobni odnos komponenata aNDF, tokom vegetacije I otkosa







Grafikon 5-38. Međusobni odnos komponenata aNDF, tokom vegetacije III otkosa

Udeo hemijskih komponenata u ćelijskom zidu (aNDF) je prikazan i na grafikonima od 5-39 do 5-42. Razlike između otkosa su primetne samo u udelu celuloze i hemiceluloze. Udeo celuloze u aNDF je procentualno bio najveći u II otkosu, a najmanji u III otkosu (Grafikon 5-39). U odnosu na udeo hemiceluloze izdvojio se samo III otkos u kom je njen udeo u aNDF bio najviši. Ove varijacije je teško objasniti, pogotovo ako se ima u vidu jasno izdvajanje II otkosa po udelu celuloze u aNDF i u odnosu na apsolutnu količinu celuloze (Tabela 5-14). U ovom slučaju, za ovo se ne može "okriviti" činjenica da je uzorkovanje II otkosa kasnije započeto, pošto je izdvajanje II otkosa bilo suviše izraženo. Moguće objašnjenje ove pojave predstavljaju nagle promene vremenskih uslova u II otkosu. Naime, ovaj otkos se u početku odlikovao vrlo visokim temperaturama, koje su naglo smenjene relativno dugim periodom hladnog vremena, da bi se pri kraju dnevna temperatura opet uvećala.

Kod udela celuloze (Grafikon 5-39) u aNDF je primetno odsustvo bilo kakvog trenda, dok je trend izražen kod lignina i NDICP (Grafikoni 5-40 i 5-41). U slučaju hemiceluloze (Grafikon 5-42) trend nije bio izražen (osim u III otkosu), ali se može govoriti o tendenciji porasta njenog udela u aNDF. Prema ovim rezultatima, može se reći da su celuloza i hemiceluloza relativno konstantne u aNDF, odnosno da je njihovo apsolutno povećanje (Grafikoni 5-32, 5-33) bilo proporcionalno povećanju aNDF. Zanimljivo je da je apsolutna količina NDICP (Grafikon 5-30) jedina komponenta ćelijskog zida koja gotovo da nema bilo kakvu tendenciju porasta tokom vegetacije. Sa druge strane, NDICP izražen kao procenat NDF je imao najizraženiji trend.

Postoji mišljenje da lignifikacija, povećanje udela lignina, dovodi do povećanja proteina vezanog za ćelijski zid (NDICP i ADICP). Naime, prema Van Soest (1994) lignifikacija utiče samo na smanjene svarljivosti ćelijskog zida, a ne na svarljivost hemijskih komponenata unutar ćelije. Dobijeni rezultati iz obavljenog istraživanja ne potvrđuju pomenutu pretpostavku kao i rezultate Goering *et al.* (1972). Van Soest (1994) ukazuje i na značajne razlike u uticaju lignina na svarljivost između familija trava i leguminoza. Ako se posmatra apsolutna količina lignina, izražena kao ADL (Grafikon 5-29), i apsolutna količina NDICP (Grafikon 5-30), lignin ima tendenciju porasta tokom vegetacije, dok je NDICP gotovo konstantan, osim u III otkosu. Izraženo kao procenat aNDF, lignin i NDICP su imali obrnuti trend, udeo lignina u aNDF se povećava dok udeo NDICP u aNDF opada odmicanjem vegetacije.



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-39. Udeo celuloze u aNDF u uzorcima u ispitivanim otkosima



1. apr 15. apr 29. apr 13. maj 27. maj 10. jun 24. jun 8. jul 22. jul 5. avg Grafikon 5-41. Udeo lignina (ADL) u aNDF u uzorcima u ispitivanim otkosima



Grafikon 5-40. Udeo hemiceluloze u NDF u uzorcima u ispitivanim otkosima





Zbog male vrednosti R<sup>2</sup>, između ADL i NDICP u svim sakupljenim uzorcima (Grafikon 5-43), može se reći da jasnog odnosa gotovo da nije bilo. Linija trenda je opadala, ali zbog velike raspršenosti se teško može govoriti o povećanju NDICP sa porastom ADL.

ADICP je takođe bio u slaboj korelaciji sa ADL (Grafikon 5-44), što predstavlja razliku u odnosu na Goering *et al.* (1972). Naime, na osnovu 47 uzoraka kabastih hraniva Goering *et al* (1972) su utvrdili  $R^2$  od 0,85 između ADIN i ADL. Takođe, na povezanost ADICP sa ligninom ukazuju i Sniffen *et al.* (1992). Ipak, u odnosu na NDICP, se može govoriti o tendenciji njegovog porasta sa povećanjem ADL. Ovaj porast ADICP je bio relativno mali ako se posmatra u odnosu na porast ADL. Povećanje ADL od 5 puta je bilo praćeno porastom ADICP od 2 puta, što govori da se lignin i ADICP ne nalaze u direktnoj zavisnosti. Na osnovu male vrednosti  $R^2$  između ADL i obe proteinske frakcije u ćelijskom zidu se može reći da ADL od 65 do 80 g/kg SM je primećeno potpuno odsustvo trenda NDICP i ADICP, što se datumski poklapa sa pomenutom stagnacijom ADL, ali i ostalih hemijskih parametara (SP, SMa NDF, ADF).

Za razliku od trenda povećanja ADICP sa povećanjem ADL, relativni udeo ADICP u ADF se smanjivao sa odmicanjem vegetacije (Grafikon 5-45). Slično kao i u slučaju NDICP, ovo predstavlja razliku u odnosu na odsustvo trenda kod apsolutne količine ADICP u uzorcima (Grafikon 5-31). Smanjenje udela ADICP u ADF sa

starenjem lucerke nije bilo izraženo kao kod smanjenja udela NDICP u NDF. Udeo celuloze i ADL u ADF je bio veoma sličan njihovom trendu u NDF.



U tabeli 5-15 su prikazani utvrđeni R<sup>2</sup> između svih komponenata aNDF i ADF, kao i njihove veze sa aNDF i ADF. Primetno je da su proteinske frakcije ćelijskog zida najslabije povezane sa aNDF i ADF, što je naročito izraženo kod NDICP. Hemiceluloza i ADL su najbolje povezani sa aNDF, dok je celuloza veoma visoko povezana sa ADF. U tabeli su prikazane sve međusobne kombinacije, od kojih su neke čisto teoretske (hemiceluloza-ADICP...).

Tabela 5-15. Koeficijenti determinacije ( $R^2$ ) između frakcija i hemijskih komponenata ćelijskog zida, izračunato za sve uzorke n = 141

	aNDF	ADF	Celuloza	Hemiceluloza	ADL	NDICP	ADICP
aNDF		0,9603	0,924	0,7517	0,9085	0,0578	0,3202
ADF	0,9603		0,9883	0,578	0,8851	0,1325	0,3697
Celuloza	0,924	0,9883		0,5145	0,7925	0,1491	0,3374
Hemiceluloza	0,7517	0,578	0,5145		0,6707	0,0048	0,1671
ADL	0,9085	0,8851	0,7925	0,6707		0,0736	0,3253
NDICP	0,0578	0,1325	0,1491	0,0048	0,0736		0,0675
ADICP	0,3202	0,3697	0,3374	0,1671	0,3253	0,0675	

## 5.3.1.2 Sirovi protein i proteinske frakcije ćelijskog zida

Prema Sniffen *et al.* (1991) komponente sirovog proteina se prema razgradivosti u buragu svrstavaju u 5 frakcija označenih sa A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> i C, poređano po brzini razgradnje u buragu. Ove frakcije se u literaturi često nazivaju CNCPS proteinskim frakcijama. Ovi parametri predstavljaju hemijske frakcije dobijene različitim hemijskim analizama koje se zasnivaju na njihovoj rastvorljivosti u različitim rastvaračima. Frakciju A čini neproteinski azot (azotna jedinjenja, amino kiseline i peptidi) koji se gotovo trenutno razgrađuje u buragu. Frakcije B označavaju pravi protein koji se različitom brzinom razgrađuje u buragu. B<sub>1</sub> frakcija se skoro u potpunosti razgrađuje u buragu, dok razgradnja B<sub>2</sub> frakcije zavisi od brzine pasaže kroz burag (Sniffen *et al.* 1992). B<sub>3</sub> čini pravi protein koji se može smatrati nerazgradivim u buragu zbog vrlo spore razgradnje. Tačnije, prema Chalupa and Snifen (1994), brzina razgradnje B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> i B<sub>3</sub> frakcije u buragu redom iznosi 200-300, 5-15 i 0,1-1,5 %/h, dok njihova svarljivost u tankom crevu iznosi 100, 100 i 80 % (citat prema McDonald *et al.* 2011). NRC (2001) navodi čak i uži interval razgradivosti B<sub>3</sub> frakcije koji prema njima iznosi od 0,06 do 0,55 %/h. B<sub>3</sub> frakcija se definiše kao protein koji je nerastvorljiv u neutralnom a rastvorljiv u kiselom deterdžentu. Praktično, B<sub>3</sub> se određuje kao razlika između proteinskih frakcija u ćelijskom zidu, i računa se jednačinom [5-77].

$$B_3 = NDICP - ADICP \qquad [5-77]$$

C frakciju čini ADICP, shodno tome NDICP predstavlja B<sub>3</sub> i C frakciju zajedno. Frakciju proteina koja je nerazgradiva u buragu najvećim delom čini deo B<sub>2</sub>, deo B<sub>3</sub> i cela C frakcija, pri čemu je C frakcija nerazgradiva u buragu i nesvarljiva u tankom crevu. Kod većine hraniva najveći deo nerazgradivog proteina čini B<sub>2</sub> frakcija (Van Soest, 1994), dok NDICP (B<sub>3</sub> i C frakcija) predstavlja manji deo. Nerazgradivi deo B<sub>2</sub> je varijabilan i zbog toga nije hemijski definisan i može se utvrditi i in situ metodom. Iako Sniffen *et al.* (1992) opisuju  $B_3$  kao sporo razgradivu frakciju proteina, zbog prikazanih veoma niskih intervala razgradnje (Chalupa and Sniffen, 1994; NRC, 2011) za potrebe ovog istraživanja B<sub>3</sub> će zajedno sa C frakcijom biti smatrana nerazgradivom frakcijom proteina. Ovo je u saglasnosti sa Fox et al. (2003), prema kojima se B3 definiše kao sporo razgradiva proteinska frakcija koja skoro u potpunosti izbegava razgradnju u buragu. Sličan pristup su imali i Griffin et al. (1994) u istraživanju vezanom za lucerku, kada su poredili NDIN, ADIN kao i NDIN umanjen za ADIN sa jedne strane, i in situ određen nerazgradivi protein sa druge strane. U prilog ovakvom tumačenju B<sub>3</sub> frakcije ide i činjenica da je čitav koncept razgradivosti CNCPS proteinskih frakcija uslovan. Na primer, u NRC (2001) je demonstrirano da čak pri brzini razgradnje od 300 %/h i brzini

pasaže od 3 %/h, mali deo frakcije A takođe prelazi u nerazgradivi protein. Sa druge strane prema Van Soest (1994) i Licitra *et al.* (1996) postoje brojni navodi koji ukazuju da se može govoriti o delimičnoj razgradivosti i svarljivosti C proteinske frakcije.

Iz sprovedenog istraživanja dostupni su samo podaci o B<sub>3</sub> i C frakciji kao i frakcijama A, B<sub>1</sub> i B<sub>2</sub> zajedno. Zbog prikazanih zanemarljivih stopa razgradnje, B<sub>3</sub> i C bi predstavljale frakcije nerazgradivog proteina. U tom slučaju frakcije A, B<sub>1</sub> i B<sub>2</sub> zajedno se mogu tumačiti kao potencijalno razgradivi protein. Najveći problem u razgraničavanju razgradivog i nerazgradivog proteina čini frakcija B<sub>2</sub> koja je varijabilno razgradiva, zbog toga je korišćen termin "potencijalno razgradiv protein" u daljem delu teksta označen sa SP<sub>R</sub>. Nivo SP<sub>R</sub> u svim sakupljenim uzorcima tokom vegetacije sva tri ispitivana otkosa je prikazan na grafikonu 5-46, dok je nivo B<sub>3</sub> frakcije prikazan na grafikonu 5-47. Pošto frakciju C čini ADICP, ona je prikazana na grafikonu 5-31.



Grafikon 5-46. Količina potencijalno razgradivog proteina (SP<sub>R</sub>) u g/kg SM u svim sakupljenim uzorcima



Grafikon 5-47. Količina B3 frakcije proteina u g/kg SM u svim sakupljenim uzorcima

Uočljivo je da je trend  $SP_R$  sličan trendu SP a trend frakcije  $B_3$  veoma sličan trendu NDICP. Naime  $R^2$  između SP i  $SP_R$  je bio 0,9865, dok je između NDICP i  $B_3$  bio 0,933. Za ovako visoke korelacije je verovatno najzaslužniji mali udeo NDICP u SP, odnosno mali udeo ADICP u NDICP, što se može uočiti i na grafikonima relativnog udela frakcija SP u ukupnom SP (Grafikoni 5-48, 5-49 i 5-50).



6. *jul* 9. *jul* 12. *jul* 15. *jul* 18. *jul* 21. *jul* 24. *jul* 27. *jul* 30. *jul* 2. *avg* 5. *avg* 8. *avg* Grafikon 5-50. Udeo proteinskih frakcija u SP tokom vegetacije III otkosa

Frakcija  $SP_R$  je bila relativno konstantna u II i III otkosu, dok je frakcija  $B_3$ imala blagu tendenciju povećanja udela u SP u I i II otkosu, a u III otkosu je bila konstantna (Grafikon 5-51). Primetan je trend povećanja udela frakcije C u ukupnom SP u svim otkosima sa odmicanjem vegetacije (Grafikon 5-52). Najizraženije uvećanje frakcije C je bilo u I otkosu, dok je najmanje izraženo u III otkosu. Iako frakcija C, izražena u SM, skoro nije imala trend uvećanja tokom vegetacije (Grafikon 5-31), izraženo smanjenje SP<sub>R</sub> u biljkama tokom vegetacije (Grafikon 5-46) je dovelo do povećanja procentualnog udela frakcije C u SP. Slično je i sa frakcijom B<sub>3</sub> kao i sa NDICP, čiji je trend uvećanja u SP prikazan na grafikonima 5-51 i 5-53. Pošto B<sub>3</sub> frakcija čini većinu NDICP, odnosno udeo ADICP je relativno mali, NDICP je imao sličan trend uvećanja u ukupnom SP kao i B<sub>3</sub>. Ovo je rezultat visoke korelisanosti između ova dva parametra, izračunato na osnovu svih uzoraka korelacija između NDICP i B<sub>3</sub> frakcije je iznosila 0,9659. Povezanost B<sub>3</sub> sa ostalim parametrima, izraženo R<sup>2</sup>, je iznosila 0,2336; 0,1348; 0,2394; 0,1568; 0,2517; 0,0295 za SP, aNDF, ADF, ADL, celulozu i hemicelulozu, redom. Ovi rezultati su različiti od navoda Goering et al. (1972), Licitra et al. (1996) i Sniffen et al. (1992). Licitra et al. (1996) navode da je protein vezan za ćelijski zid, kovalentno vezan za hemicelulozu, zbog čega se mogla očekivati veća povezanost B<sub>3</sub> frakcije sa hemicelulozom kao i ćelijskim zidom (aNDF) uopšte.



Grafikon 5-51. Udeo frakcije B3 u ukupnom SP svih sakupljenih uzoraka



1. apr 11. apr 21. apr 1. maj 11. maj 21. maj 31. maj 10. jun 20. jun 30. jun 10. jul 20. jul 30. jul 9. avg Grafikon 5-52. Udeo frakcije C u ukupnom SP svih sakupljenih uzoraka



Grafikon 5-53. Udeo NDICP u ukupnom SP svih sakupljenih uzoraka

Zbog prikazanih niskih korelacija frakcija B<sub>3</sub>, C (ADICP) i NDICP sa ostalim frakcijama ćelijskog zida (Tabela 5-15), teško je tvrditi da se sa povećanjem frakcija ćelijskog zida povećavaju ove frakcije nerazgradivog proteina. Kao što je navedeno, sa odmicanjem vegetacije, uočen je trend smanjenja apsolutne količine B<sub>3</sub> i NDICP, odnosno, blagi trend povećanja C frakcije ali uz veliku varijabilnost. Zbog izraženog trenda uvećanja komponenata ćelijskog zida, u slučaju povezanosti ovih proteinskih frakcija sa njima, bilo bi očekivano da se B<sub>3</sub>, C i NDICP jasno uvećavaju sa odmicanjem vegetacije. Postoji mogućnost da se ove proteinske frakcije dovedu u jaču vezu sa ćelijskim zidom ukoliko bi se analiza njihove povezanosti obavila višestrukom regresijom. U tom slučaju, kao nezavisne varijable bi trebalo uzeti više hemijskih komponenata ćelijskog zida.

Pošto je analiza ADICP u ovom istraživanju rađena u dva ponavljanja u svakom uzorku, uočena je velika varijabilnost između ponavljanja čime se delimično može objasniti varijabilnost ADICP. Sa druge strane, NDICP (analiza svakog uzorka rađena u tri ponavljanja) je vrlo malo varirao između ponavljanja. Međutim, i za NDICP se može reći da je takođe imao značajnu varijabilnost između uzoraka. Na osnovu ovoga, kao i na osnovu prikazane slabe povezanosti ovih frakcija sa drugim hemijskim parametrima se dovodi u pitanje hemijska definisanost frakcija B<sub>3</sub> i C. Sa nutritivne tačke gledišta evidentno je da ove frakcije postoje, međutim otvoreno je pitanje da li sistem po Sniffen et al. (1992) njih adekvatno definiše. Griffin et al. (1994) su ispitivali razgradivost proteina lucerke in situ i dobijene vrednosti uporedili sa količinom azota nerastvorljivog u neutralnom deterdžentu (NDIN) i kiselom deterdžentu (ADIN). Utvrđeni su R<sup>2</sup> između nerazgradivog proteina i NDIN, ADIN, NDIN umanjen za ADIN od 0,71: 0.68 i 0,48 respektivno. Sanderson and Wedin (1990) su ispitivali stablo lucerke i utvrdili su da je nerazgradivi N je bio visoko povezan sa ADIN (izražen kao udeo u ukupnom N)  $R^2$  je iznosio 0,93 a RMSE 8,9 g/kg. Navedeni rezultat treba prihvatiti uz rezervu, pošto su Kalu and Fick (1983) pokazali da mogu postojati značajne razlike u trendu hranljivih materija u stablu, lišću i celoj biljci. Dodatan problem u interpretaciji rezultata Sanderson and Wedin (1990) predstavlja činjenica da je istraživanje obavljeno na ograničenom broju uzoraka.

#### 5.3.1.3 Hemijski parametri kvaliteta u markantnim fazama razvoja lucerke

Utvrđena stagnacija količine SP, NDF, ADF i ADL u biljkama, u prvom otkosu, je veoma značajna sa stanovišta iskorišćavanja lucerke. Najčešće preporučeni termini za košenje su početak pupoljenja, puno pupoljenje, početak cvetanja i puno cvetanje. Ove opisne ocene se takođe veoma često koriste u literaturi za definisanje faze razvoja lucerke, međutim, vrlo je malo literaturnih navoda o konkretnoj metodologiji za njihovo definisanje. U novijoj literaturi postoji tendencija pogrešnog citiranja istraživanja Kalu and Fick (1991). Nekolicina istraživača (Testa *et al.* 2010; Yari *et al.* 2012a, 2012b) navodi da su prema Kalu and Fick (1981) odredili fazu pupoljenja, početak cvetanja i druge faze, iako u navedenom istraživanju takve definicije ne postoje. Takođe, mogu se sresti navodi i preporuke u kojima se pominje određeni procenat biljaka koje su u nekoj fazi. Po pravilu ovaj procenat se utvrđuje vizuelnim pregledom polja, što bi u naučnim

istraživanjima trebalo da bude neprihvatljivo, a nedovoljno je tačno i za praktičnu upotrebu. U daljem tekstu za ove momente u razvoju će se koristiti termin "markantna faza razvoja lucerke", a ne termin faza razvoja, da bi se eliminisala zabuna oko metodologije određivanja. Ovaj termin je odabran pošto se u praksi ovi momenti u razvoju određuju samo na osnovu pregleda najmarkantnijih biljaka, a ne pregledom svih biljaka na određenoj površini. Drugim rečima, procena markantne faze se obavlja konstatovanjem prisustva biljaka sa pupoljcima i cvetovima i vizuelnom procenom njihovog udela na površini. Ovakav način procene faze razvoja lucerke dominira u praksi. Umesto termina markantna faza u literaturi su korišćeni termini prividna faza (Fick *et al.* 1994) i vizuelna procena (Buxton, 1994). Kao što je već rečeno, termin "markantna faza" je odabran da bi se naglasilo da je ovako određena faza razvoja lucerke procenjena samo na osnovu markantnih biljaka.

U obavljenom istraživanju ove markantne faze nisu decidno definisane, pošto bi njihova procena bila subjektivna, već je naveden interval u kom možemo govoriti o početku pupoljenja, pupoljenju... U cilju definisanja ovih intervala prikazani su trendovi kretanja morfoloških faza, po Kalu and Fick (1981), na osnovu kojih se vrši ova procena (Grafikoni 5-54, 5-55 i 5-56). Na grafikonu 5-54 je prikazan procentualni udeo stabljika u fazama pupoljenja-butonizacije (3. + 4. faza), cvetanja (5. + 6. faza) i faza pojave mahuna (7. faza) u I otkosu. Prema Kalu and Fick (1981) u 3. i 4. fazu se klasifikuju stabljike sa prisutnim pupoljcima kao jedinim reproduktivnim organima. Prema istim autorima, 5. i 6. fazi pripadaju biljke koje pored pupoljaka imaju i pupoljke sa bar jednim potpuno formiranim (otvorenim) cvetom, dok mahune nisu prisutne. Broj stabljika u 3. i 4. fazi, odnosno 5. i 6., je prikazan objedinjeno, pošto se prema klasičnom sistemu momenat za košenje procenjuje na osnovu prisutnih biljaka sa pupoljcima, odnosno biljaka sa cvetovima. Linije trendova predstavljaju prosečnu količinu biljaka u navedenim fazama. Proseci su izračunati na osnovu svih uzoraka koji su sakupljeni u jednom danu i u istom otkosu.

Na osnovu grafikona 5-54 se može reći da je u prvom otkosu značajnije povećanje broja biljaka u butonizaciji zabeleženo od 44. do 46. dana vegetacije, odnosno od 4. do 6 maja. Najveći broj biljaka u pupoljenju je zabeležen od 48. do 59. dana vegetacije, odnosno od 8. do 19. maja. Sa druge strane, početak pojave stabljika sa cvetovima je primećen krajem ovog perioda pošto je u intervalu od 54. do 59. dana

vegetacije (od 14. do 19. maja) u uzorcima primećeno prosečno od 1,5 do 2,9 % stabljika sa cvetovima. Maksimum cvetanja je primećen od 63. do 67. dana vegetacije, odnosno od 23. do 27. maja, kada je po danima sakupljanja primećeno 7,5; 18,9 i 5,9 % stabljika sa cvetom. Vizuelno gledano, udeo biljaka sa cvetom se i dalje povećavao, ali je dalje povećanje bilo rezultat povećanja udela stabljika sa zelenim mahunama (7. faza). U 7. fazi cvetovi su i dalje prisutni uz primetan i veliki broj cvetonosnih grana sa formiranim mahunama. Slično I otkosu, na grafikonima 5-55 i 5-56 su prikazani trendovi istih morfoloških faza u II i III otkosu.



Grafikon 5-54. I otkos, relativno učešće broja stabljika u pupoljenju (3.+4. faza), cvetanju (5.+6. faza) i na početku formiranja mahuna (7. faza) u ukupnom broju stabljika u uzorku





Grafikon 5-55. II otkos, relativno učešće broja stabljika u pupoljenju (3.+4. faza), cvetanju (5.+6. faza) i na početku formiranja mahuna (7. faza) u ukupnom broju stabljika u uzorku

Grafikon 5-56. III otkos, relativno učešće broja stabljika u pupoljenju (3.+4. faza), cvetanju (5.+6. faza) i na početku formiranja mahuna (7. faza) u ukupnom broju stabljika u uzorku

Intervali pomenutih markantnih momenata u razvoju lucerke se mogu izvesti vodeći računa o preklapanju reproduktivnih faza lucerke (pupoljenje, cvetanje i formiranje mahuna). Tako, na primer, iako je pomenuto da je najveći broj biljaka u fazi pupoljenja, u I otkosu, zabeležen od 48. do 59. dana vegetacije, interval u kom je broj biljaka u pupoljenju (markantna faza, pupoljenje) bio najveći se mora ograničiti na interval od 48. do 54. dana vegetacije. Ovo ograničenje je potrebno zbog preklapanja pupoljenja sa početkom cvetanja. Slično je sa punim cvetanjem i pojavom biljaka sa mahunama. Prema ovom principu određeni su intervali pomenutih najmarkantnijih momenata razvoja lucerke (Tabela 5-16). Prema ovakvom obračunu, interval od početka pupoljenja do punog cvetanja je trajao 20, 18 odnosno 16 dana u I, II i III otkosu, redom. Uočljiva je tendencija skraćenja ovog perioda od I do III otkosa. Međutim, ovo skraćenje nije bilo toliko izraženo kao u slučaju skraćenja trajanja vegetacije po otkosima. U III otkosu je zabeleženo preklapanje tri praćene faze zbog čega je ove intervale teško razgraničiti (Grafikon 5-56).

Tabela 5-16. Intervali najmarkantnijih momenata u razvoju lucerke u I, II i III otkosu, prikazano u danima vegetacije, datumi su prikazani u zagradi

	Početak pupoljenja	Pupoljenje	Početak cvetanja	Puno cvetanje
Lotkos	44. – 46.	48 54.	55. – 59.	63. – 67.
1 Otkos	(46. maj)	(814. maj)	(1519. maj)	(2327. maj)
II otkos	17 20.	22 26.	28. – 31.	35. – 37.
	(1013. jun)	(1519. jun)	(2124. jun)	(2830. jun)
III otkos	11. – 14.	17. – 22.	23 24.	28. – 29.
	(1215. jul)	(1823. jul)	(2425. jul)	(2930. jul)

Na grafikonu 5-57 su obeleženi intervali markantnih faza razvoja lucerke (početak pupoljenja, pupoljenje, početak cvetanja, puno cvetanje) uz prikaz kretanja količine SP i celuloznih frakcija (aNDF, ADF, ADL). Za prikaz su odabrani pomenuti parametri pošto oni predstavljaju najvažnije hemijske komponente kabaste hrane. Sirovi protein je dostigao donji nivo od oko 180 g/kg SM u momentu početka pupoljenja i ostao je konstantan do kraja vegetacije, dakle i u svim ostalim markantnim fazama. Za razliku od SP, ADL je dostigao konstantnu vrednost (oko 70 g/kg SM) tokom faze pupoljenja, dok su aNDF i ADF od početka cvetanja dosegli 460 odnosno 360 g/kg SM. Kao što je već istaknuto, za razliku od SP, sve celulozne frakcije su kod poslednjih pet uzoraka porasle. U slučaju celuloznih frakcija ovo ne predstavlja poželjnu pojavu pošto je količina ovih hemijskih parametara bila vrlo visoka.


Grafikon 5-57. Prikaz promena količine SP, aNDF, ADF i ADL (u g/kg) u I otkosu u markantnim fazama razvoja lucerke

Prema Fick et al. (1994), u jednom njihovom istraživanju tokom veoma hladnog proleća je utvrđena stagnacija morfoloških karakteristika lucerke, dok je kvalitet lucerke nastavio da se smanjuje. Nije sasvim jasno na koje morfološke karakteristike se misli kod Fick et al. (1994). Liu (1977) je saopštio slične rezultate u istraživanju u kom je kratak fotoperiod sprečio formiranje pupoljaka kod lucerke (citat prema Fick et al. 1994). U ovom istraživanju nisu praćene pojedine morfološke karakteristike. Imajući u vidu da srednje morfološke faze predstavljaju prosečnu vrednost nekih morfoloških karakteristika, može se reći da su se morfološke karakteristike ravnomerno menjale. Sa druge strane, ova promena morfoloških karakteristika (sagledana preko MSW i MSFW vrednosti) nije bila praćena izmenama u hemijskom sastavu biljaka I otkosa, što predstavlja razliku u odnosu na Fick et al. (1994). MSW i MSFW su imali relativno ravnomeran porast u celom I otkosu (Grafikon 5-8), dok su SP, aNDF, ADF, ADL u drugom delu vegetacije I otkosa bili konstantni. Kao što je naglašeno, ova pojava je zabeležena u drugoj polovini I otkosa, koji se u ovom periodu odlikovao niskim temperaturama i čestim kišama. MSC je sa druge strane imao nekonstantno kretanje u prvom otkosu, što se donekle poklapa sa konstantnim nivoom pomenutih hemijskih parametara.

Sa stanovišta iskorišćavanja lucerke, ove tendencije najvažnijih hemijskih parametara dovode u pitanje određivanje momenta za košenje klasičnim sistemom procene. Ovo praktično znači da bi se košenjem na početku pupoljenja dobila biljna masa sa oko 18 % SP. Međutim, ako se pretpostave i gubici koji nastaju usled spremanja sena, očekivana količina SP u senu bi verovatno bila oko 15 % ili manje, što bi bio krajnje neprihvatljiv kvalitet sena. Naime, gubici u lišću pri različitim operacijama mogu biti drastični. U zavisnosti od načinja košenja gubici u lišću mogu ići i do 5 %, pri grabuljanju i prevrtanju do 21 %, a pri baliranju do 4 % (Schnakenberg, 2012). Eventualni gubitak lišća drastično utiče na količinu proteina, ako se ima u vidu da je procenat SP najveći upravo u lišću (Kalu and Fick, 1981; Kalu *et al.* 1988). Treba imati u vidu da su na ovaj način prikazani intervali bili određeni sa najvećom mogućom preciznošću, što je posledica detaljnog sagledavanja svih izdanaka sa površine od 0,12 m<sup>2</sup>. U praktičnim uslovima, realnije je očekivati da bi ova procena u većini slučajeva dovela verovatno do kasnijeg prepoznavanja ovih markantnih faza.



Grafikon 5-58. Prikaz promena količine SP, aNDF, ADF i ADL (u g/kg) u II i III otkosu u markantnim fazama razvoja lucerke

U II i III otkosu nije primećena ova pojava i tokom svih markantnih faza trend SP, aNDF i ADF (Grafikon 5-58) je bio konstantan. Vremenski interval ovih potencijalnih termina za košenje je bio znatno uži (Tabela 5-16), nego što je to bio slučaj u prvom otkosu, zbog čega je potreba za preciznijim sistemom ocene momenta za košenje još naglašenija. Izbor pogodnog vremena košenja lucerke se konvencionalno određuje na osnovu markantnih biljaka, što dovodi do velike proizvoljnosti i nepreciznosti. U cilju tačnog odslikavanja promena u hranljivoj vrednosti, pri definisanju faze razvoja moraju se sagledati sve biljke jednog uzorka (Hintz and Albrecht, 1991). Hintz and Albrecht (1991) su pokazali da je procena hemijskog sastava lucerke na osnovu najzrelijih stabljika u uzorku manje efikasna od tehnika koje uključuju sve prisutne stabljike.

Za uslove u kojima je ovaj ogled izveden može se izvesti zaključak da je odlaganje momenta za košenje, u cilju postizanja višeg prinosa sa visokom hranljivom vrednošću, moguće samo kod II i III otkosa. Ovo odlaganje je u punom smislu reči moguće u III otkosu. U II otkosu je primetno da se u fazi cvetanja dostiže donji nivo SP (ispod 200 g/kg), zbog čega je odlaganje moguće samo do faze cvetanja. Moguće je izračunati prosečnu vrednost hranljivih materija u markantnim fazama i uporediti sa drugim literaturnim navodima. Iako postoji veoma veliki broj literaturnih navoda, ovo nije urađeno pošto je nemoguće utvrditi metodologiju po kojoj su autori ovih istraživanja utvrdili pomenute markantne faze razvoja lucerke.

#### 5.3.2 SVARLJIVOST ORGANSKE MATERIJE I ENERGETSKE FRAKCIJE

Trendovi promene IVSOM, količine stvorenog gasa, TDN, DE, ME i NE<sub>L</sub> u svim sakupljenim uzorcima su prikazani na grafikonima od 5-59 do 5-64. Utvrđeni su trendovi smanjenja količine svih navedenih parametara. Primetne su razlike po otkosima u količini ovih parametara u uzorcima, mada se načelno može reći da ove razlike nisu bile izražene kao u slučaju hemijskih parametara (Tabela 5-14). U odnosu na IVSOM nisu utvrđene statistički značajne razlike između otkosa, iako je prosečno III otkos imao višu IVSOM (Tabela 5-14). Razlike između otkosa su primetne samo u energetskim frakcijama i TDN. Prosečno gledano, III otkos je imao više MJ/kg SM DE i ME od I i II otkosa (p<0,05), dok su TDN i NE<sub>L</sub> u III otkosu bili značajno veći (p<0,05) samo od II otkosa (Tabela 5-14).

Izuzimajući SPe, NFC, NDICP i ADICP, kod svih ostalih parametara I otkos se izdvajao po stagnaciji najvažnijih hemijskih parametara. U slučaju IVSOM, ova stagnacija je bila slabo izražena, što predstavlja posledicu linearnog trenda smanjenja ukupne količine GP (Grafikon 5-60) u I otkosu, koja je pored SP i SPe parametar za izračunavanje IVSOM (jednačina [4-8]). Trend TDN je veoma sličan trendu energetskih frakcija, što je posledica sličnosti obračuna ovih parametara. Kod energetskih frakcija trend je identičan, zbog linearnosti međusobno zavisnog obračuna ovih frakcija (NRC, 2001).



Grafikon 5-60. Količina stvorenog gasa inkubacijom u buražnom soku tokom 24h (ml/200 mg SM) u svim sakupljenim uzorcima





1. apr 11. apr 21. apr 1. maj 11. maj 21. maj 31. maj 10. jun 20. jun 30. jun 10. jul 20. jul 30. jul 9. avg Grafikon 5-64. Količina organske materije (g/kg SM) u uzorcima



Grafikon 5-65. Količina svarljive OM (g/kg SM) u uzorcima

Količina organske materije (OM) u uzorcima se povećavala sa odmicanjem vegetacije (Grafikon 5-64), što je posledica trenda smanjenja količine SPe tokom vegetacije (Grafikon 5-24). Smanjenje svarljivosti OM, sa odmicanjem vegetacije (Grafikon 5-59), je bilo intenzivnije od porasta OM. Ovo je rezultiralo smanjenjem količine svarljive OM sa odmicanjem vegetacije (Grafikon 5-65). Na grafikonu 5-65 se može uočiti da su uzorci iz I otkosa od 13. maja imali između 610 i 550 g svarljive materije po kg SM (zanemarujući svarljivost SPe). Prema rezultatima prikazanim u tabeli 5-16, 13. maja biljke su bile na kraju perioda pupoljenja što znači da su biljke već od kraja pupoljenja imale pomenutu količinu svarljivih materija. U odnosu na količinu svarljive organske materije između otkosa nisu utvrđene statistički značajne razlike.

Za prikazane promene hemijskog sastava u biljkama, sa odmicanjem vegetacije, se može pretpostaviti da utiču i na promenu strukture svarljive OM. Ako se pođe od činjenice da svarljiva OM jedina doprinosi neto energetskoj vrednosti hraniva, opravdano je reći da koncentracija NE<sub>L</sub>, koja je određena u uzorcima, potiče od OM koja je svarena. Pošto se ne mogu odrediti konkretne promene u strukturi svarljive OM, nastale starenjem biljaka, one se mogu izraziti koncentracijom NE<sub>L</sub> po kilogramu svarljive OM. Koncentracija NE<sub>L</sub> po kg svarljive OM je izračunata jednačinom [5-78].

konc. NE<sub>L</sub>(MJ/kg svarljive OM) = 
$$\frac{NE_L uzorka (MJ/kg SM)}{Svarljiva OM u uzorku (kg/kg SM)} \times 1000$$
 [5-78]

Na grafikonu 5-66 je prikazana utvrđena neto energetska vrednost svarljive OM u svim uzorcima. Primetno je izdvajanje trećeg otkosa, kao i varijacije u NE<sub>L</sub> I otkosa. Analizom varijanse je utvrđeno da je III otkos imao značajno veću (p<0,01) koncentraciju NE<sub>L</sub> u svarljivoj OM u odnosu na druga dva otkosa. Ova razlika uzoraka iz III otkosa je prikazana i na grafikonu 5-67, na kom je prikazana neto energetska vrednost svarljive OM pri različitim nivoima svarljive OM.



apr 11. apr 21. apr 1. maj 11. maj 21. maj 31. maj 10. jun 20. jun 30. jun 10. jul 20. jul 30. jul 9. avg
Grafikon 5-66. Promena NE<sub>L</sub> po kg svarljive organske materije tokom vegetacije



Kao što je već istaknuto, III otkos je imao višu koncentraciju NE<sub>L</sub>/kg SM (p<0,05) samo od II otkosa (Tabela 5-14). Izražavanjem NE<sub>L</sub> na kg svarljive OM, izdvajanje III otkosa po neto energetskoj vrednosti je bilo mnogo izraženije. Izdvajanje III otkosa prema ovakvom obračunu koncentracije NE je teško objasniti uzimajući u obzir samo svarljivu OM. Ako se ima u vidu da je III otkos imao statistički značajno (p<0,01) manje OM, kao i da u odnosu na svarljivu OM između otkosa nisu utvrđene statistički značajne razlike, moglo bi se pretpostaviti da je u III otkosu veći procenat OM bio svarljiv. Međutim, ovo nije bilo potvrđeno u odnosu na IVSOM (Tabela 5-14). Zbog svega ovoga se može pretpostaviti da su promene u okviru svarljive OM koje su se desile između otkosa doprinele većoj koncentraciji NE<sub>L</sub>/kg svarljive OM u III otkosu.

Na grafikonu 5-68 je prikazan odnos između dva određivana parametra hranljive vrednosti, IVSOM i NE<sub>L</sub>. U I i II otkosu je primećeno odstupanje od linearnog odnosa između ove dve osobine, dok je u III otkosu primetan linearan odnos u svim uzorcima. Najjača povezanost od 0,95 (izraženo  $R^2$ ) je zabeležena kod uzoraka iz III otkosa, dok je korelacija izračunata na osnovu uzoraka iz svih otkosa iznosila 0,9098 (izraženo  $R^2$ ). Prema prikazanim rezultatima ne može se tvrditi da su na ovaj način određeni IVSOM i NE<sub>L</sub> u direktnom odnosu. Odnos između ova dva parametra se menjao u zavisnosti od otkosa. Kod uzoraka sa nižim IVSOM su zabeležene najizraženije razlike u odnosu IVSOM/NE<sub>L</sub> između otkosa. Odnos ova dva parametra se takođe menjao i u okviru istog otkosa pri nižim nivoima IVSOM i NE<sub>L</sub>.



Grafikon 5-68. Odnos između IVSOM i NE<sub>L</sub>, R<sup>2</sup> prikazuje koeficijent determinacije u konkretnim otkosima

U cilju poređenja sa NRC sistemom obračuna energetskih frakcija, ME<sub>M&S</sub> i NEL<sub>M&S</sub> su izračunati i na osnovu gas produkcije primenom jednačina [4-25] i [4-26] (jednačina 12c, Menke and Steingass, 1988). Koeficijent determinacije između NE<sub>L</sub> i NEL<sub>M&S</sub>, izračunat za sve uzorke, je iznosio 0,9169, međutim primećene su razlike u korelisanosti ova dva sistema obračuna NE između otkosa (Grafikon 5-69).  $R^2$  izračunat samo za uzorke iz drugog otkosa je iznosio 0,8738, dok je kod uzoraka iz I, odnosno III, otkosa iznosio 0,9465 i 0,9609. Međutim, trend sva tri otkosa je odstupao od idealnog trenda koji je na grafikonu 5-69 prikazan isprekidanom linijom. Razlika ovih sistema je naročito bila izražena kod uzoraka sa najvišom NE (uzorci sa početka vegetacije). Kod prvih uzoraka iz I i II otkosa ova razlika je čak bila veća od 1 MJ/kg SM u korist NE<sub>L</sub>. Ukoliko se posmatra po otkosima, NE svih uzoraka iz III otkosa je bila podcenjena sa NE<sub>M&S</sub> u poređenju sa NE<sub>L</sub>. U I i II otkosu deo uzoraka iz intervala od 5 do 5,75 MJ/kg SM je bio precenjen sa NEL<sub>M&S</sub> u odnosu na NE<sub>L</sub>. Samo kod nekoliko uzoraka sa kraja vegetacije I i II otkosa je zabeleženo preklapanje ova dva sistema. Između ME<sub>M&S</sub> i ME prema NRC (2001) su utvrđeni gotovo identični R<sup>2</sup> kao i u slučaju NE<sub>M&S</sub> i NE<sub>L</sub> što je posledica linearnosti veze obračuna metaboličke energije i neto energije u oba ispitivana sistema za određivanje energetskih frakcija (Menke and Steingass, 1988; NRC, 2001).



Grafikon 5-69. Odnos između NE<sub>L</sub> i NE<sub>M&S</sub>, R<sup>2</sup> prikazuje koeficijent determinacije, utvrđen za konkretne otkose, između dva sistema obračuna NE

Ova dva sistema su upoređena i preko količine TDN (NRC, 2001) i količine svarljive OM (Menke and Steingass, 1988). Količina TDN predstavlja procenjenu vrednost svarljivih organskih materija pomoću koeficijenata svarljivosti hemijskih parametara, dok su sa druge strane svarljive OM dobijene korišćenjem jednačine izvedene na osnovu GP, SP i SPe. Prikazani R<sup>2</sup> (Grafikon 5-70) ukazuju na sličnost ova dva sistema, u I i III otkosu TDN objašnjava oko 94% varijacije svarljive OM procenjene prema Menke and Steingass (1988). U II otkosu, kao i kod NE, je primećeno smanjenje sličnosti između ova dva sistema ocene svarljive OM. Na grafikonu 5-70 isprekidanom linijom je predstavljen idealni slučaj u kom bi se ova dva sistema procene u potpunosti poklapala. Kao što je već istaknuto, sa odmicanjem vegetacije primećeno je smanjivanje količine TDN i svarljive OM u uzorcima (Grafikoni 5-61 i 5-65), prema tome, uzorci na grafikonu 5-70 su prikazani od najstarijih prema najmlađim. Ako se

izuzmu uzorci iz I i II otkosa, na osnovu grafikona 5-70 se može reći da se sa odmicanjem vegetacije u III otkosu smanjivala razlika između ova dva sistema ocene svarljive OM. Ovakav trend je primećen i u I otkosu, međutim postoji velika nepravilnost kod uzoraka sa TDN između 575 i 610 g/kg SM.





Ako se uporede grafikoni 5-69 i 5-70, NRC (2001) sistem i metod po Menke and Stengass (1988) su bili sličniji u odnosu na procenu svarljivih organskih materija nego u odnosu na procenu NE. Ukoliko se posmatra sa stanovišta  $R^2$ , ovo se ne može tvrditi, međutim ako se ima u vidu odstupanje uzoraka od idealnog odnosa (prikazan isprekidanom linijom na grafikonima 5-69 i 5-70), ovakva tvrdnja se može smatrati ispravnom. Koeficijenti determinacije utvrđeni za NE i svarljivu OM su bili visoki naročito u I i III otkosu. Nije sasvim jasno šta je prouzrokovalo utvrđeno odstupanje uzoraka iz II otkosa i dela uzoraka iz I otkosa, što ujedno verovatno predstavlja i osnovni razlog smanjenja  $R^2$  izvedenog za sve uzorke iz svih otkosa. Ono što izdvaja drugi otkos od ostala dva, je da je uzorkovanje započeto kasnije od I i III kao i da su vremenske prilike bile promenljive u prvoj polovini II otkosa. Ovaj period se na početku odlikovao visokim temperaturama, koje je smenilo hladno i vlažno vreme, nakon čega je usledio period veoma toplog vremena sa konstantnim temperaturama do kraja III otkosa.

#### 5.3.2.1 Odnos hemijskih parametara sa IVSOM i $NE_L$

U tabeli 5-17 su prikazani koeficijenti korelacije (R) ispitivanih hemijskih parametara sa određenom  $NE_L$  i IVSOM u sakupljenim uzorcima. Koeficijenti korelacije su određeni na osnovu uzoraka iz svih otkosa kao i pojedinačno za konkretne ispitivane otkose.

Demonster alles SM <sup>1</sup>	NE <sub>L</sub> MJ/kg SM			IVSOM g/kg OM				
Parametar g/kg SM	Svi otkosi	I otkos	II otkos	III otkos	Svi otkosi	I otkos	II otkos	III otkos
SP	0,9664	0,9705	0,9627	0,9900	0,9104	0,9076	0,9179	0,9750
SPe	0,7033	0,7607	0,6521	0,7604	0,7108	0,8345	0,6671	0,8234
SMa	0,9154	0,9319	0,8791	0,9184	0,8985	0,9079	0,8197	0,9175
aNDF	-0,9662	-0,9817	-0,9614	-0,9693	-0,9411	-0,9789	-0,9411	-0,9741
ADF	-0,9469	-0,9820	-0,9621	-0,9846	-0,8901	-0,9552	-0,9032	-0,9793
ADL	-0,9640	-0,9739	-0,9557	-0,9631	-0,9271	-0,9695	-0,8534	-0,9465
NFC	0,6656	0,6992	0,7542	0,4674	0,6725	0,7671	0,7668	0,4466
NDICP	0,3113	0,2458	-0,1132	0,6877	0,2183	0,1307	-0,1377	0,6267
ADICP	-0,5610	-0,5764	-0,4315	-0,4770	-0,5236	-0,5550	-0,3455	-0,4918
GP (ml/200 mg SM)	0,7741	0,8396	0,7505	0,8666	0,9058	0,9446	0,9189	0,9343

Tabela 5-17. Koeficijenti korelacije između ispitivanih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti

<sup>1</sup>Svi parametri su izraženi u g/kg SM osim gde je drugačije naznačeno

Povezanost ispitivanih hemijskih parametara sa  $NE_L$  se razlikovala između otkosa. Najmanji R je po pravilu zabeležen u II otkosu i to kod gotovo svih hemijskih parametara. Samo između NFC i  $NE_L$  najviši R je zabeležen u II otkosu. Posmatrajući R izveden na osnovu uzoraka sakupljenih u svim otkosima, izdvajaju se SP, sa pozitivnom korelacijom, i frakcije ćelijskog zida (aNDF, ADL, ADF), sa negativnom korelacijom. Ukoliko se SP, aNDF i ADF posmatraju kao dominantne hemijske komponente očekivano je da one budu u visokoj korelaciji sa  $NE_L$ . Pošto je NFC takođe imao značajan udeo u biljkama, kao i zbog činjenice da predstavlja značajan izvor energije u digestivnom traktu, za očekivati je bilo da i on takođe bude dobro korelisan sa  $NE_L$ . predstavlja razlog zbog čega NFC u odnosu na NE<sub>L</sub> ima veću varijabilnost od ostalih komponenata. Sa druge strane, ADL nije predstavljao dominantnu hemijsku komponentu, ali je verovatno visoko korelisan sa NE<sub>L</sub> zbog činjenice da lignin predstavlja osnovni faktor koji limitira svarljivost (Van Soest, 1994). Negativan uticaj lignina na svarljivost je dokazan i u ovom istraživanju (Tabela 5-17) visokim negativnim R utvrđenim između ADL i IVSOM. Zanimljivo je da su SMa imale relativno visok R sa NE<sub>L</sub> iako su one predstavljale minornu komponentu hemijskog sastava, sa prosečnim udelom od 32,53 g/kg SM (Tabela 5-14).

Slično NE<sub>L</sub>, i u slučaju IVSOM su primetne razlike između otkosa u njenoj povezanosti sa hemijskim komponentama. Kod većine parametara u II otkosu je dobijen najniži R. Parametri sa najvišim R su bili isti kao i kod NE<sub>L</sub>, uz izdvajanje aNDF sa najvišim i negativnim R.

Utvrđena produkcija gasa za 24 h (GP) je pokazala relativno visoku povezanost sa NE<sub>L</sub>. Pošto je analiza gas produkcije bila potpuno nezavisna od određivanja NE<sub>L</sub>, relativno visok R između GP i NE<sub>L</sub> opravdava upotrebu ove metode za procenu energije. Sa druge strane, povezanost GP sa IVSOM je takođe bila visoka, međutim treba imati u vidu da je GP jedan od parametara na osnovu kog se vrši obračun IVSOM.

## **5.4 ODNOS SREDNJIH MORFOLOŠKIH FAZA I PARAMETARA** HEMIJSKOG SASTAVA I HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE

U cilju izvođenja regresija, svi utvrđeni hemijski parametri i parametri hranljive vrednosti su stavljeni u odnos sa utvrđivanim srednjim morfološkim fazama (MSC, MSW i MSFW). Regresije imaju za cilj da prikažu mogućnost predviđanja ovih parametara na osnovu MSC, MSW i MSFW.

#### 5.4.1 Odnos između srednjih morfoloških faza i hemijskih parametara

Odnos između srednjih morfoloških faza i odabranih hemijskih parametara je prikazan na grafikonima 5-71, 5-72 i 5-73. Za prikaz su odabrani SP, SMa, aNDF, ADF i ADL, pošto oni predstavljaju najznačajnije hemijske parametre. Na ovim grafikonima je dat prikaz količine navedenih hemijskih parametara u zavisnosti od utvrđene MSC, MSW i MSFW vrednosti. Sem prikaza količine ovih hemijskih parametara u uzorcima, prikazane su i regresione krive izvedenih jednačina za njihovu procenu na osnovu MSC, MSW i MSFW. Prikazane su krive za uzorke iz konkretnih otkosa (I, II i III) kao i za uzorke iz svih otkosa objedinjeno. Regresioni parametri jednačina prikazanih na grafikonima 5-71, 5-72 i 5-73 su dati u tabelama 5-18, 5-20, 5-21, 5-22, 5-23.

Kao što je već napomenuto, zbog ukazanih problema primene analize varijanse, poređenje hemijskog sastava uzoraka iz različitih otkosa je moguće samo poređenjem u istim morfološkim fazama razvoja. Usled varijacija uzoraka sa sličnom srednjom morfološkom fazom u okviru otkosa, poređenje celih otkosa je najuočljivije preko prikazanih regresionih krivih. Na ovaj način je izbegnut nedostatak analize varijanse, odnosno nedostatak poređenja pomoću srednje vrednosti. Prikazani trendovi predstavljaju regresione oblike sa najvećim R<sup>2</sup> i najmanjom greškom – RMSE. Primetno je izdvajanje III otkosa od ostala dva otkosa. Bez obzira u odnosu na koju srednju morfološku fazu se posmatra, III otkos je imao najvišu koncentraciju SP, a najmanju aNDF, ADF i ADL. Samo u slučaju SMa, III otkos se nije jasno izdvajao. Sa druge strane, linija regresije izvedene za I otkos se u slučaju svih parametara nalazila suprotno pozicionirana od III okosa, na osnovu čega bi se moglo reći da je I otkos imao najmanju količinu SP i SMa, a najveću aNDF, ADF i ADL. Uzorci iz I otkosa su bili nepravilnije raspoređeni u odnosu na II, a naročito u odnosu na III otkos. Kriva izvedena za sve otkose se nalazila između I i III otkosa, često se poklapajući sa krivom II otkosa.







Razlika između otkosa je naglašena regresionim krivama. Ukoliko se u obzir uzme SP, razlika između krivih za I i III otkos je minimalno iznosila oko 50 g/kg SM tokom većeg dela vegetacije, bez obzira da li je morfološka faza bila izražena preko MSC ili MSW i MSFW. Slično se može primetiti i kod aNDF, ADF i ADL. Generalno posmatrano, krive svih hemijskih parametara prikazane za konkretne otkose su bile udaljenije, ako je kao nezavisna varijabla korišćen MSC. U slučaju MSC, ove razlike su često bile oko 100 g/kg SM, a u nekim slučajevima i više. Zbog ovih razlika između otkosa, čini se da bi izvođenje jednačina za procenu hemijskih parametara trebalo da bude ograničeno na konkretne otkose, što je takođe zaključeno i u istraživanju Griffin *et al.* (1994).

Ukoliko se uporede rezultati analize varijanse (Tabela 5-14) sa dobijenim regresionim linijama, mogu se primetiti određene razlike. U cilju ovog poređenja biće upotrebljen odnos hemijskih parametara sa MSW (Grafikon 5-72). Iako prema količini SMa nisu pronađene statistički značajne razlike između otkosa (Tabela 5-14), primetno je da je linija regresije I otkosa bila značajno niže pozicionirana od ostalih, i to od MSW oko 2,0 do kraja vegetacije. Takođe, veliki broj uzoraka iz II otkosa iz sredine vegetacije (MSW od 3,0 do 4,5) se izdvajao po većoj količini SMa. Prema analizi varijanse II otkos je imao značajno više (p<0,05) ADF od I otkosa, međutim, ako se uporede regresione krive ova dva otkosa primetna je velika sličnost između njih. Ova razlika između analize varijanse i regresione analize je posledica različite frekvencije uzorkovanja. U I otkosu veći broj uzoraka je sakupljen sa MSW manjim od 2,0 kada je u biljkama bilo manje od 300 g/kg SM ADF, dok su u II otkosu u ovom periodu sakupljena samo 2 uzorka. Samo kod 10 uzoraka sa MSW između 3,8 i 5,2 je utvrđeno više ADF. Iako je III otkos prema analizi varijanse imao značajno (p<0,01) nižu količinu ADL, izdvajanje ovog otkosa prema količini ADL je zabeleženo samo kod uzoraka sa MSW većim od 4,0 (Grafikon 5-72).

Varijabilnost MSC tokom vegetacije, koja je prikazana na grafikonu 5-1, je uticala i na odsustvo trenda kod većeg broja uzoraka iz I otkosa, u slučaju svih prikazanih hemijskih parametara (Grafikon 5-71). Veoma mali broj uzoraka je imao više od 2,7 MSC zbog čega krive u nekim slučajevima (SP, SMa) veoma odstupaju od utvrđene količine hemijskih parametara u uzorcima. Za razliku od MSC, odnos MSW i hemijskih parametara je bio kontinuiran i ravnomeran u celom ispraćenom intervalu.

5.4.1.1 Jednačine za procenu hemijskog sastava lucerke na polju na osnovu srednjih morfoloških faza

Zbog poređenja ispitivana tri načina utvrđivanja srednje morfološke faze, po tri jednačine (po jedna za MSC, MSW i MSFW) će biti prikazane za svaki otkos u okviru svakog ispitivanog hemijskog parametra. Kao što je već pomenuto, kao parametri tačnosti regresija biće prikazani  $R^2$  i RMSE.  $R^2$  predstavlja procenat objašnjene varijabilnosti konkretnog hemijskog parametra pomoću MSC, MSW i MSFW. Iz tog razloga  $R^2$  predstavlja relativni pokazatelj, dok sa druge strane RMSE predstavlja apsolutni pokazatelj izražen u g/kg SM. RMSE predstavlja srednje odstupanje izvedene regresione jednačine od vrednosti utvrđenih u konkretnim uzorcima, drugim rečima RMSE predstavlja prosečnu grešku regresije. Zbog navedenog, RMSE može poslužiti kao faktor za poređenje različitih jednačina u okviru istog otkosa, dok se  $R^2$  može upotrebiti i za poređenje jednačina iz različitih otkosa i jednačina izvedenih za procenu različitih hemijskih parametara.

U cilju poređenja dobijenih jednačina za procenu hemijskog sastava biće korišćeni literaturni navodi u kojima su prikazane regresione jednačine izvedene za MSC i MSW. Kao što je već pomenuto, u svim istraživanjima koja su imala za cilj izvođenje regresija na osnovu srednje morfološke faze postoje metodološka odstupanja u odnosu na ovo istraživanje. Sumarno, osnovne razlike su bile:

- 1. Prikazivanje regresija za sve otkose zajedno (Kalu and Fick, 1981, 1983; Fick and Onstad, 1988; Hintz and Albrecht, 1992);
- Relativno mali broj uzoraka, uzimajući u obzir istraživanjem obuhvaćene otkose (Kalu and Fick, 1981, 1983; Fick and Onstad, 1988);
- Apsolutno mali broj uzoraka (Kalu and Fick, 1981, 1983; Sanderson and Wedin, 1989; Komprda *et al.* 1993; Komprda *et al.* 1997b; Griffin *et al.* 1994);
- Veći broj ispitivanih sorti lucerke (Fick and Onstad, 1988; Hintz and Albrecht, 1991; Griffin *et al.* 1994);
- 5. Veći broj lokacija (Fick and Onstad, 1988; Hintz and Albrecht, 1992);
- Određivanje srednje morfološke faze i utvrđivanje parametara hranljive vrednosti nisu rađeni na istom uzorku (Hintz and Albrecht, 1992; Komprda *et al.* 1993; Komprda *et al.* 1997b; Griffin *et al.* 1994).

U literaturi nema konkretnih istraživanja o uticaju različitih sorti lucerke na oblik regresione funkcije. Zbog toga se rezultati istraživanja Fick and Onstad (1988), Hintz and Albrecht (1991) i Griffin *et al.* (1994) moraju uslovno prihvatiti. U pomenuta tri rada je korišćeno tri ili više sorti lucerke. Griffin *et al.* (1994) nisu utvrdili značajnije razlike između sorti analizom varijanse. Međutim, ovaj zaključak Griffin *et al.* (1994) se ne može smatrati dokazom nepostojanja razlika između sorti u odnosu na trend promena hranljive vrednosti sa starenjem lucerke. Sa druge strane, Hall *et al.* (2000) su utvrdili značajne razlike između različitih sorti kada su one upoređene pri istoj morfološkoj fazi. Kod ovih autora MSC je korišćen kao pokazatelj morfološke faze. Hall *et al.* (2000) ističu da njihovi rezultatu ukazuju da je revidiranje modela za predviđanje neophodno za primenu kod novih visokokvalitetnih sorti lucerke.

Dodatnu komplikaciju u interpretaciji rezultata Hintz and Albrecht (1991), Komprda *et al.* (1993; 1997b) i Griffin *et al.* (1994) predstavljaju značajne metodološke nedoslednosti. U ovim istraživanjima za utvrđivanje morfološke faze i hranljive vrednosti je korišćen različit biljni materijal. Metodološki pristup pomenutih istraživanja nije preporučen u radovima u kojima je ova metoda definisana (Kalu and Fick, 1981, 1983; Fick and Mueller, 1989). Prikazane su velike razlike između utvrđenih MSW vrednosti u uzorcima koji su sakupljeni istog dana u obavljenom istraživanju. Dva uzorka sakupljena 31. maja (I otkos) su se razlikovala za 1,74 MSW jedinice. Ova pojava nije bila ograničena samo na I otkos, između dva uzorka iz III otkosa je utvrđena razlika od 1,16 MSW jedinica. Zbog ovoga navedeni literaturni podaci iz pomenutih istraživanja moraju biti obazrivo prihvaćeni.

Na grafikonima 5-71, 5-72 i 5-73 je pokazano da se krive izvedene za različite otkose mogu značajno razlikovati. Ovo je posledica značajnih razlika između otkosa kada su poređeni uzorci u istim srednjim morfološkim fazama. Zbog toga je opravdano reći da se rezultati istraživanja Kalu and Fick (1981, 1983) Fick and Onstad (1988), Hintz and Albrecht (1992) moraju uslovno prihvatiti. Uticaj otkosa je takođe istaknut u istraživanju Griffin *et al.* (1994).

Potreba razvijanja jednačina za konkretne agroekološke uslove je istaknuta u istraživanjima Fick and Janson (1990), Sanderson (1992) i Fick *et al.* (1994). U ovom smislu rezultati istraživanja Fick and Janson (1990) i Sanderson (1992) su veoma

značajni, pošto je ovaj zaključak izveden na osnovu validacije jednačina Kalu and Fick (1983) i Fick and Onstad (1988). Jednačine Fick and Onstad (1988) su nazvane "Nacionalne jednačine" pošto su izvedene pomoću uzoraka iz šest američkih saveznih država. U istraživanju Fick and Janson (1990) pomenuta validacija ovih jednačina je obavljena potpuno nezavisnim uzorcima gajenim u laboratorijskim uslovima. Validacija Sanderson (1992) je obavljena nezavisnim uzorcima sakupljenim u saveznim državama Teksas i Ajova.

Uprkos brojnim metodološkim razlikama dobijene jednačine iz ovog istraživanja će u daljem delu biti diskutovane i upoređene sa svim poznatim literaturnim navodima. Diskusija će biti obavljena po utvrđivanim hemijskim parametrima. Poređenja jednačina literaturnih navoda će biti obavljena imajući u vidu otkos za koji su jednačine razvijene.

Jednačine za procenu SP na osnovu srednjih morfoloških faza su prikazane u tabeli 5-18. Osim u drugom otkosu, jednačine izvedene za MSC su imale manji  $R^2$  i veći RMSE od jednačina izvedenih za MSW i MSFW. Sa druge strane, oblici jednačina izvedenih za MSW i MSFW su imali slične  $R^2$ , RMSE kao i sve regresione parametre.

Br. jedn.	Jednačina	$\mathbb{R}^2$	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-79]	$SP = 243,521 - 53,160 \times \ln(MSC)$	0,6298	27,65
[5-80]	$SP = 352,050 - 62,973 \times MSW + 5,381 \times MSW^2$	0,7163	24,20
[5-81]	$SP = 351,031 - 63,464 \times MSFW + 5,489 \times MSFW^2$	0,7146	24,28
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-82]	$SP = 349,229 - 113,178 \times MSC + 14,188 \times MSC^2$	0,7641	24,21
[5-83]	$SP = 100,875 + 189,382 \times MSW^{-0,634}$	0,7803	23,37
[5-84]	$SP = 98,286 + 191,518 \times MSFW^{-0,630}$	0,7801	23,38
	II otkos n = 35		
[5-85]	$SP = 312,310 - 54,546 \times MSC + 5,058 \times MSC^2$	0,9205	8,43
[5-86]	$SP = 338,730 - 49,320 \times MSW + 3,495 \times MSW^2$	0,9014	9,38
[5-87]	$SP = 337,148 - 49,268 \times MSFW + 3,517 \times MSFW^2$	0,8983	9,53
	III otkos $n = 34$		
[5-88]	$SP = 341,261 - 69,591 \times MSC + 7,514 \times MSC^2$	0,9133	12,73
[5-89]	$SP = 368,344 - 59,446 \times MSW + 4,899 \times MSW^2$	0,9381	10,75
[5-90]	$SP = 363,997 - 58,472 \times MSFW + 4,854 \times MSFW^2$	0,9348	11,04

Tabela 5-18. Jednačine za procenu SP (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Prikazani  $R^2$  jednačine [5-80] je veći od "Nacionalne jednačine" [3-7], a sličan jednačini Hintz and Albrecht (1991) [3-8]. U odnosu na jednačine Kalu and Fick (1981, 1983) dobijen je niži  $R^2$ . Kao što je napomenuto jednačine Kalu and Fick (1981, 1983) su izvedene na veoma malom broju uzoraka, naime, za tri godine u tri otkosa u svakoj

godini sakupljeno je ukupno 35 uzoraka. Slično je sa jednačinama Griffin *et al.* (1994), ovo istraživanje je još dodatno imalo i značajne metodološke razlike. Sem za jednačinu [3-12], sve ostale jednačine Griffin *et al.* (1994) su imale više  $R^2$  od odgovarajućih jednačina [5-83] i [5-86]. Rad Hintz and Albrecht (1991) predstavlja jedino istraživanje u kome su prikazane jednačine za procenu SP, izvedene na osnovu MSC (jednačina [3-9]). U ovom radu prikazana jednačina je imala  $R^2$  od 0,71 i RMSE od 23,2 što je više od jednačine izvedene za sve otkose [5-79], a niže od jednačina [5-82], [5-85] i [5-88] izvedenih za I, II i III otkos respektivno.

Br. jedn.	Jednačina	$\mathbb{R}^2$	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-91]	$SPe = 115,246 - 20,320 \times \ln(MSC+1)$	0,3387	10,94
[5-92]	$SPe = 125,980 - 22,686 \times \ln(MSW+1)$	0,4587	9,90
[5-93]	$SPe = 125,545 - 22,619 \times \ln(MSFW+1)$	0,4530	9,95
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-94]	$SPe = 114,387 - 17,486 \times MSC + 1,713 \times MSC^2$	0,5718	7,73
[5-95]	$SPe = 115,774 - 9,944 \times MSW + 0,546 \times MSW^2$	0,7627	5,75
[5-96]	$SPe = 116,208 - 10,360 \times MSFW + 0,585 \times MSFW^{2}$	0,7612	5,77
	II otkos $n = 35$		
[5-97]	$SPe = 109,803 - 18,144 \times \ln(MSC+1)$	0,4343	6,72
[5-98]	$SPe = 113,269 - 17,299 \times \ln(MSW+1)$	0,3566	7,17
[5-99]	$SPe = 112,837 - 17,143 \times ln(MSFW+1)$	0,3522	7,19
	III otkos $n = 34$		
[5-100]	$SPe = 131,337 - 21,988 \times ln(MSC+1)$	0,6680	6,57
[5-101]	$SPe = 126,622 - 5,599 \times MSW$	0,6726	6,52
[5-102]	$SPe = 126,031 - 5,526 \times MSFW$	0,6643	6,61

Tabela 5-19. Jednačine za procenu SPe (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

U literaturi se ne sreću navodi o povezanosti srednje morfološke faze i SPe. Prema R<sup>2</sup> prikazanih jednačina (Tabela 5-19), srednje morfološke faze mogu da objasne do 76 % varijabilnosti SPe u biljci lucerke. Nizak R<sup>2</sup> kod jednačina prikazanih za sve otkose ukazuje i na visoku varijabilnost između otkosa (Grafikon 5-74). Ako se ima u vidu interval varijacija SPe (Tabela 5-14), prikazana greška regresija je iznosila i do 10% od utvrđene količine SPe u uzorcima. Zbog ovoga se može reći da srednja morfološka faza može poslužiti samo za okviran uvid u količinu SPe u biljci lucerke. Prema ovom parametru, I i II otkos su se skoro u potpunosti preklapali, dok je sa druge strane III otkos skoro u potpunosti izdvojen od ostala dva (Grafikon 5-74). Ovim je potvrđen rezultat prikazan u tabeli 5-14, pošto je analizom varijanse utvrđeno da III otkos ima statistički veću količinu SPe dok se I i II otkos nisu statistički razlikovali. U odnosu na ostale hemijske parametre, najveća tačnost jednačina za SPe je zabeležena kod jednačina izvedenih za I otkos. Kod ostalih hemijskih parametara tačnost regresija je rasla od I ka III otkosu.



Tabela 5-20. Jednačine za procenu SMa (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Br. jedn.	Jednačina	$\mathbb{R}^2$	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-103]	$SMa = 46,807 - 9,390 \times MSC + 1,092 \times MSC^{2}$	0,4969	4,55
[5-104]	$SMa = 51,781 - 8,026 \times MSW + 0,643 \times MSW^2$	0,7012	3,50
[5-105]	$SMa = 51,659 - 8,117 \times MSFW + 0,661 \times MSFW^2$	0,6947	3,54
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-106]	$SMa = 52,748 - 15,421 \times MSC + 1,857 \times MSC^{2}$	0,6363	4,69
[5-107]	$SMa = 56,424 - 11,190 \times MSW + 0,973 \times MSW^2$	0,7888	3,58
[5-108]	$SMa = 56,548 - 11,414 \times MSFW + 1,005 \times MSFW^2$	0,7869	3,59
	II otkos $n = 35$		
[5-109]	$SMa = 48,165 - 11,627 \times \ln(MSC+1)$	0,7461	2,20
[5-110]	$SMa = 45,667 - 9,575 \times \ln(MSW)$	0,7724	2,08
[5-111]	$SMa = 52,417 - 12,417 \times \ln(MSFW+1)$	0,7731	2,08
	III otkos $n = 34$		
[5-112]	$SMa = 45,503 - 7,550 \times MSC + 0,865 \times MSC^2$	0,8383	1,85
[5-113]	$SMa = 48,186 - 6,291 \times MSW + 0,535 \times MSW^2$	0,8575	1,74
[5-114]	$SMa = 47,720 - 6,179 \times MSFW + 0,529 \times MSFW^2$	0,8542	1,76

SMa čine minornu komponentu kabastih hraniva što verovatno predstavlja osnovni razlog odsustva literaturnih navoda o vezi između SMa i srednjih morfoloških faza. Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli 5-20, može se reći da su SMa relativno dobro povezane sa srednjim morfološkim fazama, zbog čega su prikazane jednačine imale prihvatljivu tačnost. Prosečna greška jednačina (RMSE) u II i III otkosu je

iznosila između 5 i 10 %, zbog čega se može reći da je procena SMa moguća na osnovu srednjih morfoloških faza. Razlika u obliku jednačina [5-110] i [5-111] je "matematičke" prirode i ne ukazuje na razliku između MSW i MSFW. Naime, u slučaju MSFW, jednostavniji logaritamski oblik (kao u jednačini [5-110]) je imao R<sup>2</sup> 0,7728 i veoma slične regresione koeficijente sa jednačinom prikazanom za MSW. Zbog principa odabira jednačine sa najvišim R<sup>2</sup>, jednačina [5-111] je odabrana umesto jednačine sa identičnim oblikom kao kod jednačine [5-110]. Iako u tabeli 5-14 nisu prikazane statistički značajne razlike između otkosa, na grafikonu 5-72 se može uočiti da je I otkos pri istim vrednostima MSW imao značajno nižu količinu SMa, usled čega je i kriva I otkosa najniže pozicionirana. II i III otkos se nisu razlikovali kada se uporede pri istim srednjim morfološkim fazama.

Br. jedn.	Jednačina	$\mathbb{R}^2$	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-115]	$aNDF = 358,622 - 87,585 \times ln(MSC)$	0,6269	45,84
[5-116]	$aNDF = 287,473 + 109,195 \times ln(MSW)$	0,7243	39,40
[5-117]	$aNDF = 201,806 + 88,797 \times MSFW - 6,775 \times MSFW^2$	0,7193	39,76
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-118]	$aNDF = 360,439 + 126,937 \times ln(MSC)$	0,8011	36,46
[5-119]	$aNDF = 284,744 + 125,879 \times ln(MSW)$	0,8344	33,26
[5-120]	$aNDF = 284,941 + 128,108 \times ln(MSFW)$	0,8358	33,13
	II otkos $n = 35$		
[5-121]	$aNDF = 197,873 + 133,515 \times MSC - 14,880 \times MSC^2$	0,9425	13,36
[5-122]	$aNDF = 147,262 + 113,929 \times MSW - 9,136 \times MSW^2$	0,8995	17,66
[5-123]	$aNDF = 150,946 + 113,711 \times MSFW - 9,194 \times MSFW^2$	0,8971	17,87
	III otkos $n = 34$		
[5-124]	$aNDF = 226,960 + 88,310 \times MSC - 9,164 \times MSC^2$	0,9062	17,55
[5-125]	$aNDF = 195,295 + 73,487 \times MSW - 5,765 \times MSW^2$	0,9128	16,92
[5-126]	$aNDF = 200,903 + 72,193 \times MSFW - 5,696 \times MSFW^2$	0,9084	17,34

Tabela 5-21. Jednačine za procenu aNDF (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Izvedene jednačine za procenu aNDF su prikazane u tabeli 5-21. Jednačina [5-121] izvedena za procenu aNDF u II otkosu na osnovu MSC je imala najviši  $R^2$  od svih razvijenih jednačina za procenu hemijskih parametara. Pošto je interval varijacija u II i III otkosu iznosio 279,36-525,26 i 228,7-447,49 g/kg SM redom (Tabela 5-14), prosečna greška je varirala između 2,5 i 6 % u II otkosu, odnosno između 4 i 7 % u III otkosu. Prvi otkos je zbog uočene stagnacije aNDF imao duplo veće prosečno učešće greške. Iako su jednačine za MSW i MSFW za konkretne otkose imale veoma slične parametre tačnosti ( $R^2$  i RMSE) razlika između ove dve srednje morfološke faze se

pojavila kod jednačina za sve otkose (jednačine [5-116] i [5-117]). Logaritamski oblik jednačine se u slučaju MSFW nalazio na 5 mestu po R<sup>2</sup> koji je iznosio 0,701, dok je RMSE za ovaj oblik iznosio 41,03. Nije sasvim jasno zbog čega se ova razlika javila u slučaju jednačina za sve otkose, pošto su jednačine konkretnih otkosa za MSW i MSFW bile skoro identične.

Sve dobijene jednačine za procenu aNDF su imale niže  $R^2$  od jednačina iz odgovarajućih otkosa iz tabele 3-5. Izuzetak predstavljaju jednačine [3-23] i [3-29] koje su imale niže  $R^2$  od jednačina [5-116] i [5-122], redom. Jednačina za MSC [5-115] je imala niži  $R^2$  od jedine u literaturi poznate jednačine za procenu NDF na osnovu MSC (jednačina [3-26]).

Iako su jednačine za ADF (Tabela 5-22) imale slične  $R^2$  kao i jednačine za aNDF, relativno učešće greške kod jednačina za procenu ADF je bilo nešto veće. Kao i u slučaju aNDF, pojavila se razlika između MSW i MSFW u obliku kao i u tačnosti jednačine za sve otkose (jednačine [5-128] i [5-129]). Logaritamski oblik jednačine za procenu ADF na osnovu MSFW je imao  $R^2$  0,6626 i RMSE od 36,16. Razlike između rezultata analize varijanse (Tabela 5-14) i poređenja otkosa na osnovu dobijenih krivih su objašnjene u prethodnom tekstu. Svi dobijeni  $R^2$  su su bili niži od  $R^2$  odgovarajućih jednačina drugih autora (Tabela 3-6).  $R^2$  "Nacionalne jednačine" (jednačina [3-34]) je bio nešto viši od  $R^2$  jednačine [5-128].

Br. jedn.	Jednačina	$\mathbb{R}^2$	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-127]	$ADF = 273,496 + 72,805 \times ln(MSC)$	0,6292	37,92
[5-128]	$ADF = 217,896 + 87,826 \times \ln(MSW)$	0,6806	35,19
[5-129]	$ADF = 147,072 + 73,132 \times MSFW - 5,712 \times MSFW^2$	0,6681	35,87
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-130]	$ADF = 274,578 + 101,941 \times \ln(MSC)$	0,8198	27,54
[5-131]	$ADF = 217,266 + 98,004 \times \ln(MSW)$	0,8026	28,83
[5-132]	$ADF = 217,379 + 99,776 \times \ln(MSFW)$	0,8045	28,70
	II otkos $n = 35$		
[5-133]	$ADF = 163,230 + 103,273 \times MSC - 11,298 \times MSC^{2}$	0,9164	13,02
[5-134]	$ADF = 121,211 + 89,922 \times MSW - 7,188 \times MSW^{2}$	0,8684	16,33
[5-135]	$ADF = 124,262 + 89,679 \times MSFW - 7,226 \times MSFW^2$	0,8657	16,50
	III otkos $n = 34$		
[5-136]	$ADF = 160,435 + 72,887 \times MSC - 7,847 \times MSC^{2}$	0,9190	12,88
[5-137]	$ADF = 134,524 + 60,776 \times MSW - 4,936 \times MSW^{2}$	0,9257	12,34
[5-138]	$ADF = 139,133 + 59,678 \times MSFW - 4,874 \times MSFW^2$	0,9216	12,67

Tabela 5-22. Jednačine za procenu ADF (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

U slučaju ADL, jednačine za MSW i MSFW izračunate za sve otkose i konkretne otkose su imale iste oblike, slične regresione parametre,  $R^2$  i RMSE. Generalno, kod svih izvedenih jednačina  $R^2$  su bili nešto niži od  $R^2$  jednačina za procenu ADF i NDF. U odnosu na prikazani interval varijacija ADL (Tabela 5-14) udeo greške jednačina za procenu ADL je bio veći nego u slučaju ADF i NDF. Utvrđene razlike u poređenju otkosa analizom varijanse (Tabela 5-14) i regresionom analizom (Grafikon 5-72) su prethodno pomenute. Osim jednačine [3-44] jednačine drugih autora (Tabela 3-7) su imale više  $R^2$  od odgovarajućih dobijenih jednačina (Tabela 5-24). Pomenuta jednačina Fick and Onstad (1988) je imala značajno manji  $R^2$  od jednačine [5-140], ali RMSE obe ove jednačine je bio gotovo identičan.

Br. jedn.	Jednačina	$R^2$	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-139]	$ADL = 22,777 + 34,343 \times ln(MSC+1)$	0,6072	10,64
[5-140]	$ADL = 8,664 + 35,654 \times ln(MSW+1)$	0,7111	9,13
[5-141]	$ADL = 9,164 + 35,674 \times \ln(MSFW+1)$	0,7073	9,19
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-142]	$ADL = 48,648 + 29,563 \times \ln(MSC)$	0,8217	7,94
[5-143]	$ADL = 31,831 + 28,596 \times ln(MSW)$	0,8143	8,10
[5-144]	$ADL = 31,812 + 29,160 \times \ln(MSFW)$	0,8188	8,00
	$II \ otkos \ n = 35$		
[5-145]	$ADL = 38,384 \times MSC^{0,498}$	0,8416	6,12
[5-146]	$ADL = 22,455 \times MSW - 1,477 \times MSW^2$	0,8123	6,66
[5-147]	$ADL = 22,755 \times MSFW - 1,517 \times MSFW^2$	0,8102	6,69
	III otkos $n = 34$		
[5-148]	$ADL = 26,853 + 15,824 \times MSC - 1,535 \times MSC^{2}$	0,8763	3,91
[5-149]	$ADL = 16,936 + 25,029 \times ln(MSW+1)$	0,8839	3,79
[5-150]	$ADL = 18,339 + 24,339 \times ln(MSFW+1)$	0,8792	3,87

Tabela 5-24. Jednačine za procenu ADL (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Pored lignina (ADL) od hemijskih parametara koji ulaze u sastav NDF i ADF, računski su određeni celuloza i hemiceluloza (jednačinama [4-5] i [4-6]), dok su analizama određeni NDICP i ADICP. Jednačine za procenu celuloze i hemiceluloze su prikazane u tabelama 5-24 i 5-25, dok je odnos MSW i celuloze prikazan na grafikonu 5-75, a odnos MSW i hemiceluloze na grafikonu 5-76. Na osnovu prikazanih R<sup>2</sup> i RMSE može se reći da je hemiceluloza imala veću varijaciju od celuloze u odnosu na izvedene regresije. U slučaju celuloze, jednačine izvedene za II i III otkos su relativno malo prosečno odstupale od nivoa celuloze u sakupljenim uzorcima. Udeo greške u II i III otkosu je prosečno bio oko 5 %, što ukazuje da celuloza može biti uspešno procenjena sa srednjim morfološkim fazama. Kod hemiceluloze u istim otkosima, udeo

greške je bio duplo veći. Ukoliko bi se posmatralo preko udela greške, moglo bi se reći da su jednačine za procenu celuloze po parametrima tačnosti sličnije aNDF i ADF dok su jednačine za procenu hemiceluloze sličnije ADL. Sličnost celuloze sa aNDF i ADF se takođe ispoljila i u slučaju pojave drugačijeg oblika jednačine za MSFW u odnosu na MSW (jednačine [5-152] i [5-153]). U slučaju celuloze, poređenje otkosa analizom varijanse (Tabela 5-14) i regresionom analizom (Grafikon 5-75) je dalo slične rezultate. Iako su trendovi hemiceluloze (Grafikon 5-76) bili dosta nepravilni, za razliku od analize varijanse, regresiona analiza je pokazala razdvajanje otkosa prema sadržaju hemiceluloze u uzorcima sa sličnom MSW vrednošću.

Tabela 5-24. Jednačine za procenu celuloze (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Br. jedn.	Jednačina	R²	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-151]	$Celuloza = 215,749 + 52,241 \times ln(MSC)$	0,6022	28,81
[5-152]	$Celuloza = 176,772 + 62,256 \times ln(MSW)$	0,6357	27,56
[5-153]	Celuloza = $120,396 + 56,174 \times MSFW - 4,638 \times MSFW^2$	0,6320	27,71
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-154]	$Celuloza = 216,988 + 70,41 \times ln(MSC)$	0,7834	21,34
[5-155]	$Celuloza = 390,380 - 219,627 \times MSW^{-0,455}$	0,8016	20,43
[5-156]	Celuloza = $394,229 - 223,080 \times MSFW^{-0,451}$	0,8011	20,45
	II otkos $n = 35$		
[5-157]	$Celuloza = 140,323 + 78,941 \times MSC - 9,301 \times MSC^{2}$	0,9103	9,14
[5-158]	$Celuloza = 107,586 + 69,061 \times MSW - 5,878 \times MSW^{2}$	0,8686	11,07
[5-159]	Celuloza = $110,056 + 68,789 \times MSFW - 5,904 \times MSFW^2$	0,8652	11,21
	III otkos $n = 34$		
[5-160]	$Celuloza = 126,829 - 55,284 \times MSC - 6,041 \times MSC^{2}$	0,9113	10,11
[5-161]	$Celuloza = 106,721 + 46,587 \times MSW - 3,868 \times MSW^{2}$	0,9176	9,75
[5-162]	$Celuloza = 110,257 + 45,722 \times MSFW - 3,818 \times MSFW^{2}$	0,9136	9,99

Tabela 5-25. Jednačine za procenu hemiceluloze (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Br. jedn.	Jednačina	R <sup>2</sup>	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-163]	Hemiceluloza = $60,880 + 19,749 \times \ln(MSC)$	0,5091	13,16
[5-164]	$Hemiceluloza = 17,342 + 38,109 \times ln(MSW+1)$	0,6646	10,87
[5-165]	Hemiceluloza = $17,952 + 38,079 \times \ln(MSFW+1)$	0,6593	10,96
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-166]	$Hemiceluloza = 26,176 + 35,797 \times MSC - 3,690 \times MSC^2$	0,6745	12,00
[5-167]	Hemiceluloza = $42,472 + 30,871 \times \ln(MSW)$	0,7578	10,35
[5-168]	Hemiceluloza = $42,501 + 31,436 \times \ln(MSFW)$	0,7599	10,31
	II otkos $n = 35$		
[5-169]	$Hemiceluloza = 20,814 + 27,186 \times MSC - 3,053 \times MSC^2$	0,6702	7,63
[5-170]	Hemiceluloza = $34,700 + 26,177 \times \ln(MSW)$	0,6244	8,14
[5-171]	Hemiceluloza = $35,387 + 25,933 \times \ln(MSFW)$	0,6223	8,16
	III otkos $n = 34$		
[5-172]	$Hemiceluloza = 26,738 + 38,394 \times \ln(MSC+1)$	0,8559	6,68
[5-173]	$Hemiceluloza = 20,836 + 20,050 \times MSW - 1,445 \times MSW^2$	0,8581	6,62
[5-174]	$Hemiceluloza = 22,383 + 19,720 \times MSFW - 1,429 \times MSFW^2$	0,8535	6,73





Nisu pronađeni literaturni navodi o vezi MSW sa celulozom i hemicelulozom u celoj biljci lucerke. Kalu *et al.* (1990) su prikazali podatke iz istraživanja Kalu and Fick (1983), na osnovu ovih podataka bi bilo moguće izračunati ove jednačine. Međutim, verovatno se mogu očekivati slični rezultati kao i u slučaju NDF i ADF. Prikupljanje uzoraka u istraživanju Kalu and Fick (1983) je trajalo dve godine, pri čemu je sakupljeno 24 uzorka, zbog čega ove jednačine ne bi bile adekvatne za poređenje. Sanderson and Wedin (1988) su ispitali povezanost MSW i frakcija ćelijskog zida samo u stablu lucerke, ispitivan je NDF, lignin, celuloza i hemiceluloza. Istraživanjem su obuhvaćene dve godine i četiri otkosa, ukupno 79 uzoraka lucerke. Kada je celuloza

izražena u g/kg NDF, MSW je uspeo da objasni 52% varijacije celuloze što je manje od prikazanog  $R^2$  jednačine [5-152]. Za razliku od obavljenog istraživanja, prema ovim autorima hemiceluloza u stablu lucerke nije bila povezana sa MSW.

NDICP i ADICP nisu pokazali zavisnost od srednjih morfoloških faza. Odsustvo trenda se može primetiti na grafikonima 5-77 i 5-78 na kojima je prikazan odnos ovih parametara sa MSW. Veoma mali procenat varijacije koji je objašnjen srednjim morfološkim fazama (Tabele 5-26 i 5-27) takođe ukazuje na odsustvo trenda. U drugom otkosu nijedan od ispitivanih oblika jednačina nije imao statistički značajne regresione parametre, što ne čini bitnu razliku u odnosu na jednačine iz drugih otkosa koje su imale veoma mali  $R^2$ . Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da ovi parametri nisu povezani sa zrelošću lucerke.



NDICP je izražen u g/kg SM

Grafikon 5-78. Odnos između MSW i ADICP. ADICP je izražen u g/kg SM

Tabela 5-26. Jednačine za procenu NDIC	P (g/kg SM) na osnovu	MSC, MSW i MSFW
--	-----------------------	-----------------

Br. jedn.	Jednačina	$R^2$	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-175]	NDICP = $33,257 - 3,842 \times \ln(MSC)$	0,2245	4,84
[5-176]	NDICP = $34,885 \times MSW^{-0,110}$	0,1322	5,12
[5-177]	NDICP = $34,781 \times MSFW^{-0,110}$	0,1452	5,09
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-178]	NDICP = $30,737 + MSC^{-2,092}$	0,1891	4,56
[5-179]	$NDICP = 31,230 + MSW^{-4,184}$	0,1548	4,66
[5-180]	NDICP = $31,229 \times MSFW^{-4,165}$	0,1541	4,66
	$II \ otkos^1 \ n = 35$		
	III otkos $n = 34$		
[5-181]	NDICP = $35,229 - 5,152 \times \ln(MSC)$	0,4476	5,09
[5-182]	NDICP = $39,643 - 6,779 \times \ln(MSW)$	0,4522	5,07
[5-183]	NDICP = $38,575 - 6,055 \times \ln(MSFW)$	0,4470	5,09

<sup>1</sup> Nijedan ispitivani oblik jednačina nije bio statistički značajan

8

Br. jedn.	Jednačina	$\mathbb{R}^2$	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-184]	ADICP = $9,011 + 1,127 \times \ln(MSC)$	0,2162	1,46
[5-185]	$ADICP = 8,195 + 1,322 \times ln(MSW+1)$	0,2211	1,45
[5-186]	$ADICP = 8,283 + 1,273 \times ln(MSFW+1)$	0,2182	1,45
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-187]	$ADICP = 6,565 + 3,319 \times ln(MSC+1)$	0,3834	1,45
[5-188]	$ADICP = 8,035 + 1,714 \times \ln(MSW)$	0,3050	1,54
[5-189]	$ADICP = 8,109 \times MSFW^{0,182}$	0,3090	1,53
	$II \ otkos^1 \ n = 35$		
	III otkos $n = 34$		
[5-190]	$ADICP = 6,752 + 1,778 \times MSC - 0,271 \times MSC^{2}$	0,3099	1,16
[5-191]	$ADICP = 5,741 + 1,840 \times MSW - 0,215 \times MSW^2$	0,3545	1,12
[5-192]	$ADICP = 5,869 + 1,799 \times MSFW - 0,213 \times MSFW^2$	0,3550	1,12

Tabela 5-27. Jednačine za procenu ADICP (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

<sup>1</sup> Nijedan ispitivani oblik jednačina nije bio statistički značajan

Nisu pronađeni literaturni navodi o povezanosti apsolutne količine NDICP i ADICP sa morfološkom fazom razvoja. Međutim, u istraživanju Griffin *et al.* (1994) je prikazana veza NDIN i ADIN sa MSW, kada su oni izraženi kao procenat SP. Poređenja sa ovim istraživanjem će biti obavljeno u delu koji se tiče povezanosti B, C i SP<sub>R</sub> frakcije proteina sa srednjom morfološkom fazom.

Br. jedn.	Jednačina	$\mathbb{R}^2$	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-193]	$NFC = 324,444 - 38,565 \times \ln(MSC+1)$	0,4364	16,89
[5-194]	$NFC = 332,093 - 34,569 \times \ln(MSW+1)$	0,3810	17,70
[5-195]	NFC = $331,736 - 34,673 \times \ln(MSFW+1)$	0,3808	17,70
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-196]	$NFC = 315,517 - 16,548 \times MSC$	0,6471	14,34
[5-197]	$NFC = 300,861 - 1,090 \times MSW^2$	0,5231	16,67
[5-198]	$NFC = 300,952 - 1,156 \times MSFW^2$	0,5324	16,50
	II otkos n = 35		
[5-199]	$NFC = 353,947 - 54,735 \times MSC + 7,205 \times MSC^{2}$	0,7352	10,05
[5-200]	$NFC = 251,913 + 134,585 \times MSW^{-1,988}$	0,6795	11,06
[5-201]	$NFC = 251,711 + 124,888 \times MSFW^{-1,931}$	0,6794	11,06
	III otkos $n = 34$		
[5-202]	$NFC = 289,774 \times MSC^{-0.815}$	0,0630	9,40
[5-203]	$NFC = 290,191 \times MSW^{-1,521}$	0,0515	9,46
[5-204]	$NFC = 290,094 \times MSFW^{-1,127}$	0,0524	9,45

Tabela 5-28. Jednačine za procenu NFC (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Imajući u vidu da je NFC određen prema jednačini [4-7], neočekivano mali procenat varijacije NFC je objašnjen nekom od srednjih morfoloških faza. Visoka korelisanost srednjih morfoloških faza i najzastupljenijih hemijskih parametara (SP i aNDF) nije opravdana visokom tačnošću regresija za procenu NFC (Tabela 5-28). U tom smislu, u poređenju sa drugim otkosima, III otkos je kod većine hemijskih parametara imao jednačine sa najvišim  $R^2$ , dok je NFC u III otkosu pokazao potpuno odsustvo trenda. Veoma nizak RMSE u III otkosu ukazuje na konstatnost NFC u lucerki različite zrelosti (morfološka faza razvoja). Relativno nizak RMSE kod svih ostalih jednačina nije bio praćen visokim  $R^2$ , što takođe ukazuje na konstantnost NFC i u drugim otkosima, što se može primetiti na grafikonu 5-79. Odsustvu trenda je verovatno doprinela i "akumulacija" greške svih parametara na osnovu kojih se obračunava NFC. Analiza varijanse (Tabela 5-14) je pokazala da II otkos ima statistički značajno (p<0,01) manju količinu NFC. Poredeći uzorke sa istom MSW vrednošću iz različitih otkosa, II otkos u odnosu na I i III ima manju količinu NFC jedino u sredini vegetacije (MSW od 3,2 do 5,2). U literaturi nema navoda o povezanosti srednje morfološke faze lucerke sa NFC.



### 5.4.2 Odnos srednjih morfoloških faza sa svarljivošću organske materije

Prema srednjoj vrednosti, između otkosa su pronađene razlike kod skoro svih hemijskih parametara (Tabela 5-14). Razlike između otkosa su, takođe, potvrđene kada su hemijski parametri stavljeni u odnos sa srednjim morfološkim fazama (grafikoni od 5-71 do 5-79). III otkos se izdvajao od druga dva otkosa po najmanjoj količini frakcija ćelijskog zida i po najvećoj količini SP, međutim, ovo nije doprinelo izdvajanju ovog otkosa prema IVSOM (Tabela 5-14).

Kao što je već napomenuto, jedan od parametara za određivanje IVSOM je GP. Iako analizom varijanse nisu pronađene razlike između otkosa u količini stvorenog gasa (Tabela 5-14) zabeležene su razlike između otkosa pri različitim nivoima MSW. Na grafikonu 5-80 su prikazane regresione krive za stvorenu količinu gasa – GP, u zavisnosti od starosti lucerke (MSW). Kriva III otkosa je bila najniže pozicionirana do oko 4,5 MSW, dok su uzorci sa MSW većim od 4,5 proizveli sličnu količinu gasa kao i uzorci iz I otkosa. Sa druge strane, regresiona linija izvedena za II otkos je bila najviše pozicionirana u odnosu na druge izvedene regresije. Takođe, većina uzoraka II otkosa je imala veću GP od uzoraka sa istim MSW iz druga dva otkosa.



0,0 0,4 0,8 1,2 1,6 2,0 2,4 2,8 3,2 3,6 4,0 4,4 4,8 5,2 5,6 6,0 6,4 6,8 7,2 7,6 8,0 Grafikon 5-80. Količina stvorenog gasa – GP (izražena u ml/200 mg SM) u uzorcima sa različitim MSW

Ispitivanje povezanosti GP sa morfološkim fazama je opravdano ukoliko se pođe od činjenice da u izvesnom smislu ovaj parametar može predstavljati metod za ocenu hranljive vrednosti. Količina stvorenog gasa zavisi od svih fermentabilnih materija u nekom hranivu, zbog čega je GP sasvim sigurno povezan sa svarljivošću i razgradivošću organske materije. U tabeli 5-29 su prikazane jednačine za procenu količine gasa u zavisnosti od srednje morfološke faze. Ove jednačine su prikazane sa ciljem prikaza zavisnosti GP od zrelosti lucerke. Imajući u vidu intervale varijacije GP u uzorcima iz ispitivanih otkosa (Tabela 5-14) može se zaključiti da su greške prikazanih regresija bile velike. Na osnovu ovoga se može reći da se ovaj parametar ne može proceniti sa velikom pouzdanošću na osnovu srednjih morfoloških faza.

Br. jedn.	Jednačina	R²	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-205]	$GP = 48,072 - 5,071 \times \ln(MSC+1)$	0,4675	2,09
[5-206]	$GP = 50,874 - 5,744 \times \ln(MSW+1)$	0,6518	1,69
[5-207]	$GP = 50,763 - 5,726 \times \ln(MSFW+1)$	0,6435	1,71
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-208]	$GP = 50,883 - 8,308 \times \ln(MSC+1)$	0,6574	2,06
[5-209]	$GP = 48,473 - 1,696 \times MSW$	0,8113	1,53
[5-210]	$GP = 48,553 - 1,763 \times MSFW$	0,8166	1,51
	$II \ otkos \ n = 35$		
[5-211]	$GP = 46,097 \times MSC^{-0.075}$	0,6040	1,27
[5-212]	$GP = 48,491 \times MSW^{-0,092}$	0,6207	1,25
[5-213]	$GP = 48,397 \times MSFW^{-0,092}$	0,6244	1,24
	III otkos $n = 34$		
[5-214]	$GP = 45,557 - 2,432 \times MSC + 0,268 \times MSC^{2}$	0,7364	0,85
[5-215]	$GP = 46,282 - 1,933 \times MSW + 0,155 \times MSW^2$	0,7290	0,86
[5-216]	$GP = 46,176 - 1,923 \times MSFW + 0,156 \times MSFW^2$	0,7337	0,85

Tabela 5-29. Jednačine za procenu GP (ml/200 mg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Pošto se III otkos izdvajao po povoljnijem hemijskom sastavu od druga dva ispitivana otkosa, bilo je očekivano njegovo izdvajanje i prema IVSOM. Kao što je već prikazano, analizom varijanse nisu nađene razlike između otkosa (Tabela 5-14). Kada su u odnos stavljeni srednja morfološka faza i IVSOM, utvrđene su razlike između ispitivanih otkosa (Grafikon 5-81). Regresione krive II i III otkosa su se skoro u potpunosti preklapale, dok je kriva izvedena za uzorke iz I otkosa bila najniže pozicionirana. Pri MSW oko 3,0 kriva I otkosa je bila niže pozicionirana za oko 25 g/kg OM, sa starenjem lucerke ova razlika se još povećavala. Ako se posmatra preko MSC, zbog nepravilnosti u porastu MSC, uzorci iz I otkosa su se još naglašenije izdvajali od uzoraka iz II i III otkosa.

Imajući u vidu pomenuto izdvajanje III otkosa po svim najvažnijim parametrima, nije sasvim jasno zbog čega nije utvrđeno izdvajanje i prema IVSOM. Utvrđeni koeficijenti korelacije između IVSOM i hemijskih parametara (Tabela 5-17) ukazuju na najveću povezanost IVSOM sa frakcijama vlakana, pa potom sa SP i SMa. Pošto je utvrđena najmanja količina aNDF, ADF i ADL u III otkosu (Tabela 5-14; Grafikon 5-72) kao i jaka negativna korelacija između aNDF, ADF, ADL i IVSOM (-0,9411; -0,8901; -0,9271 redom), bilo je očekivano da III otkos ima najveću IVSOM.



Izražavanje hemijskih parametara na organsku materiju nije dovelo do drugačijeg pozicioniranja otkosa (rezultati nisu prikazani). Takođe, koeficijenti korelacije hemijskih parametara izraženih u g/kg OM i IVSOM su bili gotovo identični sa koeficijentima prikazanim u tabeli 5-17. Jedina razlika u koeficijentu korelacije je dobijena za GP kada je on izražen prema OM. Dobijeni R između GP (ml/200 mg OM) i IVSOM su iznosili 0,9515; 0,9603; 0,9597; 0,9673 za sve otkose, I otkos, II otkos i III otkos redom. Ovi koeficijenti korelacije mogu da naglase direktnu zavisnost IVSOM od GP, međutim ne pružaju objašnjenje zbog čega su uzorci iz III otkosa takođe imali manju količinu stvorenog gasa u odnosu na uzorke iz I i II otkosa. Odgovor na ovo pitanje možda leži u neispitivanim hemijskim parametrima koji mogu uticati na svarljivost kao i na mikroorganizme u buragu. Prema Van Soest (1994), postoji čitava grupa fenolnih jedinjenja, najčešće vezanih za lignin i ćelijski zid, kojih može biti u značajnoj količini u leguminozama (tanini, izoflavoni, kumarin, kutin...). Prema ovom autoru kod kabastih hraniva kutin je najviše zastupljen upravo u lucerki. Vršena su i neka istraživanja koncentracije p-kumarinske (eng. p-coumaric acid) i ferulne kiseline (eng. ferulic acid) u lucerki pri različitoj starosti (Komprda et al. 1997a). Ove dve kiseline verovatno predstavljaju prekursore u sintezi lignina (Van Soest, 1994) i imaju inhibitorno dejstvo na razvoj mikroorganizama buraga (Komprda et al. 1997a; Van Soest 1994). Prema Komprda et al. (1997a) i Van Soest (1994) toksično dejstvo ovih kiselina je potvrđeno u in vitro studijama. Chesson et al. (1982) su istakli da stopa rasta buražnih mikroorganizama i njihova sposobnost da razgrade celulozu u in vitro uslovima je najefikasnije inhibirana pomoću ove dve kiseline (citat prema Komprda et al. 1997a). Van Soest (1994) pretpostavlja da u buragu mikroorganizmi verovatno imaju mogućnost da se naviknu na prisustvo ovih kiselina, sa druge strane in vitro istraživanja su vremenski ograničena, zbog čega je negativan uticaj ovih prekursora lignina naglašen. Nije poznato da li postoji razlika između otkosa po ovim parametrima.

# 5.4.2.1 Jednačine za procenu IVSOM lucerke na polju na osnovu srednjih morfoloških faza

Sve jednačine izvedene za procenu IVSOM (Tabela 5-30) su imale relativno malu grešku. Izračunato na osnovu prikazanog intervala varijacija po otkosima (Tabela 5-14), greška je maksimalno iznosila 3,5; 2 i 1,5 % za I, II i III otkos, redom. Sve
jednačine određene na osnovu MSW i MSFW su imale iste oblike regresione funkcije sa sličnim regresionim koeficijentima, kao i sličnim parametrima tačnosti.

Br. jedn.	Jednačina	R²	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-217]	$IVSOM = 722,455 - 55,218 \times ln(MSC)$	0,6228	29,15
[5-218]	$IVSOM = 843,735 - 106,252 \times ln(MSW+1)$	0,8085	20,77
[5-219]	$IVSOM = 842,043 - 106,174 \times ln(MSFW+1)$	0,8021	21,12
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-220]	$IVSOM = 725,743 - 85,337 \times ln(MSC)$	0,7674	27,08
[5-221]	$IVSOM = 781,095 - 88,588 \times ln(MSW)$	0,8759	19,78
[5-222]	$IVSOM = 780,996 - 90,192 \times ln(MSFW)$	0,8780	19,61
	II otkos n = 35		
[5-223]	$IVSOM = 805,505 - 61,383 \times MSC + 5,989 \times MSC^2$	0,8596	12,23
[5-224]	$IVSOM = 792,581 \times MSW^{-0,109}$	0,8565	12,36
[5-225]	$IVSOM = 790,382 \times MSFW^{-0,108}$	0,8560	12,38
	III otkos $n = 34$		
[5-226]	$IVSOM = 794,677 - 61,244 \times MSC + 6,544 \times MSC^2$	0,9197	10,86
[5-227]	$IVSOM = 815,201 - 49,970 \times MSW + 3,953 \times MSW^2$	0,9265	10,39
[5-228]	$IVSOM = 811,733 - 49,294 \times MSFW + 3,932 \times MSFW^2$	0,9250	10,49

Tabela 5-30. Jednačine za procenu IVSOM (g/kg OM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

U cilju povezivanja srednje morfološke faze i svarljivosti, u literaturi je prisutno više načina na koji je svarljivost određivana. U radovima Kalu and Fick (1981, 1983) i Fick and Onstad (1988), određivana je *in vitro* prava svarljivost (IVTD), Sanderson and Wedin (1989) su određivali *in vitro* svarljivu suvu materiju (IVDDM), Griffin *et al.* (1994) su određivali *in situ* razgradivost OM, a Komprda *et al.* (1993; 1997b) *in situ* razgradivost suve materije ISDMD. U slučaju svarljivosti i razgradivosti autori su prikazali visoke  $R^2$  (Tabele 3-4, 3-8 i 3-9) za jednačine određene za MSW. Sve jednačine iz pomenutih tabela su imale više  $R^2$  od odgovarajućih jednačina iz tabele 5-30, osim u slučaju jednačina [3-18] i [3-62] koje su imale manji  $R^2$  od jednačina [5-218] i [5-227].

Jednačine za procenu količine svarljive OM u lucerki na polju su takođe određene (Tabela 5-31), dobijeni su manji R<sup>2</sup> u odnosu na jednačine za IVSOM. Imajući u vidu da je varijacija svarljive OM po otkosima iznosila: 525,06 – 730,65 g/kg OM (I otkos); 556,54 – 707,63 g/kg OM (II otkos); 587,37 – 707,52 g/kg OM (III otkos), udeo greške-RMSE je bio mali. Izračunato na osnovu prikazanog opsega varijacija svarljive OM po otkosima, greška je maksimalno iznosila 3,33; 1,89 i 1,51% za I, II i III otkos redom. Pozicioniranje regresionih krivih (Grafikon 5-82) je bilo drugačije u odnosu na IVSOM (Grafikon 5-81). Udaljenost krive III otkosa je bila mnogo veća od

krive II otkosa, zbog čega se II otkos izdvojio kao otkos sa najvećom količinom svarljive OM. Razlog "nižeg" pozicioniranja krive III otkosa je verovatno količina SPe. U III otkosu je zabeleženo najviše SPe (Tabela 5-14; Grafikon 5-74) zbog čega je ovaj otkos imao najmanje OM, a pošto je utvrđena IVSOM bila gotovo identična sa II otkosom, dobijeni međusobni odnos krivih za svarljivu OM je očekivan.

Br. jedn.	Jednačina	R <sup>2</sup>	RMSE
	$Svi \ otkosi \ n = 141$		
[5-229]	Svarljiva OM = $649,922 - 41,953 \times \ln(MSC)$	0,5941	23,52
[5-230]	Svarljiva OM = 741,547 - $80,381 \times \ln(MSW+1)$	0,7647	17,91
[5-231]	Svarljiva OM = 740,306 - $80,348 \times \ln(MSFW+1)$	0,7591	18,12
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-232]	Svarljiva OM = $654,090 \times MSC^{-0,106}$	0,7561	21,91
[5-233]	Svarljiva OM = 697,491 - 68,670 $\times$ ln(MSW)	0,8431	17,58
[5-234]	Svarljiva OM = $697,460 - 69,955 \times \ln(MSFW)$	0,8461	17,41
	II otkos $n = 35$		
[5-235]	Svarljiva OM = $674,741 \times MSC^{-0.077}$	0,8180	11,12
[5-236]	Svarljiva OM = 710,408 × MSW <sup>-0,094</sup>	0,8360	10,56
[5-237]	Svarljiva OM = $708,826 \times MSFW^{-0,093}$	0,8375	10,51
	III otkos n = 34		
[5-238]	$Svarljiva OM = 692,985 - 44,943 \times MSC + 4,962 \times MSC^2$	0,8789	9,68
[5-239]	Svarljiva OM = 709,810 - 38,082 × MSW + 3,187 × MSW <sup>2</sup>	0,8965	8,95
[5-240]	Svarljiva OM = 707,473 - 37,707 × MSFW + 3,188 × MSFW <sup>2</sup>	0,8995	8,82

Tabela 5-31. Jednačine za procenu svarljive OM (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW



5.4.3 Odnos srednjih morfoloških faza sa energetskim frakcijama

Kao što je već istaknuto, svi utvrđivani hemijski parametri (SP, SPe, SMa, aNDF, ADF, ADL, NDICP, ADICP) predstavljaju parametre za utvrđivanje TDN, NE<sub>L</sub>

i ostalih energetskih frakcija prema NRC (2001). U cilju procene NE<sub>L</sub>, u lucerki na polju, moguća su dva pristupa. Prvi ili "indirektni" pristup bi podrazumevao da se pojedinačnim jednačinama proceni svaki potreban hemijski parametar, a potom bi se te procenjene vrednosti ubacivale u NRC model obračuna NE<sub>L</sub>. Drugi pristup bi se mogao nazvati "direktnim" pristupom pošto bi se za procenu NE<sub>L</sub> upotrebile jednačine na osnovu kojih bi se količina NE<sub>L</sub> u lucerki direktno procenila, što podrazumeva određivanje NE<sub>L</sub> u svim uzorcima za kalibraciju.

Olfert (2004) je pošao od ideje da se NE<sub>L</sub> u biljci lucerke može indirektno proceniti preko procene pojedinačnih parametara za obračun NE<sub>L</sub>. Kao što je pokazano, ne mogu se svi hemijski parametri uspešno proceniti na osnovu srednjih morfoloških faza. Od hemijskih "makro" parametara, SPe je bio najslabije povezan sa morfološkim fazama, zbog čega je njegova procena moguća, ali uz veći udeo greške. Sa druge strane, SMa predstavljaju "minornu" hemijsku komponentu u kabastim hranivima, međutim uzimajući u obzir deo energije koji životinja obezbeđuje iz SMa, ovaj parametar se ne može zanemariti. Procena SMa na osnovu srednje morfološke faze je bila slabija u odnosu na SP, aNDF, ADL. Generalno gledano, jednačine za procenu svih hemijskih parametara su u I otkosu imale veću grešku, što bi dovelo do veće greške procene NE<sub>L</sub>. Takođe, NDICP i ADICP su se pokazali skoro u potpunosti nepredvidivi pomoću srednjih morfoloških faza. Iako možemo pretpostaviti da se NDICP i ADICP mogu zanemariti i umesto njih uzeti tabelarne vrednosti, indirektna procena NE<sub>L</sub> bi sasvim sigurno sa sobom nosila rizik povećane greške. Naime, svaki pojedinačni procenjeni parametar bi u sebi "nosio" i određeni procenat greške regresije, zbog čega bi ovako određena NE<sub>L</sub> verovatno značajnije odstupala od realne. Na prikazanom primeru procene NFC pomoću MSC, MSW i MSFW (Tabela 5-28) se može videti verovatni uticaj "sabiranja" greške, nastale u analitici.

Zbog svega navedenog, u ovom istraživanju se pošlo od postavke da se  $NE_L$ utvrdi u svakom uzorku, pa potom da se izvedu regresije za njenu direktnu procenu. Ovaj pristup je takođe primenjen i u istraživanjima Komprda *et al.* (1993; 1997b). Na grafikonu 5-83 je prikazana veza  $NE_L$ , analitički utvrđene u svakom uzorku, i ispitivanih srednjih morfoloških faza. Kao što se može primetiti, postoji razlika u regresionom trendu kao i u nivou utvrđene  $NE_L$  između uzoraka iz različitih otkosa sa sličnom srednjom morfološkom fazom (Grafikon 5-83). Do MSW (MSFW) od oko 2,0 uzorci iz svih otkosa su imali sličan nivo  $NE_L$ , nakon čega je zabeleženo rapidno smanjenje  $NE_L$  u uzorcima iz I otkosa. Sa druge strane, sve do oko MSW (MSFW) 3,6 uzorci iz II i III otkosa su imali sličnu  $NE_L$ . Razlika između krivih je već pri MSW (MSFW) od oko 5,0 iznosila skoro 0,5 MJ/kg SM, što predstavlja značajno odstupanje ako se zna da su uzorci u toj fazi zrenja imali između 5 i 5,5 MJ/kg SM. Zbog ovoga se može reći da je opravdano izvođenje regresija za svaki otkos zasebno.

Izdvajanje otkosa po sadržaju NE<sub>L</sub> nije bilo jasno kao kod nekih hemijskih parametara, ali se može reći da je u III otkosu utvrđena najveća količina NE<sub>L</sub>. Analiza varijanse (Tabela 5-14) nije pokazala primećene razlike, veliki broj uzoraka iz srednjeg dela (MSW 2,0 do 4,0) I otkosa je imao izraženo manju neto energetsku vrednost. Ovo je značajno i sa stanovišta da se lucerka najčešće kosi u ovom periodu. Kao što je ranije pokazano, razdvajanje otkosa je bilo najuočljivije kada je energetska vrednost izražena po kg OM a ne po kg SM. Na grafikonu 5-84 je prikazana koncentracija NE<sub>L</sub> u OM pri konkretnim nivoima MSW. Prikazane su krive (Grafikon 5-84) sa najvišim  $R^2$ , značajnost korelacionih koeficijenata regresionih funkcija ovih krivih nije proveravana. Kada se na ovaj način uporede otkosi jasno je da je III otkos bio najbogatiji energijom.

Kod uzoraka iz III otkosa, sa MSW većim od 4,0 , je zabeleženo čak 1 MJ/kg svarljive OM NE<sub>L</sub> više nego kod uzoraka iz II otkosa. Ova razlika se može objasniti velikom količinom svarljive OM i malom NE<sub>L</sub> u II otkosu. U odnosu na druga dva otkosa, u pomenutom intervalu, ovaj otkos je imao najviše svarljive OM (Grafikon 5-82). Sa druge strane, u ovom intervalu II otkos je imao najmanje NE<sub>L</sub> (Grafikon 5-83). Kao što je već rečeno, ova razlika između svarljivosti i NE<sub>L</sub> se može objasniti jedino razlikama u strukturi svarljive OM koja postoji između otkosa. Na osnovu rezultata koji su dobijeni u ovom istraživanju ne može se reći koji procenat aNDF je bio razgradiv i da li u tom smislu postoje razlike između otkosa. Jedino je moguće tvrditi da je primećeno da je svarljivi deo OM imao značajno više NE<sub>L</sub> u III otkosu. U srednjem delu vegetacije (od 2,0 do 4,0 MSW) najmanje NE<sub>L</sub> u svarljivoj OM je imao I otkos, dok je na kraju vegetacije (MSW preko 4,0) u II otkosu bilo najmanje NE<sub>L</sub> u svarljivoj OM.





Pomenuti interval od 2,0 do 4,0 je veoma značajan pošto se upravo u ovom intervalu kosi lucerka ako se želi dobiti kvalitetno seno i silaža. Ukoliko dobijeni rezultati za I otkos predstavljaju biološku osobinu ovog otkosa u agroekološkim uslovima u kojima je ovo istraživanje obavljeno, o ovom problemu bi se moralo voditi računa. Kako navodi Buxton (1996), ranije se pri selekciji biljnih vrsta, koje se koriste za dobijanje kabastih hraniva, malo pažnje obraćalo na njihov kvalitet, pošto se bolji kvalitet kabastih hraniva može postići ranijim košenjem. U navedenom slučaju momenat košenja ne bi bio presudan, zbog čega bi verovatno eventualna selekcija u cilju izmene strukture svarljive OM mogla da reši ovaj problem.

# 5.4.3.1 Jednačine za procenu energetskih frakcija u lucerki na polju na osnovu srednjih morfoloških faza

TDN u punom smislu reči ne predstavlja energetsku frakciju, u ovom radu energetskim frakcijama se nazivaju DE, ME i NE. Ovaj parametar je prikazan u ovom delu zbog sličnosti određivanja TDN i energetskih frakcija kao i sličnosti dobijenih rezultata. Iako se, kao što je već prikazano, prema NRC (2001), TDN računa pomoću istih hemijskih parametara, energetske frakcije se ne računaju direktno na osnovu TDN, što je bio slučaj u prethodnoj verziji NRC normativa (NRC, 1989). U novijoj verziji NRC normativa za ishranu muznih krava (NRC, 2001), TDN se koristi za obračun

ukupne količine TDN u obroku na osnovu koje se vrši korekcija energetskih frakcija. Iako postoji vrlo jaka veza TDN sa energetskim frakcijama, ona nije sasvim direktna, što je ujedno i razlog manjih razlika između jednačina kao i trendova TDN i energetskih frakcija u sakupljenim uzorcima.



Tabela 5-32. Jednačine za procenu TDN (g/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Br. jedn.	Jednačina	R <sup>2</sup>	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-241]	$TDN = 661,449 - 54,845 \times ln(MSC)$	0,6570	26,88
[5-242]	$TDN = 705,275 - 67,773 \times \ln(MSW)$	0,7458	23,14
[5-243]	$TDN = 769,332 - 98,116 \times ln(MSFW+1)$	0,7324	23,74
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-244]	$TDN = 663,467 \times MSC^{-0,132}$	0,8167	22,82
[5-245]	$TDN = 714,531 \times MSW^{-0,127}$	0,8013	23,76
[5-246]	$TDN = 714,448 \times MSFW^{-0,129}$	0,8043	23,58
	$II \ otkos \ n = 35$		
[5-247]	$TDN = 755,490 - 68,387 \times MSC + 6,406 \times MSC^{2}$	0,9230	10,26
[5-248]	$TDN = 784,492 - 59,599 \times MSW + 4,153 \times MSW^2$	0,9056	11,36
[5-249]	$TDN = 783,165 - 59,806 \times MSFW + 4,206 \times MSFW^2$	0,9055	11,36
	III otkos $n = 34$		
[5-250]	$TDN = 722,615 - 51,990 \times MSC + 5,684 \times MSC^{2}$	0,8939	10,50
[5-251]	$TDN = 743,574 - 45,038 \times MSW + 3,790 \times MSW^{2}$	0,9215	9,03
[5-252]	$TDN = 740,497 - 44,399 \times MSFW + 3,767 \times MSFW^2$	0,9212	9,05

Pomenute male razlike u trendu TDN se teško mogu primetiti na grafikonu 5-85. Razlike su uočljive u obliku krivih (Tabela 5-32), koji nije sasvim identičan kao kod energetskih frakcija (Tabele 5-33, 5-34 i 5-25). Tačnije, razlika postoji u obliku jednačine [5-243], u dobijenim  $R^2$ , i u činjenici da su krive I i II otkosa gotovo paralelne (Grafikon 5-85) za razliku od krivih NE<sub>L</sub> u istim otkosima (Grafikon 5-83). Kao i u slučaju NE<sub>L</sub> može se reći da su uzorci iz III otkosa imali najveću količinu TDN. Imajući u vidu prikazane intervale varijacije TDN (Tabela 5-14), maksimalni udeo prosečne greške je iznosio 4,4; 1,8 i 1,5 % u I, II i III otkosu redom (izračunato na osnovu intervala varijacije TDN). Pošto su jednačine za sve otkose i I otkos imale slične RMSE i istu apsolutnu varijaciju, udeo greške u prikazanim intervalima variranja je bio gotovo isti kod jednačina za sve otkose i jednačina za I otkos. Međutim, ovom problemu će se više vremena posvetiti pri obradi dobijenih jednačina za procenu  $NE_1$ . Sa druge strane, postoji bitna razlika u trendu promene količine TDN između otkosa zbog čega se izvođenje jednačina za konkretne otkose može opravdati. Razlike u trendu su naročito bile naglašene od sredine (MSW oko 3,6) do kraja vegetacije. Niski udeli RMSE u količini TDN pri različitoj starosti lucerke, kao i visok R<sup>2</sup> opravdavaju predviđanje ovog parametra u biljci lucerke. Analiza varijanse je pokazala razlike samo između II i III otkosa, međutim, regresiona analiza je pokazala jasno izdvajanje III otkosa po ovom parametru. Kod uzoraka sa MSW većim od 2,0, III otkos je imao bar za 25 g/kg SM više TDN u odnosu na I otkosa pri istoj zrelosti lucerke. U odnosu na II otkos, ovo izdvajanje III otkosa je nastupilo kod uzoraka sa MSW većim od 3,0. Kao i kod nekih hemijskih parametara, između jednačina za MSW i MSFW za sve otkose (jednačine [5-242] i [5-243]), se pojavila razlika u obliku jednačine. U slučaju jednačine [5-243] osnovni logaritamski oblik nije bio statistički značajan. Nisu pronađeni literaturni navodi o povezanosti TDN sa srednjom morfološkom fazom lucerke.

Jednačine za procenu DE, ME i NE<sub>L</sub> su prikazane u tabelama 5-33, 5-34, 5-35. Zbog direktne povezanosti obračuna ovih energetskih frakcija dobijeni su gotovo isti R<sup>2</sup> kod svih jednačina izračunatih za isti otkos i za istu nezavisnu varijablu (MSC, MSW, MSFW). Pošto RMSE predstavlja apsolutan pokazatelj greške, on je proporcionalno veći kod DE i ME u odnosu na NE<sub>L</sub>. Jednačine za DE i ME su prikazane zbog poređenja sa literaturom, dalja diskusija će se odnositi na NE<sub>L</sub>, zbog čega su jednačine za DE i ME (Tabele 5-34 i 5-35) prikazane nakon jednačina za NE<sub>L</sub> (Tabela 5-33).

Sa odmicanjem vegetacije (povećanjem srednje morfološke faze) količina  $NE_L$  u II i III otkosu se smanjivala po kvadratnoj funkciji. Kao što je već istaknuto, I otkos se odlikovao odsustvom trenda nakon sredine vegetacije. U slučaju  $NE_L$  u I otkosu kod

uzoraka sa MSW većim od 2,8 se može primetiti stagnacija sa blažim trendom porasta količine NE<sub>L</sub> (Grafikon 5-83). Pomenuti trend porasta NE<sub>L</sub> sa porastom MSW se može objasniti promenom količine NE<sub>L</sub> po kg OM (Grafikon 5-84), što je verovatno posledica promene u strukturi svarljive OM. Zbog ove pojave, jednačine za I otkos imaju logaritamski oblik. Kao i kod TDN i frakcija vlakana, pojavila se razlika između MSW i MSFW u obliku funkcije za sve otkose (jednačine [5-254] i [5-255]), u otkosima ove dve srednje morfološke faze su imale isti oblik jednačina.

Br. jedn.	Jednačina	R²	RMSE
[5-253]	$NE_L = 6,356 - 0,854 \times ln(MSC)$	0,6655	0,41
[5-254]	$NE_L = 7,039 - 1,056 \times ln(MSW)$	0,7557	0,35
[5-255]	$NE_L = 7,910 - 0,894 \times MSFW + 0,071 \times MSFW^2$	0,7421	0,36
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-256]	$NE_L = 6,349 \times MSC^{-0,217}$	0,8178	0,35
[5-257]	$NE_{L} = 7,177 \times MSW^{-0,209}$	0,8084	0,36
[5-258]	$NE_L = 7,175 \times MSFW^{-0,213}$	0,8107	0,36
	II otkos n = 35		
[5-259]	$NE_L = 7,725 - 1,017 \times MSC + 0,095 \times MSC^2$	0,9410	0,13
[5-260]	$NE_L = 8,169 - 0,894 \times MSW + 0,063 \times MSW^2$	0,9228	0,15
[5-261]	$NE_L = 8,147 - 0,896 \times MSFW + 0,063 \times MSFW^2$	0,9220	0,15
	III otkos $n = 34$		
[5-262]	$NE_L = 7,464 - 0,893 \times MSC + 0,098 \times MSC^2$	0,9093	0,16
[5-263]	$NE_L = 7,821 - 0,771 \times MSW + 0,065 \times MSW^2$	0,9372	0,14
[5-264]	$NE_L = 7,767 - 0,760 \times MSFW + 0,064 \times MSFW^2$	0,9358	0,14

Tabela 5-33. Jednačine za procenu NE<sub>1</sub> (MJ/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Tabela 5-34. Jednačine za procenu DE (MJ/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

=

Br. jedn.	Jednačina	R <sup>2</sup>	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-265]	$DE = 12,957 - 1,281 \times \ln(MSC)$	0,6650	0,62
[5-266]	$DE = 13,979 - 1,581 \times \ln(MSW)$	0,7533	0,53
[5-267]	$DE = 15,272 - 1,331 \times MSFW + 0,105 \times MSFW^2$	0,7381	0,55
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-268]	$DE = 12,961 \times MSC^{-0,157}$	0,8160	0,52
[5-269]	$DE = 14,152 \times MSW^{-0,150}$	0,8021	0,54
[5-270]	$DE = 14,150 \times MSFW^{-0,153}$	0,8047	0,54
	II otkos n = 35		
[5-271]	$DE = 15,020 - 1,530 \times MSC + 0,143 \times MSC^{2}$	0,9398	0,20
[5-272]	$DE = 15,682 - 1,341 \times MSW + 0,094 \times MSW^2$	0,9208	0,23
[5-273]	$DE = 15,649 - 1,344 \times MSFW + 0,095 \times MSFW^2$	0,9200	0,23
	III otkos $n = 34$		
[5-274]	$DE = 14,618 - 1,331 \times MSC + 0,145 \times MSC^{2}$	0,9076	0,25
[5-275]	$DE = 15,151 - 1,150 \times MSW + 0,097 \times MSW^{2}$	0,9351	0,21
[5-276]	$DE = 15,071 - 1,133 \times MSFW + 0,096 \times MSFW^2$	0,9339	0,21

Br. jedn.	Jednačina	R²	RMSE
	Svi otkosi $n = 141$		
[5-277]	$ME = 10,151 - 1,199 \times \ln(MSC)$	0,6651	0,58
[5-278]	$ME = 11,108 - 1,481 \times ln(MSW)$	0,7543	0,49
[5-279]	$ME = 12,324 - 1,249 \times MSFW + 0,100 \times MSFW^2$	0,7398	0,51
	$I \ otkos \ n = 72$		
[5-280]	$ME = 10,147 \times MSC^{-0,189}$	0,8174	0,49
[5-281]	$ME = 11,287 \times MSW^{-0,182}$	0,8055	0,51
[5-282]	$ME = 11,284 \times MSFW^{-0,185}$	0,8080	0,50
	II otkos $n = 35$		
[5-283]	$ME = 12,078 - 1,431 \times MSC + 0,134 \times MSC^{2}$	0,9403	0,19
[5-284]	$ME = 12,700 - 1,255 \times MSW + 0,088 \times MSW^{2}$	0,9217	0,21
[5-285]	$ME = 12,669 - 1,258 \times MSFW + 0,089 \times MSFW^2$	0,9209	0,22
	III otkos $n = 34$		
[5-286]	$ME = 11,705 - 1,249 \times MSC + 0,137 \times MSC^{2}$	0,9084	0,23
[5-287]	$ME = 12,205 - 1,079 \times MSW + 0,091 \times MSW^{2}$	0,9360	0,19
[5-288]	$ME = 12,130 - 1,063 \times MSFW + 0,090 \times MSFW^{2}$	0,9347	0,20

Tabela 5-35. Jednačine za procenu ME (MJ/kg SM) na osnovu MSC, MSW i MSFW

Istraživanja Komprda et al. (1993) i Komprda et al. (1997b) predstavljaju jedine poznate radove u kojima je ispitivana mogućnost predviđanja NE pomoću MSW. Prikazana jednačina [3-50], iz rada Komprda *et al.* (1993), je imala veoma visok  $\mathbb{R}^2$ , značajno viši od jednačine [5-257]. U slučaju drugog otkosa, jednačina [5-260] je imala veću tačnost od jednačine [3-58] (Komprda et al. 1997b). Primetna je sličnost između  $R^2$  jednačina između istraživanja Komprda *et al.* (1993; 1997b) i Kalu and Fick (1981) (Tabele 3-3, 3-4, 3-8). Naime, navedena istraživanja su izvedena sa ograničenim obimom uzoraka. U istraživanju Kalu and Fick (1981) je naglašeno da su analize rađene samo na odabranim uzorcima, slično se može zaključiti i o istraživanju Komprda et al. (1993) na osnovu prikazanog grafikona 3-8. Prema Komprda et al. (1993) u svim terminima uzorkovanja, koji su navedeni, sakupljan je samo jedan uzorak, zbog čega je dobijen set podataka u kom nije bilo preklapanja uzoraka prema MSW vrednosti. Zbog toga, Komprda et al. (1993) su naglasili da je cilj rada bio samo da se ispita mogućnost procene NE pomoću MSW. U istraživanju Komprda et al. (1997b) su prikazani linearni oblici regresija između MSW i NEL. Regresije su izvedene za prolećni (I otkos) i letnji (II otkos) na osnovu uzoraka sakupljenih tokom dve godine, zbog čega se može reći da je i ovo istraživanje izvedeno na ograničenom obimu uzoraka. U obavljenom istraživanju je utvrđeno da su regresije za NE<sub>L</sub> iz II i III otkosa bile tačnije od regresija za I otkos (Tabela 5-33), što predstavlja razliku u odnosu na istraživanje Komprda et al. (1997b).



Grafikon 5-86. Odstupanje sakupljenih uzoraka od izvedenih jednačina za procenu NE<sub>L</sub>, izračunatih na osnovu MSW, broj jednačine prikazan u zagradi

Na osnovu utvrđenih opsega varijacija NE<sub>L</sub> (Tabela 5-14), udeo RMSE u utvrđenoj NE vrednosti uzoraka je maksimalno iznosio oko 7,9; 3,1 i 2,6 % u I, II i III otkosu redom. Ako se na ovaj način posmatra, udeo greške u varijaciji uzoraka iz svih otkosa je gotovo isti kao i u slučaju I otkosa. Na grafikonu 5-86 je dat prikaz greške (izražen u MJ NE<sub>L</sub>/kg SM) četiri jednačine izvedene za procenu pomoću MSW. Idealna jednačina bi imala udeo greške oko 0. Prikazana greška jednačine [5-257] za I otkos je bila slična grešci jednačine [5-254] za uzorke iz I otkosa, mada se može reći da je jednačina [5-257] imala nešto uži interval greške. Sličnost grešaka ove dve jednačine je posledica sličnog trenda ovih jednačina, što se može videti na grafikonu 5-83. Greška jednačine za sve otkose [5-254] je naročito naglašena kod uzoraka iz II i III otkosa, jednačine razvijene za ova dva otkosa ([5-260] i [5-263]) su imale uže intervale greške.



U odnosu na jednačinu [5-263] većina uzoraka iz III otkosa je imala grešku u intervalu od -0,2 do 0,2 MJ/kg SM, dok je većina ovih uzoraka, u odnosu na jednačinu [5-254], imala grešku u intervalu od 0,2 do 0,6 MJ/kg SM. Relativno izraženo, greška u III otkosu je kod većine uzoraka bila u intervalu  $\pm 3\%$  (Grafikon 5-87). Procentualni udeo greške u sakupljenim uzorcima je bio sličan u II i III otkosu. Sa druge strane, udeo greške u I otkosu je bio i do 15% (Grafikon 5-87).

Nije utvrđena pravilnost odstupanja izvedenih jednačina, tako da se ne može reći da su mlađi ili stariji uzorci imali manje odstupanje. Postavlja se pitanje da li je izvođenje jednačina od početka do kraja vegetacije opravdano ukoliko se jednačine izvode za praktične namene. Nelson and Satter (1990) su za početak pupoljenja, početak cvetanja i kasno cvetanje odredili momente kada je lucerka redom imala MSW vrednosti od 2,5; 4,0 i 6,0. Prema tome košenje u praksi se najčešće vrši u intervalu MSW od 2,0 do 5,0 , međutim analiza greški dobijenih jednačina za procenu NE<sub>L</sub> nije pokazala da bi izvođenje jednačina samo za ovaj interval povećalo njihovu tačnost. Naime, na osnovu varijacija između uzoraka u srednjem delu vegetacije (Grafikon 5-83) može se zaključiti da regresije ograničene na ovaj interval ne bi drastičnije uticale na smanjenje greške regresija.

#### 5.4.4 Odnos srednjih morfoloških faza sa proteinskim frakcijama

Slično SP, potencijalno razgradiva frakcija proteina je pokazala dobru povezanost sa MSW (Grafikon 5-88). Ovo je bilo očekivano pošto je ova frakcija najčešće čininila preko 85 % SP (Grafikoni 5-48, 5-49 i 5-50). Na grafikonu 5-88 su prikazani  $R^2$  kvadratnih oblika jednačina za predviđanje SP<sub>R</sub>. Jednačine za procenu ovog parametra nisu prikazane, pošto u literaturi nije uobičajeno da se frakcije A, B<sub>1</sub> i B<sub>2</sub> prikazuju zajedno. Na osnovu pozicije prikazane krive za SP<sub>R</sub> (Grafikon 5-88) može se reći da je III otkos imao najviše a I otkos najmanje ove frakcije, dok se kao i za većinu hemijskih parametara II otkos nalazio između III i I otkosa.



Slično NDICP i ADICP, B<sub>3</sub> frakcija je pokazala odsustvo trenda (Grafikon 5-89) tako da se može reći da je ova frakcija nezavisna od starosti lucerke zbog čega jednačine za njenu procenu nisu prikazane. Ne računajući tri uzorka iz sredine vegetacije I otkosa, samo kod nekoliko uzoraka mlađih od MSW 2,0 iz I i III otkosa je primećeno više od 30 g/kg SM proteinske frakcije B<sub>3</sub>. Veći udeo ove frakcije početkom vegetacije je očekivan pošto su uzorci manji od MSW 2,0 imali povećanu količinu SP (više od 270 g/kg SM SP).



Kada se posmatra udeo ovih frakcija u SP u zavisnosti od starosti lucerke može se primetiti obrnuti trend frakcije SP<sub>R</sub> i C (Grafikon 5-90). Sa druge strane, frakcija B<sub>3</sub> je imala skoro u potpunosti konstantan udeo u SP, koji je iznosio oko 10 % i to u celom opsegu MSW (Grafikon 5-90). Ovo znači da se SP<sub>R</sub> frakcija smanjuje na račun povećanja C frakcije. Od praktičnog značaja je zaključak da se B<sub>3</sub> frakcija može povećati samo povećanjem ukupne količine SP. Pošto je istaknuto da je udeo B<sub>3</sub> u SP bio konstantan, oko 10 % SP u lucerki tokom cele vegetacije, to znači da se jedino ranijim košenjem može dobiti veća količina ove proteinske frakcije. Kao što je prikazano, lucerka u ranoj vegetaciji ima najveći sadržaj SP, zbog toga bi se u slučaju ranog košenja dobila, apsolutno gledano, veća količina B<sub>3</sub> frakcije proteina.

Utvrđene su veoma slabe veze između ADICP i svih ostalih hemijskih frakcija u ćelijskom zidu (Tabela 5-15). Kada je u odnos stavljena C frakcija (ADICP), izražena kao procenat u SP, sa svim frakcijama iz ćelijskog zida su dobijeni znatno viši R. Između udela C frakcije u SP i aNDF, ADF i SP su dobijeni koeficijenti korelacije od 0,8506; 0,8656; -0,8268 redom. Prethodno je istaknuto da direktno ADICP i ADL nisu bili povezani, međutim ako se ADICP posmatra kao udeo u SP, pronađena je direktna zavisnost sa celulozom i ligninom (ADL). Korelacije između procenta C frakcije u SP i frakcija u okviru ćelijskog zida su bile 0,8296; 0,6959; 0,8589 sa celulozom, hemicelulozom i ADL. Međutim, ne može se tvrditi da je za uvećanje udela frakcije C u SP zaslužna lignifikacija biljnog materijala pošto su slične korelacije pronađene i sa celulozom kao i sa aNDF i ADF.

Griffin *et al.* (1994) su zaključili da visok procenat varijabilnosti NDIN i ADIN može biti objašnjen pomoću MSW, kada su ove frakcije bile izražene kao udeo u SP (Tabela 3-9). U slučaju NDIN je bila prisutna varijabilnost u R<sup>2</sup> između godina i otkosa (Griffin *et al.* 1994). U obavljenom istraživanju dobijeni su niski R<sup>2</sup> između MSW i frakcija B<sub>3</sub> i C kada su one izražene kao procenat proteina (Grafikon 5-90). Na grafikonu 5-90 prikazani R<sup>2</sup> se odnose na kvadratne oblike jednačina. Kod kvadratnih oblika jednačina za MSW i NDICP izražen kao procenat SP su utvrđeni R<sup>2</sup> 0,5445; 0,5852; 0,0796 redom, za I, II i III otkos (podaci nisu prikazani). Smanjenje povezanosti NDIN sa MSW u III otkosu je takođe prikazano u istraživanju Griffin *et al.* (1994).



Grafikon 5-90. Procentualni udeo frakcija SP<sub>R</sub>, B<sub>3</sub> i C u SP u zavisnosti od starosti lucerke (izraženo MSW)

### 5.4.5 POREĐENJE SREDNJIH MORFOLOŠKIH FAZA PREMA MOGUĆNOSTIMA ZA PROCENU ISPITIVANIH PARAMETARA HEMIJSKOG SASTAVA I HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE

Na osnovu izvedenih jednačina, za sve parametre koji su procenjivani, utvrđene su razlike u tačnosti jednačina razvijenih za ispitivane otkose. Po pravilu, jednačine izvedene za sve otkose su imale najniže  $R^2$  i najviše RMSE. U većini slučajeva tačnost jednačina se povećavala po otkosima, tako da su jednačine iz III otkosa imale najveće  $R^2$  i najniže RMSE u odnosu na jednačine iz I i II otkosa.

Tabela 5-36. Prikaz najboljih parametara za predviđanje (MSC, MSW, MSFW) hemijskog sastava i hranljive vrednosti, za uzorke iz svih otkosa kao i uzorke iz I, II i III otkosa pojedinačno. Najbolji parametar za predviđanje je označen sa "+". Jednačine za MSW i MSFW su obrađene zajedno

D (	Svi otkosi MSC MSW/MSFW		I otkos MSC MSW/MSFW		II otkos MSC MSW/MSFW		III otkos MSC MSW/MSFW	
Parametar								
SP		+		+	+			+
SPe		+		+	+			$+^{1}$
SMa		+		+		+		+
aNDF		$+^1$		+	+			+
ADF		$+^1$		+	+			+
ADL		+		+	+			+
Celuloza		+		+	+		+	+
Hemiceluloza	L	+		+	+		+	+
NDICP <sup>2</sup>	+		+	+			+	+
ADICP <sup>2</sup>	+	+	+					+
NFC <sup>3</sup>	+		+		+		+	+
GP		$+^{1}$		+		+		+
IVSOM		+		+	+	+	+	+
Svarljiva OM		+		+		+		+
TDN		$+^{1}$	+		+			+
NEL		$+^{1}$	+	+	+			+
DE		$+^{1}$	+		+			+
ME		$+^{1}$	+		+			+

<sup>1</sup>Među jednačinama za MSW i MSFW je utvrđena manja razlika u obliku jednačine ili u tačnosti

<sup>2</sup>Jednačine za II otkos nisu bile značajne

<sup>3</sup>Utvrđeni veoma niski R<sup>2</sup> u III otkosu

U tabeli 5-36 je dat prikaz poređenja tačnosti jednačina za predviđanje u zavisnosti da li je kao nezavisni parametar korišćen MSC ili MSW i MSFW. Zbog sličnosti jednačina MSW i MSFW su obrađeni zajedno, a razlika među ovim parametrima je naglašena ukoliko je utvrđena. Poređenje je izvršeno u okviru jednačina za isti otkos po ispitivanim parametrima hemijskog sastava i hranljive vrednosti. Tačnost jednačina je upoređivana poređenjem  $R^2$  i RMSE izvedenih jednačina. U

jednačinama za sve otkose, I otkos i III otkos, načelno gledano, MSW i MSFW su bili bolji parametri za predviđanje od MSC, što je u saglasnosti sa navodima Fick *et al.* (1994) i Sulc *et al.* (1997). Međutim, u II otkosu većina ispitivanih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti je bila bolje procenjena pomoću MSC, što predstavlja razliku u odnosu na pomenute literaturne navode. Podaci iz obavljenog istraživanja ukazuju da su MSW i MSFW bolje definisali fazu zrenja lucerke, ove srednje morfološke faze su imale konstantniji porast u odnosu na MSC. Nije sasvim jasno zbog čega su hemijski parametri i hranljiva vrednost u uzorcima iz II otkosa bili bolje procenjeni jednačinama za MSC. Najizraženija razlika se može uočiti na primeru aNDF. Naime, jednačina za MSC [5-121] je imala R<sup>2</sup> 0,9425 i RMSE 13,36 , dok je jednačina za MSW [5-122] imala R<sup>2</sup> 0,8995 i RMSE 17,66. Razlika između dva navedena RMSE znači da je MSC za 4,3 g preciznije procenjivao količinu aNDF od MSW. Imajući u vidu prikazane RMSE za MSC i MSW, 4,3 g predstavljaju drastično poboljšanje. Već je naglašeno da je jednačina [5-121] imala najviši R<sup>2</sup> od svih jednačina za predviđanje hemijskog sastava i hranljive vrednosti.

U većini slučajeva MSW i MSFW su imali identične oblike jednačina sa veoma sličnim  $R^2$  i RMSE. U tabeli 5-36 razlike su naglašene ukoliko su se  $R^2$  razlikovali za više od 0,005 što je često bilo praćeno i razlikom u obliku jednačine. Najčešće su se razlikovale jednačine izvedene za sve otkose, pri čemu je razlika bila prisutna i u  $R^2$  i u obliku jednačine. Najveća razlika u pogledu  $R^2$  je utvrđena u slučaju DE (Tabela 5-34) i između jednačina [5-266] i [5-267] je iznosila 0,0152. Takođe, ove dve jednačine su bile različite po obliku, jednačina [5-266] je bila logaritamskog a jednačina [5-267] kvadratnog oblika. Apsolutno izraženo, razlika između  $R^2$  nije bila velika, ali nije jasno zbog čega se ona javila. U tabelama 5-12 i 5-13 kao i na grafikonu 5-22 je naglašeno da je veza između MSW i MSFW bila veoma jaka uz  $R^2$  koji su iznosili skoro 1. Na osnovu ovih rezultata je zaključeno da se za MSW i MSFW može reći da se radi o istoj oceni srednje morfološke faze. Ukoliko bi ova tvrdnja bila tačna, MSFW bi se mogao primeniti u jednačinama izvedenim za MSW bez primene prikazanih jednačina za konverziju (Tabele 5-12 i 5-13). Razlika dobijenih serija procenjenih vrednosti, određenih u slučaju primene MSW kao i u slučaju primene MSFW, ne bi trebala da bude statistički značajna. Takođe, "validacioni" RMSE, dobijen upotrebom MSFW u jednačinama za MSW bi trebao da bude isti ili veoma sličan kalibracionom.

#### 5.4.5 Poređenje srednjih morfoloških prema mogućnostima za procenu ispitivanih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti lucerke

Provera upotrebe MSFW umesto MSW je urađena jednačinom [5-266] (Tabela 5-34). Ova jednačina je odabrana pošto je najveća devijacija nađena između  $R^2$  jednačina [5-266] i [5-267]. Pomoću ove jednačine je procenjena DE, upotrebom utvrđenog MSW (DE<sub>MSW</sub>), a zatim i upotrebom MSFW (DE<sub>MSFW</sub>). Vrednosti DE<sub>MSW</sub> i DE<sub>MSFW</sub> su izračunate na osnovu eksperimentalno utvrđenih MSW i MSFW vrednosti u svim uzorcima (n = 141). Analizom varijanse nije utvrđena statistički značajna razlika između procenjene DE<sub>MSW</sub> i DE<sub>MSFW</sub> (p = 0,7506). RMSE je izračunat za DE<sub>MSW</sub> kao i DE<sub>MSFW</sub> primenom jednačine [4-28]. U slučaju DE<sub>MSW</sub> on predstavlja kalibracioni RMSE jednačine [5-266] i iznosio je 0,5293. RMSE izračunat za DE<sub>MSFW</sub> je iznosio 0,5534. Dakle, direktnom upotrebom MSFW u jednačini kalibrisanoj na osnovu MSW, greška procene se povećala za 0,0241 MJ DE/kg SM, što apsolutno gledano predstavlja zanemarljivo povećanje greške. Pošto je u ovu svrhu upotrebljena jednačina koja je imala najveću razliku u odnosu na odgovarajuću jednačinu za MSFW, ova razlika verovatno predstavlja i najveću razliku koja se može očekivati među svim jednačinama za procenu svih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti.



Grafikon 5-91. Poređenje procenjene DE jednačinom [5-266], upotrebom MSW i MSFW (n = 141)



Grafikon 5-92. Poređenje procenjene DE jednačinom [5-266], upotrebom MSW i MSFW. Iz analize izbačen 1. uzorak iz III otkosa (n = 140)

Detaljniji prikaz ove devijacije  $DE_{MSFW}$  od  $DE_{MSW}$  je dat na grafikonu 5-91. Isprekidana linija obeležava idealan slučaj u kom bi  $DE_{MSW}$  i  $DE_{MSFW}$  bili jednaki. Puna linija obeležava linearnu vezu  $DE_{MSW}$  i  $DE_{MSFW}$  za koju je utvrđen  $R^2$  od 0,994. Najveću devijaciju je imao 1. uzorak iz III otkosa kod kog je  $DE_{MSW}$  iznosila 16,49, a  $DE_{MSFW}$  17,41. Na grafikonu 5-92 je prikazana ista provera uz razliku što je 1. uzorak iz III otkosa izbačen. Ovaj set podataka je umesto 141 uzorka, što je slučaj sa grafikonom 5-91, imao 140 uzoraka, dobijeni  $R^2$  je iznosio 0,9992 (Grafikon 5-92). Struktura ovog uzorka, masa utvrđenih faza, MSW i MSFW, su prikazani u tabeli 5-7. Ova tabela je imala za cilj da uporedi distribuciju suve i sveže mase faza i njihov uticaj na MSW odnosno MSFW. MSW ovog uzorka je iznosio 0,11, dok je njegova MSFW vrednost bila 0,20. Kao što je već napomenuto, razlika između utvrđenog MSW i MSFW je kod ovog uzorka bila apsolutno gledano mala, međutim relativno izraženo razlika je činila skoro 50 % MSW vrednosti. Naime, "problem" ovog uzorka čini upravo efekat koji su opisali i Fick and Mueler (1989), a koji je ranije pomenut pri opisu 1. morfološke faze. Tokom leta, 1. fazu često smenjuje 3. faza pošto niske biljke dobijaju pupoljke. Pomenuti uzorak je imao samo jednu stabljiku u 3. fazi, dok su 282 stabljike bile u 0. fazi i 10 stabljika u 1. fazi. Stabljika koja je bila u 3. fazi je imala visinu stabla od 18 cm, što znači da bi ovakva stabljika bez pupoljaka bila svrstana u 1. fazu. Ako se posmatra udeo SM (dobijen sušenjem na 60 °C) ceo uzorak je imao 170,4 g/kg SM, što je bilo veoma slično 0. fazi i 1. fazi, koje su imale 169,9 i 171,4 g/kg SM respektivno. Sa druge strane, 3. faza je imala 201,3 g/kg SM. Ova razlika u udelu SM između 0. i 1. faze sa jedne strane i 3. faze je verovatno predstavljala osnovni razlog pojave odstupanja MSFW od MSW u ovom uzorku. Međutim, uzorci u ovoj fazi zrenja lucerke se po pravilu ne koriste za ishranu stoke, tako da se ovaj problem primene MSFW može u potpunosti zanemariti.

Primena jednačina za konverziju MSFW u MSW (Tabela 5-13) nije uspela da smanji devijaciju izazvanu ovim uzorkom. Konverzija MSFW u MSW je obavljena jednačinom [5-70], dobijena MSW vrednost je potom ubačena u jednačinu [5-266]. Na ovaj način je dobijena DE korišćenjem konvertovane MSFW vrednosti. Međutim,  $R^2$  ovako izračunate DE i DE<sub>MSW</sub> je bio isti kao i između DE<sub>MSFW</sub> i DE<sub>MSW</sub>. Nakon konvertovanja, jednačinom [5-70] izvedenom za sve otkose i jednačinom [5-73] izvedenom za konverziju uzoraka III otkosa, za pomenuti uzorak je dobijena MSW vrednost od 0,12 i 0,28. Prikazani rezultati ukazuju ne samo na probleme primene MSFW metode kod ovakvih uzoraka, već na generalni problem određivanja srednje morfološke faze ovih uzoraka. Nameće se pitanje, da li uzorci kod kojih se pupoljci pojavljuju na stabljikama koje imaju visinu manju od 30 cm treba da se koriste za kalibraciju jednačina? Evidentno je da srednja morfološka faza ovakvih uzoraka nedovoljno dobro odslikava njihovu hranljivu vrednost. Sa druge strane, ovakvi uzorci gotovo da nemaju značaja u stočarskoj proizvodnji.

Sumarno, iako su prikazani problemi primene MSC kao metode za određivanje srednje morfološke faze, jednačine za procenu hemijskog sastava i hranljive vrednosti zasnovane na MSC su imale sličnu tačnost kao i jednačine za MSW i MSFW. Brojni literaturni navodi (Allen and Fick, 1990; Fick *et al.* 1994; Sulc *et al.* 1997) ukazuju da MSC nije primenljiv kao parametar za predviđanje. Prema ovim autorima, jednačine bazirane na MSC su po pravilu statistički pristrasne. Pristrasnost dobijenih jednačina nije mogla biti utvrđena ovim istraživanjem. Zbog velike sličnosti, MSFW se može bez

konverzije primenjivati u jednačinama izvedenim za MSW. Ovakva primena nije dovela do statistički značajnog povećanja greške, jednačina za procenu hemijskog sastava i hranljive vrednosti. Veća devijacija MSFW vrednosti od MSW se može očekivati samo kod početnih uzoraka III otkosa, kod kojih dolazi do pojave pupoljaka na stabljikama koje imaju visinu manju od 30 cm.

### 5.4.6 POREĐENJE HRANLJIVE VREDNOSTI LUCERKE U ISTOJ MORFOLOŠKOJ FAZI IZMEĐU RAZLIČITIH OTKOSA

Analizom varijanse su utvrđene razlike između otkosa u odnosu na većinu ispitivanih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti (Tabela 5-14). Međutim, pokazano je da analiza varijanse ne može biti adekvatna metoda za poređenje hranljive vrednosti otkosa u ovakvim istraživanjima. Utvrđivanje razlika među otkosima je moguće poređenjem uzoraka u istoj morfološkoj fazi iz različitih otkosa. Kao što je već pomenuto, MSW se smatra najboljim pokazateljem srednje morfološke faze lucerke. Prikazom najtačnijih regresija zasnovanih na MSW vrednosti, sa statistički značajnim svim regresionim parametrima, dobijene su "prosečne" količine svih ispitivanih parametara hranljive vrednosti za ceo interval vegetacije svih otkosa.

Prema ovom kriterijumu, hranljiva vrednost, ispitivana tri otkosa, se značajno razlikovala. Na osnovu regresione analize prvi otkos je imao najmanje SP, SMa, IVSOM i NE<sub>L</sub>, dok je uz II otkos ovaj otkos imao najveću količinu aNDF, ADF, ADL i hemiceluloze. Zbog toga se može reći, da je prvi otkos imao najmanju hranljivu vrednost. Sa druge strane, III otkos se izdvajao po najvećoj količini SP, SPe pri svim nivoima MSW, kao i NFC i NE<sub>L</sub> u većem delu ispitivanog intervala MSW. Imajući u vidu da je III otkos imao najmanju količinu aNDF, ADF, ADL i celuloze može se tvrditi da je ovaj otkos imao najveću hranljivu vrednost. Zanimljivo je da ovaj otkos nije imao najveću IVSOM, prema ovom parametru III otkos je bio sličan sa II otkosom.

Pošto je u obavljenom istraživanju I otkos predstavljao prolećni, a III otkos letnji ciklus vegetacije, prikazani rezultati nisu u saglasnosti sa mišljenjem koje dominira u literaturi. Naime, Van Soest (1994) je detaljno objasnio mehanizme uticaja visokih letnjih temperatura na ćelijski zid kao i hranljivu vrednost. Prema ovom autoru najnižu hranljivu vrednost ima po pravilu letnji, a najvišu prolećni otkos. Slični zaključci su

dobijeni i u istraživanju Griffin *et al.* (1994) i Komprda *et al.* (1997b). Kao i u obavljenom istraživanju, Griffin *et al.* (1994) i Komprda *et al.* (1997b) su poređenje otkosa izvršili analizom varijanse i regresionom analizom. Jednačine [3-57] i [3-58], za predviđanje NEL pomoću MSW iz istraživanja Komprda *et al.* (1997b), takođe prikazuju da su ovi autori utvrdili manju neto energetsku vrednost letnjeg otkosa u poređenju sa prolećnim.

Kao što je već istaknuto, I otkos se odlikovao dugim kišovitim periodom sa niskim dnevnim temperaturama. Sa druge strane, vremenske prilike u III otkosu su bile uobičajeno za taj period godine. Neophodna su dalja istraživanja da bi se utvrdilo da li su dobijeni rezultati iz obavljenog istraživanja odlika agroekoloških uslova tokom ispitivane 2010. godine ili lokaliteta na kom su sakupljeni uzorci.

# 6 ZAKLJUČAK

Ovo istraživanje je sprovedeno sa ciljem ispitivanja srednjih morfoloških faza lucerke, njihovih promena tokom prva tri ciklusa vegetacije kao i njihovog uticaj na najvažnije parametre hemijskog sastava i hranljive vrednosti. Uticaj srednjih morfoloških faza na parametre hemijskog sastava i hranljive vrednosti je ispitan preko regresione analize, odnosno procenta objašnjene varijabilnosti (R<sup>2</sup>) ovih parametara. Sve regresione jednačine su razvijane sa ciljem ispitivanja mogućnosti procene najvažnijih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti u lucerki na polju, pomoću srednjih morfoloških faza. Drugi cilj regresione analize je bio razvoj jednačina za međusobnu konverziju ispitivanih srednjih morfoloških faza.

Na osnovu prikazanih rezultata može se reći da se MSW vrednost u odnosu na MSC vrednost ravnomernije povećavala tokom sva tri ispitana vegetaciona ciklusa. U I otkosu je ustanovljeno je smanjenje MSC vrednosti između 11. i 31. maja, nakon čega je ustanovljen ponovni porast. Ovo smanjenje MSC vrednosti se poklapa sa povećanjem broja stabljika u 0. i 1. morfološkoj fazi, koji se u periodu od 11. do 31. maja povećao sa 20 na 120 stabljika. Procenat stabljika u ove dve morfološke faze se u tom periodu povećao sa oko 20 na oko 70 %. Sa druge strane, udeo mase ovih faza u ukupnoj masi je ostao konstantan u ovom periodu, zbog čega nije ustanovljeno smanjenje MSW vrednosti.

Uočene su razlike u odnosu MSC u MSW između otkosa, tako da je konverzija ove dve srednje morfološke faze bila najtačnija u III a najslabija u I otkosu. Predložena jednačina konverzije MSC u MSW, za sve otkose [5-25], je imala R<sup>2</sup> 0,7456 i RMSE 0,8969. Analizom devijacije MSC vrednosti od MSW je utvrđeno da se ograničavanjem ove konverzije na prvih 8 nedelja može značajno podići tačnost konverzije. Predložena je jednačina [5-47] za ovu konverziju (MSW = 0,4493+ 1,258 × MSC; n = 105; R<sup>2</sup> 0,9568; RMSE 0,3486). Za obratnu konverziju, MSW u MSC, predložena je jednačina [5-51] (MSC = - 0,2403 + 0,7606 × MSW; n = 105; R<sup>2</sup> 0,9568; RMSE 0,2711).

Predložen je novi metod za određivanje srednje morfološke faze, nazvan MSFW (eng. *Mean Stage by Fresh Weight*). Ovaj metod predstavlja modifikovani način

utvrđivanja MSW vrednosti. MSW se određuje na osnovu suve mase dok se MSFW određuje na osnovu sveže mase morfoloških faza u uzorku. Iako su ustanovljene razlike u SM morfoloških faza, kako tokom vegetacije tako i između različitih otkosa, utvrđena je velika sličnost između MSW i MSFW. Prosečno, apsolutna razlika među ovim parametrima je iznosila 0,074. Nije utvrđena statistički značajna razlika između ove dve srednje morfološke faze (p = 0,7269). Veoma visoka podudarnost ove dve faze je objašnjena sličnom distribucijom sveže i suve mase morfoloških faza u uzorcima. Kao pokazatelj distribucije određeni su CV kao i relativno izražena SD (SD/ukupna masa uzorka  $\times$  100) za suvu i vlažnu masu. Oba parametra distribucije mase faza su bila veoma slična kod svih uzoraka, bez obzira da li se radi o svežoj ili suvoj masi. Dobijeni su R<sup>2</sup> od 0,9874 za CV i 0,9957 za relativno izraženu SD, kada su ova dva parametra utvrđena za suvu i vlažnu masu kod svih uzoraka. Ovo sve je rezultiralo gotovo direktnom vezom između ove dve srednje morfološke faze i to u svim uzorcima. Predložena je jednačina [5-65] za konverziju MSW u MSFW (MSFW =  $0.9808 \times$ MSW:  $R^2$  0.9986; RMSE 0.0661), a za obratnu konverziju jednačina [5-70] (MSW =  $1,0193 \times MSFW; R^2 0.9986; RMSE 0.0674).$ 

Analizom varijanse su utvrđene razlike u hemijskom sastavu lucerke između otkosa. Prema većini ispitivanih hemijskih parametara se izdvojio III otkos. III otkos je imao statistički značajno (p<0,01) veću količinu SP, SPe, NFC i statistički značajno (p<0,01) manju količinu aNDF, ADF, ADL, ADICP i celuloze od ostala dva ispitivana otkosa. U odnosu na IVSOM nisu utvrđene razlike. III otkos je imao veću količinu (p<0,05) TDN, DE, ME i NE<sub>L</sub> od II otkosa, dok je od I otkosa imao više DE i ME.

Količina SP, SPe, SMa i NFC se tokom svih otkosa smanjivala, dok se količina aNDF, ADF, ADL, celuloze i hemiceluloze u lucerki povećavala sa odmicanjem vegetacije. Ispitivane proteinske frakcije ćelijskog zida, NDICP i ADICP, su imale slabo izražene trendove tokom sva tri ispitivana otkosa. U okviru ćelijskog zida, izraženo R<sup>2</sup>, najjača međuzavisnost je utvrđena između aNDF, ADF i celuloze, i iznosila je oko 94%. ADL i hemiceluloza su bili u nešto slabijoj među zavisnosti sa ostalim parametrima ćelijskog zida. NDICP i ADICP nisu bili u međuzavisnosti sa ostalim parametrima ćelijskog zida, zbog čega je zaključeno da povećanje aNDF, ADF ili ADL ne dovodi do povećanja ovih proteinskih frakcija. U okviru SP udeo  $SP_R$ ,  $B_3$  i C frakcije proteina je bio promenljiv tokom I i II otkosa, odnosno relativno konstantan u III otkosu.  $B_3$  frakcija je bila relativno konstantna tokom sva tri vegetaciona ciklusa, dok se udeo C frakcije u SP povećavao sa zrenjem lucerke.

Iako je istaknuto da su ustanovljeni trendovi smanjenja odnosno povećanja najvažnijih hemijskih parametara, u drugoj polovini I otkosa je utvrđena stagnacija SP, SMa, aNDF, ADF i ADL. Naime, SP je dostigao minimalnu količinu od oko 180 g/kg SM na početku pupoljenja (45. dan vegetacije). Količina aNDF i ADF se povećavala do početka cvetanja (55. dan vegetacije) kada su dostigli nivo od oko 450, odnosno 350 g/kg SM. Navedena količina aNDF i ADF u lucerki je ostala konstantna do 85. dana vegetacije, odnosno do faze zrenja mahuna. ADL je dostigao količinu od oko 70 g/kg SM u pupoljenju (48. dana vegetacije) i slično aNDF i ADF nije se menjao do 85. dana vegetacije. Na osnovu ovoga je zaključeno da markantne faze razvoja (početak pupoljenja, pupoljenje, početak cvetanja, cvetanje) ne mogu predstavljati pouzdan parametar za određivanje momenta za košenje lucerke. U II i III otkosu nije primećena ova pojava, zbog čega je zaključeno, da je odlaganje momenta košenja u cilju povećanja prinosa moguće samo tokom ova dva otkosa.

IVSOM lucerke se smanjivala sa odmicanjem vegetacije, dok je kod TDN i energetskih frakcija, slično hemijskim parametrima, utvrđena stagnacija u sredini I otkosa. Prema IVSOM nisu utvrđene statistički značajne razlike između otkosa. Iako analizom varijanse nisu utvrđene izraženije razlike između otkosa u odnosu na  $NE_L$ , kada je  $NE_L$  izražena po kg svarljive OM III otkos se jasno izdvojio kao otkos sa najvećom količinom neto energije.

Izvršeno je poređenje dva sistema za određivanje NE, NRC (2001) i Menke and Steingass (1988). Međuzavisnost NE<sub>L</sub> i NE<sub>M&S</sub>, izražena R<sup>2</sup>, se razlikovala po otkosima i iznosila je 0,9612; 0,8977; 0,9684; 0,937 redom za I, II, III i sve otkose. Pored utvrđenih visokih R<sup>2</sup>, kod uzoraka sa početka otkosa razlika između ova dva sistema je iznosila čak i 1 MJ/kg SM. Kod uzoraka iz sredine otkosa, uzorci sa NE između 5,0 i 6,0 MJ/kg SM, ova razlika je bila oko 0,25 MJ/kg SM.

Na osnovu koeficijenata korelacije izračunatih za sve sakupljene uzorke, najveća zavisnost NE<sub>L</sub> je utvrđena od SP, aNDF, ADL, ADF i SMa i iznosila je redom 0,9664; -0,9662; -0,9640; -0,9469 i 0,9154. U slučaju IVSOM najveća korelacija je utvrđena sa aNDF, ADL, SP i GP je iznosila -0,9411; -0,9271; 0,9104 i 0,9058. Utvrđene su i razlike između otkosa u odnosima ovih parametara hranljive vrednosti.

Izvedeno je ukupno 210 regresionih funkcija za procenu svih praćenih parametara hemijskog sastava i hranljive vrednosti. Regresije su izvedene pomoću sve tri ispitivane srednje morfološke faze (MSC, MSW, MSFW) i to za sve otkose, I otkos, II otkos i III otkos. Regresijama su bili obuhvaćeni svi hemijski parametri potrebni za određivanje NE<sub>L</sub>: SP, SPe, SMa, aNDF, ADF, ADL, NDICP, ADICP. Pored navedenih hemijskih parametara regresije su izvedene i za celulozu, hemicelulozu i NFC. Osim hemijskih parametara regresije su izvedene i za procenu GP, IVSOM, svarljivu OM, TDN, NE<sub>L</sub>, DE i ME.

Pokazano je da u cilju poređenja hranljive vrednosti otkosa, poređenje treba izvršiti u odnosu na hranljivu vrednost uzoraka pri konkretnim nivoima srednje morfološke faze. Detaljnije sagledavanje ovih razlika je moguće izvođenjem regresionih funkcija za srednju morfološku fazu i odabrani parametar hranljive vrednosti. Na osnovu svih izvedenih regresionih funkcija je zaključeno da je III otkos imao najveću hranljivu vrednost, a I najmanju, što predstavlja razliku u odnosu na većinu literaturnih navoda.

U jednačinama izvedenim za konkretne otkose, kod većine hemijskih i parametara hranljive vrednosti, procenat objašnjene varijabilnosti pomoću srednje morfološke faze se kretao između 80 i 90 %. Nešto slabija mogućnost za predviđanje je utvrđena kod SPe, SMa, hemiceluloze i GP. Kod NDICP, ADICP i NFC utvrđene jednačine su imale veoma slabe parametre tačnosti ili nijedan ispitivani oblik regresione funkcije nije bio statistički značajan. Zbog toga je zaključeno da predviđanje NDICP, ADICP i NFC pomoću srednjih morfoloških faza nije adekvatno.

Kod svih praćenih parametara hranljive vrednosti, regresije izvedene za sve otkose su imale najslabije parametre tačnosti regresija (najmanji  $R^2$  i najveći RMSE). Na primeru MSW jednačina za procenu NE<sub>L</sub>, analizom odstupanja procenjene vrednosti

od stvarno utvrđene, pokazano je da je interval greške procene bio najveći kod jednačina za sve otkose. Zbog toga je zaključeno da se u cilju predviđanja hemijskog sastava i hranljive vrednosti regresije moraju razvijati za pojedinačne otkose. Kod MSW i MSFW jednačina, tačnost predviđanja se povećavala od jednačina za sve otkose preko jednačina za I i II otkos do jednačina za III otkos. Izuzetak su predstavljale jednačine za MSC, kod kojih su najtačnije bile jednačina za II otkos.

Jednačine za sve otkose, I otkos i III otkos, određene za MSW i MSFW, su po pravilu bile tačnije od jednačina izračunatih za MSC. Samo u II otkosu su jednačine izvedene za MSC bile bolje od jednačina za MSW i MSFW.

Skoro sve MSW i MSFW jednačine su imale vrlo slične regresione parametre,  $R^2$  i RMSE, a oblici ovih jednačina su po pravilu bili isti. Takođe, promene ove dve srednje morfološke faze tokom vegetacije, su bile gotovo identične, a koeficijent determinacije skoro 1. Zbog toga je pretpostavljeno da ove dve srednje morfološke faze predstavljaju istu meru zrenja lucerke, zbog čega bi se MSFW bez konverzije mogao koristiti u jednačina izvedenim za MSW, i obratno. Najveća razlika između ove dve srednje morfološke faze je utvrđena kod jednačina za procenu DE za sve otkose, jednačine [5-266] i [5-267]. Zbog toga su u jednačinu [5-266], koja je izvedena za MSW, ubačene utvrđene MSW i MSFW vrednosti svih sakupljenih uzoraka. Na taj način, su dobijene DE<sub>MSW</sub> i DE<sub>MSFW</sub> između kojih nije utvrđena statistički značajna razlika (p = 0,7506). Primenom MSFW u jednačini za MSW samo je prvi uzorak iz I otkosa značajnije odstupao,  $R^2$  za DE<sub>MSW</sub> i DE<sub>MSFW</sub> je iznosio 0,994. Zanemarivanjem ovog uzorka koeficijent determinacije između utvrđenih DE<sub>MSW</sub> i MSFW one mogu koristiti bez konverzije u jednačinama izvedenim za ove dve srednje morfološke faze.

Sumarno, predložen je novi metod za određivanje srednje morfološke faze (MSFW) koji se zasniva na merenju mase morfoloških faza u svežem stanju. Ovaj sistem praktično predstavlja modifikaciju MSW metode, koja se bazira na merenju suve mase morfoloških faza. Na osnovu svih razvijenih regresionih jednačina se može reći da se pomoću ispitanih srednjih morfoloških faza (MSC, MSW, MSFW) sa

zadovoljavajućom tačnošću mogu proceniti najvažniji parametri hemijskog sastava i hranljive vrednosti (SP, aNDF, ADF, ADL, IVSOM, NE<sub>L</sub>). Dobijeni rezultati ukazuju da se razvojem jednačina za pojedinačne otkose može smanjiti greška procene najvažnijih nutritivnih parametara. Generalno gledano, jednačine razvijene za MSW i MSFW su bile tačnije od jednačina za MSC. U sva tri ispitivana ciklusa vegetacije utvrđen je i ravnomerniji trend porasta MSW i MSFW u odnosu na MSC. Zbog toga se može pretpostaviti da su MSW i MSFW bolji pokazatelji zrelosti lucerke, a samim tim i bolji parametri za predviđanje hemijskog sastava i hranljive vrednosti lucerke na polju od MSC. Na osnovu analize varijanse, regresione analize i ispitivanja sličnosti distribucije mase morfoloških faza u svežem i suvom stanju je utvrđeno da je predloženi novi metod za određivanje srednje morfološke faze (MSFW) skoro identičan MSW metodi. Velika sličnost ove dve srednje faze je potvrđena kada je MSFW vrednost, bez konverzije, ubačena u jednačinu za procenu DE koja je izvedena za MSW. Na ovaj način dobijene razlike u procenjenoj količini DE u uzorcima, nisu bile statistički značajne. MSFW metod ima prednost u odnosu na MSW, zbog jednostavnosti, vremena potrebnog za određivanje i činjenice da materijal na kom je određivan ostaje ne izmenjen. Ove prednosti MSFW mogu rešiti neke od problema koji ograničavaju širu primenu MSW kao i koncepta srednje morfološke faze, kako u naučnim ispitivanjima tako i u praksi.

## 7 LITERATURA

- 1. AOAC, 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- 2. Allen, S.J., Fick. G.W., 1990. On-farm testing of mean stage by count as a predictor of alfalfa forage quality. In: Agronomy abstracts. ASA, Madison, WI, p. 185.
- Allen, M.S., Hesterman, O.B., O'Neil, K.A., 1991. Relationships among alfalfa maturity, fiber fractions, and in vitro fiber digestibility for first and subsequent cuttings. p. B9. Poster Abstr. of Int. Symposium on forage cell wall structure and digestibility. Oct. 7-10. Madison, WI.
- Berg, B.P., 2000. An evaluation of initial rates of digestion in a strain of alfalfa selected to prevent bloat in grazing ruminants. PhD thesis, University of British Columbia, Vancouver, Canada.
- Bernaldez, L.M., Besigalup, D.H., Ferrer, J.M., Balzarini, M., Alomar, D., 2009. Bloat reduction potential of an alfalfa cultivar selected for low initial ruminal disappearance. Crop Sci. 49, 356-361.
- Blümmel, M., Ørskov, E.R., 1993. Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 40, 109-119.
- Buxton, D.R., 1994. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. Anim. Feed Sci. Technol. 59, 37-49.
- Chalupa, W., Sniffen, C.J., 1994. Carbohydrate, protein and amino acid nutrition of dairy cows. In: Garnsworthy, P.C., Cole, D.J.A. (Eds.), Recent advances in animal nutrition, Notthingham University Press, Nothingham, UK, pp. 265-275.
- Chesson, A., Steward, C.S., Wallace, R.J., 1982. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolitic activity of rumen bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 44, 597-603.
- 10. Fick, G.W., Holthausen, R.S., 1975. Significance of parts other than blades and stems in leaf-stem separations of alfalfa herbage. Crop Sci. 15, 259-262.
- 11. Fick, G.W., Janson, C.G., 1990. Testing mean stage as a predictor of alfalfa forage quality with growth chamber trials. Crop Sci. 38, 678-682.

7 Literatura

- 12. Fick, G.W., Liu, B.W.Y., 1976. Alfalfa weevil effect on root reserves, development rate, and canopy structure of alfalfa. Agron. J. 68, 595-599
- 13. Fick, G.W., Mueller, S.C., 1989. Alfalfa; quality, maturity, and mean stage of development. Information Bulletin 217. Cornell Univ., Ithaca, NY, USA.
- 14. Fick, G.W., Onstad, D.W., 1988. Statistical models for predicting alfalfa herbage quality from morphological or weather data. J. Prod. Agric. 1, 160-166.
- 15. Fick, G.W., Wilkens, P.W., Cherney, J.H., 1994. Modeling forage quality changes in the growing crop. In: Fahey, G.C.Jr., et al. (Eds.), Forage Quality, Evaluation, and Utilization, ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, USA, pp. 757–795.
- 16. Fox, D.G., Tylutki, T.P., Tedeschi, L.O., Van Amburgh, M.E., Chase, L.E., Pell, A.N., Overton, T.R., Russell, J.B., 2003. The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. CNCPS version 5.0, model documetation. Cornell Univ., Ithaca, NY, USA.
- 17. Gengenbach, B.C., Miller, D.A., 1972. Variation and heritability of protein concentration in various alfalfa plant parts. Crop Sci. 12, 767-769.
- Goering, H.K, Gordon, C.H, Hemken, R.W., Waldo, D.R., Van Soest, P.J., Smith, L.W., 1972. Analytical estimates of nitrogen dogestibility in heat damaged forages. J. Dairy Sci. 54, 1275-1280.
- Goering, H.K, Van Soest, P.J., 1970. Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications). Agric. Handbook No. 379. ARS-USDA, Washington, DC.
- Grabber, J.H., 2009. Forage management effects on protein and fiber fractions, protein degradability, and dry matter yield of red clover conserved as silage. Anim. Feed Sci. Technol. 154, 284-294.
- Griffin, T.S., Cassida, K.A., Hesterman, O.B., Rust, S.R., 1994. Alfalfa maturity and cultivar effects on chemical and in situ estimates of protein degradability. Crop Sci. 34, 1654-1661.
- 22. Hakl, J., Šantrůček, J., Fuksa, P., Krajíc, L., 2010. The use of indirect methods for the prediction of alfalfa quality in the first cut under the conditions of Central Europe. Czech. J. Anim. Sci. 55, 258–265.
- Hall, M.B., 2003. Challenges with nonfiber carbohydrate methods. J. Anim. Sci. 81, 3226–3232.

7 Literatura

- 24. Hall, M.H., Smiles, W.S., Dickerson, R.A., 2000. Morphological development of alfalfa cultivars selected for high quality. Agron. J. 92, 1077–1080.
- Hintz, R.W., Albrecht, K.A., 1991. Prediction of alfalfa chemical composition from maturity and plant morphology. Crop Sci. 31, 1561-1565.
- 26. Hedlund, E.K., Höglund, S., 1983. Scheme for stage of development in timoty, red clover, and lucerne. M.S. thesis. Royal Swedish Agic. College, Uppsala, Sweden.
- 27. Homb, T., 1952. Chemical composition and digestibility of grassland crops (in Norwegian). Norges Landbrukshøgskoles Fôrigsfosøk Beretning 71, Mariendals Boktrykkeri, Gjøvik, Norway.
- ISO, 2005. Animal feeding stuffs Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content - Part 2: Block digestion/steam distillation method. ISO 5983-2, 14 pp.
- 29. ISO, 2008. Animal feeding stuffs Determination of acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL) contents. ISO 13906, 17 pp.
- 30. Jarl, F., Helleday, T., 1951. Studies of the changes in the chemical composition, digestibility and nutritive value of herbage at different growth stages (in Swedish).K. Lantbr. Tidskr. 90, 315-335.
- 31. Kalu, B.A., 1976. Age and time of year effects on alfalfa (*Medicago sativa* L.) quality and morphological development. M.S. thesis, Cornell University, Ithaca, NY, USA.
- Kalu, B.A., 1982. Morphological of development and forage quality of field grown alfalfa (*Medicago sativa* L.). Ph.D. thesis, Cornell University, Ithaca, NY, USA (Diss. Abstr. 82-28396).
- 33. Kalu, B.A., Fick, G.W., 1981. Quantifying morphological development of alfalfa for studies of herbage quality. Crop Sci. 21, 267-271.
- 34. Kalu, B.A., Fick, G.W., 1983. Morphological stage of development as a predictor of alfalfa herbage quality. Crop Sci. 23, 1167-1172.
- 35. Kalu, B.A., Fick, G.W., Van Soest P.J., 1988. Agronomic factors in evaluating forage crops. I. Predicting quality measures of crude protein and digestibility from crop leafiness. J. Agron. Crop Sci. 161, 135-142.

- 36. Kalu, B.A., Fick, G.W., Van Soest P.J., 1990. Agronomic factors in evaluating forage crops. II. Predicting fiber components (NDF, ADF, ADL) from crop leafiness. J. Agron. Crop Sci. 164, 26-33.
- 37. Kane, E.A., Moore, L.A., 1959. Digestibility of Beltsville first-cut forages as affected by date of harvest. J. Dairy Sci. 42, 936 (abstr.).
- 38. Komprda, T., Zelenka, J., Tvrzník, P. and Nedbálková, B., 1993. Variability sources of crude protein and organic matter degradability values measured in situ for testing the dependence of nutritive value of lucerne on the stage of maturity. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 70, 190-195.
- Komprda, T., František, J., Štohandlová, M., Foltýn, J., 1997a. In-situ disappearance and content of p-coumaric and ferulic acid in luceme from various vegetative stages. Anim. Feed Sci. Technol. 67, 141-150.
- Komprda, T., Zelenka, J., Nedbálková, B., 1997b. Dependence of nutritive value of lucerne on the stage of maturity. Živočišná výroba 42, 131-135.
- 41. Licitra, G., Hernandez, T.M., Van Soest, P.J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 57, 347-358.
- 42. Liu, B.W.Y., 1977. Statistical models for prediction of alfalfa quality. Ph.D. thesis, Cornell Univsity, Ithaca, NY, USA (Diss. Abstr. 78-07789).
- 43. Machado, C.F., Morris, S.T., Hodgson, J., Matthew, C., Auza, N., 2007. Seasonal variation in the quality of a lucerne-based pasture and its relationship with morphological and maturity estimates. Aust. J. Exp. Agric. 47, 575–582.
- 44. Marten, G.C., Barnes, R.F., 1980. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems. In: Proc. Int. Workshop Stand. Anal. Methodol. Feeds, Ottawa, Canda. 12-14 Mart 1979, Unipub, New York, pp. 61-71.
- 45. McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., 2011. Animal nutrition, 7<sup>th</sup> edition. Pearson, UK.
- 46. Menke, K.H., Steingass, H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. Dev. 28, 7–55.
- 47. Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W., 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant

feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. J. Agric. Sci. 93, 217-222.

- 48. Mueller, S.C., 1990. The effect of botanical composition on prediction of alfalfa (*Medicago sativa* L.) quality from mean stage of development. Ph.D. thesis, Cornell Univsity, Ithaca, NY, USA (Diss. Abstr. 90-18160).
- 49. Mueller, S.C., 1994. Assessing alfalfa maturity for quality prediction. 24<sup>th</sup> California Alfalfa Symposium. 8-9 December 1994, Redding, CA, Department of Agronomy and Range Science Extension, University of California, Davis, CA, pp. 46-50.
- 50. Mueller, S.C., Fick, G.W., 1989. Converting alfalfa development measurements from mean stage by count to mean stage by weight. Crop Sci. 29, 821-823.
- 51. Nelson, W.F, Sater, L.D., 1990. Effect of stage of maturity and method of preservation of alfalfa on production by lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 73, 1800-1811.
- 52. NRC, 1989. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 6<sup>th</sup> revised edition. National Research Council, National Academy Press, Washington, DC.
- 53. NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7<sup>th</sup> revised edition. National Research Council, National Academy Press, Washington, DC.
- 54. Olfert, K., 2004. Predicting Forage Nutritive Value from Height and Maturity of Alfalfa in Saskatchewan, Canada. M.S. thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- 55. Orloff, S.B., 1996. Methods to assess alfalfa forage quality in the field. In: Proc. 26<sup>th</sup> California Alfalfa & National Alfalfa Symposium, 9-10 December 1996, San Diego, CA, Department of Agronomy and Range Science Extension, University of California, Davis, CA, pp. 183-194.
- 56. Onstad, D.W., Fick, G.W., 1983. Predicting crude protein in vitro true digestibility, and leaf proportion in alfalfa herbage. Crop Sci. 23, 961-964.
- 57. Owens, V.N., Albrecht, K.A., Hintz, R.W., 1995. A rapid method for predicting alfalfa quality in the field. J. Prod. Agric. 8, 491-495.
- 58. Parsons, D., Cherney, J.H., Peterson, P.R., 2009. Preharvest neutral detergent fiber concentration of alfalfa as influenced by stubble height. Agron. J. 101, 769-774.

- 59. Pembleton K.G., Donaghy, D.J., Volenec, J.J., Smith, R.S., Rawnsley, R.P., 2010a. Yield, yield components and shoot morphology of four contrasting lucerne (*Medicago sativa*) cultivars grown in three cool temperate environments. Crop Pasture Sci. 61, 503-511.
- Pembleton K.G., Cunningham, S.M., Volenec, J.J., 2010b. Effect of summer irrigation on seasonal changes in taproot reserves and the expression of winter dormancy/activity in four contrasting lucerne cultivars. Crop Pasture Sci. 61, 873-884.
- 61. Putnam, D.H., 1998. Relationships Among Testing Results of California Alfalfa Hay Samples. In: Proc. 28<sup>th</sup> California Alfalfa Symposium, 3-4 December 1998, Reno, Nevada, CA, Department of Agronomy and Range Science Extension, University of California, Davis, CA, pp. 148-149.
- 62. Putnam, D., 2004. Forage quality testing and markets; where are we going? In: Proc. National Alfalfa Symposium and 34<sup>th</sup> California Alfalfa Symposium, 13-15 December 2004, San Diego, CA, Department of Agronomy and Range Science Extension, University of California, Davis, CA, pp. 327-344.
- 63. Putnam, D., Undersander, D., 2006. The future of alfalfa forage quality testing in hay markets. In: Proc. 36<sup>th</sup> Western Alfalfa Symposium, Reno, Nevada, 11-13 December 2006, Department of Agronomy and Range Science Extension, University of California, Davis, CA, pp. 209-222.
- 64. Reid, J.T., Kennedy, W.K., Turk, K.L., Slack, S.T., Trimberger, G.W., Murphy, R.P., 1959. Effect of growth stage, chemical composition, and physical properties upon the nutritive value of forages. J. Dairy Sci. 42, 567-571.
- 65. Reid, J.T., 1973. Quality hay. In: M.E. Heath, D.S. Metcalfe, and R.E. Barnes (Eds.), Forages, the science of grassland agriculture. 3rd ed. Iowa State Univ. Press, Ames, pp. 532-548.
- Robinson, P.H., 1999. Neutral detergent fiber (NDF) and its role in alfalfa analysis.
  In: Proc. 29<sup>th</sup> California Alfalfa Symposium, Fresno, CA, 8-9 December 1999,
  Department of Agronomy and Range Science Extension, University of California,
  Davis, CA, pp. 60-67.
- 67. Sanderson, M.A., 1992. Predictors of alfalfa forage quality: validation with field data. Crop Sci. 32, 245-250.

- 68. Sanderson, M.A., Wedin, W.F., 1988. Cell wall composition of alfalfa stems at similar morphological stages and chronological age during spring growth and summer regrowth. Crop Sci. 28, 342-347.
- 69. Sanderson, M.A., Wedin, W.F., 1989. Phenological stage and herbage quality relationships in temperate grasses and legumes. Agron. J. 81, 864-869.
- 70. Sanderson, M.A., Wedin, W.F., 1990. In situ digestion of detergent fiber nitrogen in alfalfa stems. Anim. Feed Sci. Technol. 30, 1-9. (Abstr.)
- 71. Schnakenberg, T., 2012. Hay day management / Baleage management (full screen version). Regional hay school, Fair Grove, MO, USA. University of Missouri, Extension. Skinuto sa (pristupljeno 19.9.2013.): http://extension.missouri.edu/webster/publications/2012-04-14\_RegionalHaySchool/
- 72. Simon, U., Park, B.H., 1983. A descriptive scheme for stages of development in perennial forage grasses. In: Proc. 14<sup>th</sup> Int. Grassl. Congr. Lexington, KY, 15-24 June 1981. Westview Press, Boulder, CO, pp. 416-418.
- 73. Sniffen, C.J., O' Connor , J.D., Van Soest, P.J., Fox ,D.G., Russell, J.B., 1992. A net carbohydrate and protein sy stem for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70, 3562 –3577.
- 74. StatSoft, 2003. STATISTICA for Windows, release 6.0, Inc., Tulsa, OK, USA.
- Sulc, R.M., Albrecht, K.A., Cherney, J.H., Hall, M.H., Mueller, S.C., Orloff, S.B., 1997. Field testing a rapid method for estimating alfalfa quality. Agron. J. 89, 952-957.
- 76. Sulc, R.M., Albrecht, K.A., Owens, V.N., Cherney, J.H., 1999. Update on predicting harvest time for alfalfa. In: Proc. Tri-State Dairy Nutrition Conf. Fort Wayne, Ind, April 1999. The Ohio State University, Columbus, pp. 167-177.
- 77. Sulc, R.M., Albrecht, K.A., Owens, V.N., 2001. A simple method for estimating alfalfa fiber content in the field. In: Proc. XIX Intenational Grassland Congress. Sao Paulo, Brazil, Januar 2001, pp. 398-399.
- 78. Testa, G., Gresta, F., Cosentino, S.L., 2010. Dry matter and qualitative characteristics of alfalfa as affected by harvest times and soil water content. Eur. J. Agron. 34, 144-152.
- Torsell, B.W.R. 1984. Conditions for plant production (in Swedish). In: Report 136.
   Dep. Plant Husbandry, Swedish Univ. Agric. Sci., Uppsala, Sweden. pp. 156-157.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583–3597.
- Van Soest, P.J., 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- 82. Vencl, B., 1990. Návrh systémů energetického hodnocení krmiv pro přežvýkavce. In: Proc. Symp. Nové systémy hodnocení energie a dusíkatých látek krmiv pro přežvýkavce. Prague, Czechoslovakia, Jun 1990, pp. 26-38.
- Verité, R., Peyraud, J.L., 1988. Nutrition azotée. In: Jarrige, R. (Eds.), Alimentation des bovins, ovins et caprins. INRA, Paris, France, pp. 75-93.
- 84. Yari, M., Valizadeh, R., Naserian, A.A., Ghorbani, G.R., Moghaddam, Rezvani, P., Jonker, A., Yu, P., 2012a. Botanical traits, protein and carbohydrate fractions, ruminal degradability and energy contents of alfalfa hay harvested at three stages of maturity and in the afternoon and morning. Anim. Feed Sci. Technol. 172, 162-170.
- 85. Yari, M., Valizadeh, R., Naserian, A.A., Jonker, A., Yu, P., 2012b. Modeling nutrient availability of alfalfa hay harvested at three stages of maturity and in the afternoon and morning in dairy cows. Anim. Feed Sci. Technol. 178, 12-19.

## **8 BIOGRAFIJA AUTORA**

Aleksa Božičković je rođen 20. 3. 1983. u Bačkoj Palanci, Republika Srbija. Nakon završene osnovne škole i gimnazije, 2002. godine upisuje Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu. Osnovne studije završava 2007. godine uz prosečnu ocenu 9,34, nakon čega iste godine upisuje doktorske studije na istom fakultetu.

Od marta 2008. stalno je zaposlen prvo kao saradnik u nastavi, a od decembra 2009. godine kao asistent, na katedri za Ishranu domaćih i gajenih životinja na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Trenutno drži vežbe na osnovnim akademskim studijama iz predmeta: Ishrana preživara, Odabrana poglavlja ishrane domaćih i gajenih životinja, Hrana za domaće i gajene životinje i Kvalitet hrane za domaće i gajene životinje.

Do sada je učestvovao u realizaciji tri projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja, Vlade Republike Srbije.

U saradnji sa drugim autorima objavio je više desetina radova u domaćim naučnim časopisima i na domaćim i međunarodnim simpozijumima, prvenstveno iz oblasti ishrane domaćih životinja. Osim toga, koautor je i dva rada u međunarodnim časopisima sa SCI liste.

## 9 PRILOZI - IZJAVE

Prilog 1.

### Изјава о ауторству

Потписани Алекса Божичковић

број индекса 07/23

#### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

#### ПРОЦЕНА ХРАНЉИВЕ ВРЕДНОСТИ ЛУЦЕРКЕ У ИСХРАНИ ПРЕЖИВАРА НА ОСНОВУ МОРФОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА

- 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 ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, октобар 2013. године.

Aseaca Esimmuchita

Prilog 2.

# Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Алекса Божичковић

Број индекса <u>07/23</u>

Студијски програм Зоотехника

Наслов рада <u>ПРОЦЕНА ХРАНЉИВЕ ВРЕДНОСТИ ЛУЦЕРКЕ У ИСХРАНИ</u> <u>ПРЕЖИВАРА НА ОСНОВУ МОРФОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА</u>

Ментор проф. др. Горан Грубић

Потписани Алекса Божичковић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао 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, октобар 2013. године.

Aserca Economicalit

Prilog 3.

#### Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку "Светозар Марковић" да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

#### ПРОЦЕНА ХРАНЉИВЕ ВРЕДНОСТИ ЛУЦЕРКЕ У ИСХРАНИ ПРЕЖИВАРА НА ОСНОВУ МОРФОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао 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.

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

(кратак опис лиценци дат је на следећој страници).

Потпис докторанда

У Београду, октобар 2013. године.

itreaca Courgue bit

1. Ауторство - Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.