

## Utjecaj bakterizacije, kultivara i stadija zrelosti na prinos i kemijski sastav crvene djeteline

Josip Leto\*, Goran Perčulija, Krešimir Bošnjak,  
Hrvoje Kutnjak, Marina Vranić, Ivana Čačić

Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za specijalnu proizvodnju bilja,  
Centar za travnjaštvo, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Hrvatska

Prispjelo - Received: 17.02.2013.  
Prihvaćeno - Accepted: 13.05.2013.

### Sažetak

Crvena djetelina je visoko produktivna, bjelančevinama bogata krmna kultura, a veći sadržaj "bypass" bjelančevina i probavljivija vlakna crvene djeteline osiguravaju više energije u obroku mliječnih goveda u odnosu na lucernu. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj bakterizacije sjemena tri kultivara crvene djeteline s dva soja *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii* i košnje u dva različita stadija zrelosti na prinos suhe tvari (ST), te kemijski sastav crvene djeteline. Odgađanje košnje na početak cvatnje značajno je povećalo prinos ST kod dva od tri istraživana kultivara u godini sjetve, te kod svih kultivara u zadnjoj godini istraživanja. U sve tri godine istraživanja u početku cvatnje povećao se udio stabljike, a smanjio udio lista i cvata u odnosu na početak pupanja. Košnjom crvene djeteline u početku pupanja koncentracija sirovih bjelančevina (SB) bila je 15,4 % viša nego košnjom u početku cvatnje, dok razlike u sadržaju neutralnih (NDV) i kiselih detergent vlakana (KDV) nisu bile značajne. Kultivari crvene djeteline su pokazali značajna variranja u svim istraživanim svojstvima, dok bakterizacija nije značajno djelovala ni na jedno istraživano svojstvo crvene djeteline.

*Ključne riječi:* bakterizacija, crvena djetelina, kultivar, prinos, kemijski sastav

### Uvod

Visoke cijene stočne hrane i zahtjevi kupaca za mlijekom i mesom iz održivih sustava proizvodnje doveli su do potrebe istraživanja sljedećih, domaćih izvora bjelančevina. Crvena djetelina je visoko produktivna, bjelančevinama bogata krmna mahunarka (Frame, 1986). Ubraja se u najvažnije krmne kulture u humidnoj klimi, na plićim, kiselijim i vlažnijim tlima, te u krajevima s kraćom vegetacijskom sezonom. Kod goveda povećava količinu konzumirane hrane i performanse životinja u usporedbi s travama i drugim mahunarkama (Castle i Watson, 1974; Thomas i sur., 1981; Broderick i sur., 2001). Općenito se smatra da crvena djetelina i lucerna imaju sličan kemijski sastav (SB, NDV, KDV) i sadržaj mineralnih tvari. Međutim, crvena djetelina ima veći sadržaj "bypass" bjelančevina i znatno probavljivija vlakna čime se u hranidbi mliječnih goveda dobiva

više energije u usporedbi s lucernom (Hoffman i Broderick, 2001).

Inokulacija sjemena crvene djeteline *Rhizobium* bakterijama može povećati njezin prinos (Frame i sur., 1998). Čak i kad je samo 20 % kvržica podrijetlom od introduciranih sojeva, mogu se očekivati visoki prinosi (Martensson, 1990). Međutim, učinkovitost na prinos nije uvijek povezana s kompetitivnošću soja, tako da se visoko učinkoviti sojevi ne mogu uvijek uspješno nadmetati s manje učinkovitim divljim sojevima *Rhizobium* bakterija (Ames-Gottfred i Cristie, 1989).

Crvena se djetelina u Hrvatskoj obično uzgaja sama ili u smjesama s travama. Prethodni rezultati istraživanja upućuju na važnost odabira kultivara crvene djeteline za specifične agroekološke uvjete (Leto i sur., 2004).

Stadij razvoja u trenutku košnje značajan je čimbenik o kojem ovisi kemijski sastav i kakvoća krme crvene djeteline (Ignjatović i sur., 2001). Povećanje broja otkosa tijekom godine u određenoj mjeri povećava kakvoću krme, ali to povećanje je malo u usporedbi s gubitcima prinosa ST i SB, te metaboličke energije (ME) koja se događaju kod povećanog broja otkosa (Scheldrick i sur., 1986).

Cilj ovog istraživanja je utvrditi utjecaj *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii*, kultivara crvene djeteline i stadija razvoja u trenutku košnje na prinos i kemijski sastav crvene djeteline.

## Materijal i metode

Trogodišnji je pokus (2004.-2006.) proveden u sjeverozapadnoj Hrvatskoj, na pokušalištu Agronomskog fakulteta Centar za travnjaštvo na Medvednici (45°55' N, 15°58' E, nadmorska visina: 650 m), na kiselom smeđem tlu. Srednja godišnja temperatura pokusne lokacije je 6,6 °C, a godišnja količina oborina 1230 mm. Pretkultura je bila travnjak, prethodno kombinirano korišten košnjom i napasivanjem najmanje 2 godine. U jesen 2003. g. postojeći je travnjak pognojen krutim goveđim stajskim gnojem (KSG) u količini koja opskrbljuje tlo sa 120 kg ukupnog N ha<sup>-1</sup> i preoran. KSG je po toni sadržavao oko 6 kg ukupnog N, 7 kg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> i 9,9 kg K<sub>2</sub>O. Neposredno prije početka istraživanja pH tla u KCl iznosio je 5,54, u tlu je utvrđeno 0,13 % N (HRN ISO 11261:2004), 15,15 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/100 g tla i 40,5 mg K<sub>2</sub>O/100 g tla (Egner i sur., 1960). Nikakva naknadna gnojiva nisu primjenjivana tijekom istraživanja. Sedamdeset dvije osnovne parcelice (1,5 x 5 m) pripremljene su za sjetvu u proljeće 2004. g. Tri kultivara crvene djeteline (*Trifolium repens* *cv.* Tempus, Ram i Rajah) posijani su ručno krajem travnja 2004. g., s normom sjetve 20 kg ha<sup>-1</sup>. Pokus je postavljen po split-split-plot dizajnu u 4 ponavljanja. Glavni faktor bio je stadij zrelosti crvene djeteline u trenutku košnje (početak pupanja i početak cvatnje), podfaktor kultivar crvene djeteline, a podpodfaktor bakterizacija (sojevi *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii*: RCR5-podrijetlom iz Engleske i D631-podrijetlom iz Češke, i kontrola - bez bakterizacije). Sjeme crvene djeteline bakterizirano je neposredno prije sjetve. Poslije sjetve pokusna je površina povaljana valjkom. Tijekom nicanja i prvog porasta crvene djeteline korovi su uklanjani ručno. Osnovne su parcelice košene ručno na visinu oko 5

cm. Izvagana je biljna masa sa svake parcelice i utvrđen prinos zelene mase. Za utvrđivanje sadržaja ST uzeti su uzorci zelene mase (1000 g) i sušeni 48 sati na 60 °C u sušioniku. Nakon mljevenja na 1 mm, uzorci 1. otkosa 2006. g. su korišteni za utvrđivanje sadržaja sirovih bjelančevina (po Kjeldahl metodi), te neutralnih i kiselih detergent vlakana (po Van Soest i sur., 1991).

Prinos ST lista i stabljike utvrđivao se uzimanjem 500 g zelene mase/parcelici, razdvajanjem na list + cvat i stabljiku i sušenjem 48 h na 60 °C. Osušene komponente su izvagane i izračunate su koncentracije pojedinih komponenata u %. Množenjem pojedinih koncentracija sa prinosom ST po parcelici dobiveni su prinos ST lista i cvata i prinos ST stabljike u g m<sup>-2</sup>.

Rezultati su obrađeni u statističkom programu SAS (SAS Institut, 1999) korištenjem MIXED procedure.

## Rezultati

### Klimatski pokazatelji

Podatci o mjesečnim oborinama, prosječnim mjesečnim temperaturama i 30-godišnjem prosjeku prikupljeni su na meteorološkoj postaji Puntijarka, najbližoj pokusnoj lokaciji (tablica 1). Općenito, vremenski uvjeti tijekom istraživačkog razdoblja bili su povoljni za rast crvene djeteline. Oborine u vegetacijskom razdoblju svih istraživanih godina (travanj-listopad) bile su nešto iznad 30-godišnjeg prosjeka. Zadnja je godina istraživanja bila malo toplija od prosjeka.

### Bakterizacija

Bakterizacija crvene djeteline nije značajno ( $P > 0,05$ ) utjecala ni na jedno istraživano svojstvo crvene djeteline tijekom istraživanog razdoblja (tablice 2, 4, 6, 8, 10 i 12).

### Godišnji prinos ST

U godini sjetve prosječni prinos ST iznosio je 10,26 t ha<sup>-1</sup>, u godini punog korištenja 17,29 t ha<sup>-1</sup> i u zadnjoj godini 7,11 t ha<sup>-1</sup>.

U 2004. g. na prinos ST značajno je utjecala interakcija SZ x K ( $P < 0,05$ ) (tablice 2 i 3) zbog toga što kod cv. Rajah nije bilo promjene prinosa u razli-

Tablica 1. Srednje mjesečne temperature zraka i ukupne mjesečne oborine, Medvednica - Puntijarka

Mjesec	Oborine, mm				Srednje temperature, °C			
	2004.	2005.	2006.	30-godišnji prosjek	2004.	2005.	2006.	30-godišnji prosjek
I.	85,0	68,0	54,9	68,8	-4,3	-2,2	-4,5	-2,2
II.	93,4	130,9	75,2	77,3	-0,6	-5,6	-2,5	-2,4
III.	110,1	71,1	111,4	92,4	0,2	0,5	-0,5	1,9
IV.	161,3	109,7	162,8	87,2	6,1	6,1	7,2	5,5
V.	88,9	92,4	131,5	102,4	9,0	11,4	10,8	10,5
VI.	129,3	57,1	76,3	153,8	13,6	14,2	14,7	13,2
VII.	103,0	239,8	102,6	97,1	15,7	15,9	18,4	16,0
VIII.	93,9	224,0	241,8	109,9	16,1	13,6	13,6	15,8
IX.	72,7	134,8	90,8	108,1	11,3	12,0	13,6	12,4
X.	201,4	36,0	10,5	120,6	9,7	8,0	10,0	7,4
XI.	81,1	102,2	80,4	103,6	2,6	2,0	5,0	1,8
XII.	63,4	172,6	57,6	109,8	-0,1	-2,7	1,9	-0,9
Ukupno/prosjek	1283,5	1438,6	1195,8	1231,0	6,6	6,1	7,3	6,6
IV.-X.	850,5	893,8	816,3	779,1	11,6	11,6	12,6	11,5

Tablica 2. Kombinirana analiza varijance za prinos suhe tvari (ST) crvene djeteline

	Prinos ST		
	2004.	2005.	2006.
Stadij zrelosti (SZ)	NS	NS	*
Kultivar (K)	**	**	NS
SZ x K	**	NS	NS
Bakterizacija (B)	NS	NS	NS
SZ x B	NS	NS	NS
K x B	NS	NS	NS
SZ x K x B	NS	NS	NS

\*Signifikantno uz  $P=0,05$ , \*\*Signifikantno uz  $P=0,01$ , NS nije signifikantno

čitim stadijima zrelosti, dok su ostala dva kultivara imala značajno veći prinos početkom cvatnje. Uz to, u početku pupanja nije bilo značajne razlike u prinosu između cv. Ram i cv. Rajah, kao ni između cv. Tempus i cv. Rajah, dok je u početku cvatnje cv. Ram imao najveći, a cv. Rajah najmanji prinos ST.

U 2005. g. na prinos je najviše utjecao kultivar. Najproduktivniji je bio cv. Tempus (23,3 % više od cv. Ram i 12,8 % više od cv. Rajah), a najmanji prinos imao je cv. Ram (8,5 % manje od cv. Rajah i 18,9 % manje od cv. Tempus) (tablica 3).

U zadnjoj godini prinos ST značajno je bio pod utjecajem stadija zrelosti ( $P<0,05$ ). Pomicanjem

košnje crvene djeteline na početak cvatnje došlo je do povećanja prinosa ST za 17,3 % u odnosu na početak pupanja.

#### *Udio stabljike u ukupnom prinosu ST crvene djeteline*

Iako su utvrđene razlike u udjelu stabljike među kultivarima i stadijima zrelosti u svim godinama istraživanja ( $P<0,05$ ), ipak, nisu svi kultivari reagirali sličnom promjenom udjela stabljike odgodom košnje u svim godinama istraživanja, iz čega proizlazi signifikantna interakcija SZ x K za prve dvije godine istraživanja (tablica 4).

Tablica 3. Godišnji prinos ST crvene djeteline

	Prinos ST crvene djeteline, t ha <sup>-1</sup>		
	2004.	2005.	2006.
Početak pupanja (PP)	9,31	16,69	6,55
Početak cvatnje (PC)	11,17	17,89	7,68
LSD (0,05)	NS	NS	0,98
cv. Tempus	10,05	19,23	7,71
cv. Ram	11,60	15,59	6,33
cv. Rajah	9,06	17,04	7,30
LSD (0,05)	0,97	1,37	NS
PP x Tempus	8,61	17,86	6,94
PP x Ram	10,20	15,28	5,96
PP x Rajah	9,11	16,93	6,74
PC x Tempus	11,50	20,60	8,48
PC x Ram	13,00	15,90	6,71
PC x Rajah	9,00	17,15	7,85
LSD (0,05)†	1,37	NS	NS
LSD (0,05)‡	1,86	NS	NS

†LSD za usporedbu prosjeka unutar stadija zrelosti; ‡LSD za usporedbu prosjeka između stadija zrelosti

Tablica 4. Kombinirana analiza varijance za udio stabljike u ukupnom prinosu ST crvene djeteline

	Udio stabljike u ukupnom prinosu ST crvene djeteline		
	2004.	2005.	2006.
Stadij zrelosti (SZ)	*	**	**
Kultivar (K)	**	**	**
SZ x K	*	**	NS
Bakterizacija (B)	NS	NS	NS
SZ x B	NS	NS	NS
K x B	NS	NS	NS
SZ x K x B	NS	NS	NS

\*Signifikantno uz P=0,05, \*\*Signifikantno uz P=0,01, NS nije signifikantno

U godini sjetve cv. Rajah je imao sličan udio stabljike u oba stadija zrelosti, dok su ostala dva kultura imali veći udio stabljike početkom cvatnje. Uz to, početkom pupanja u godini sjetve nije bilo značajne razlike između cv. Tempus i cv. Ram, dok je početkom cvatnje cv. Tempus imao najveći udio stabljike, a cv. Rajah najmanji (tablica 5).

U 2005. godini sva tri kultura su imala veći udio stabljike u početku cvatnje, ali je razlika među stadijima zrelosti kod kultura bila različita (50,32 % kod cv. Tempus, 28,34 % cv. Ram i 12,95 % cv. Rajah). U početku pupanja najveći udio stabljike imao je cv. Rajah, dok između ostala 2 kultura nije bilo razlike,

a u početku cvatnje najmanji udio stabljike imao je cv. Ram, a između cv. Tempus i cv. Rajah nije bilo razlike.

Promjena udjela stabljike kao reakcija na rok košnje u zadnjoj godini istraživanja bila je slična kod svih kultura na što ukazuje nesignifikantnost interakcije SZ×K (P>0,05). Kultivar Rajah imao je najveći, a cv. Ram najmanji udio stabljike u ukupnom prinosu ST.

Tablica 5. Godišnji udjeli stabljike u ukupnom prinosu ST crvene djeteline

	Udio stabljike u ukupnom prinosu ST crvene djeteline, %		
	2004.	2005.	2006.
Početak pupanja (PP)	8,61	28,50	38,55
Početak cvatnje (PC)	13,73	36,62	45,26
LSD (0,05)	4,59	1,42	1,11
cv. Tempus	16,84	31,42	40,04
cv. Ram	11,30	29,17	32,34
cv. Rajah	5,37	37,09	53,34
LSD (0,05)	2,77	1,74	3,29
PP x Tempus	11,90	25,10	35,57
PP x Ram	9,03	25,55	28,63
PP x Rajah	4,90	34,84	51,46
PC x Tempus	21,79	37,73	44,50
PC x Ram	13,57	32,79	36,06
PC x Rajah	5,83	39,35	55,21
LSD (0,05)†	3,92	2,45	NS
LSD (0,05)‡	4,49	2,23	NS

†LSD za usporedbu prosjeka unutar stadija zrelosti; ‡LSD za usporedbu prosjeka između stadija zrelosti

Tablica 6. Kombinirana analiza varijance za prinos ST stabljike

	Prinos ST stabljike		
	2004.	2005.	2006.
Stadij zrelosti (SZ)	*	*	**
Kultivar (K)	**	**	**
SZ x K	*	**	NS
Bakterizacija (B)	NS	NS	NS
SZ x B	NS	NS	NS
K x B	NS	NS	NS
SZ x K x B	NS	NS	NS

\*Signifikantno uz  $P=0,05$ , \*\* Signifikantno uz  $P=0,01$ , NS nije signifikantno

### Prinos ST stabljike

Promjena prinosa ST stabljike kultivara crvene djeteline kao reakcija na rok košnje u prve dvije godine istraživanja bila je različita na što ukazuje signifikantnost interakcije  $SZ \times K$  ( $P < 0,05$ ) (tablica 6). U obje godine cv. Rajah je imao isti prinos ST stabljike u oba stadija zrelosti, dok su ostala dva kultivara imala veći prinos stabljike u početku cvatnje (tablica 7). Ali, u početku pupanja 2004. g. nije bilo značajne razlike među kultivarima, dok je početkom cvatnje cv. Tempus je imao najveći, a cv. Rajah najmanji prinos stabljike. U početku pupanja 2005. g. cv. Rajah je imao najveći prinos stabljike, dok se ostala 2 kultivara nisu značajno razlikovala. Početkom cvatnje iste godine najveći prinos stabljike imao je cv.

Tempus, a razlike između ostalih kultivara nisu bile značajne.

Kultivari su slično reagirali povećanjem prinosa ST stabljike početkom cvatnje 2006. g. u odnosu na početak pupanja (nesignifikantna  $SZ \times K$ ,  $P > 0,05$ ). Prosječni prinos ST stabljike početkom cvatnje bio je 32,2 % veći nego u početku pupanja. Prinos ST stabljike kultivara Tempus i Rajah bio je značajno veći od prinosa stabljike cv. Ram.

### Udio lista i cvata u ukupnom prinosu ST crvene djeteline

Stadij zrelosti u interakciji sa kultivarom značajno je utjecao na udio lista i cvata u prinosu ST crvene

Tablica 7. Godišnji prinos ST stabljike

	Prinos ST stabljike, g m <sup>-2</sup>		
	2004.	2005.	2006.
Početak pupanja (PP)	78,33	662,85	274,47
Početak cvatnje (PC)	165,07	857,63	362,97
LSD(0,05)	85,81	119,06	46,15
cv. Tempus	180,48	818,94	335,89
cv. Ram	131,62	645,09	228,89
cv. Rajah	53,00	816,70	391,38
LSD (0,05)	47,43	76,63	70,65
PP x Tempus	101,72	646,64	279,32
PP x Ram	88,02	557,22	197,23
PP x Rajah	45,25	784,68	346,88
PC x Tempus	259,24	991,24	392,46
PC x Ram	175,21	732,95	260,57
PC x Rajah	60,76	848,71	435,88
LSD (0,05)†	67,08	108,37	NS
LSD (0,05)‡	80,38	120,37	NS

†LSD za usporedbu prosjeka unutar stadija zrelosti; ‡LSD za usporedbu prosjeka između stadija zrelosti

Tablica 8. Kombinirana analiza varijance za udio lista i cvata u prinosu ST crvene djeteline

	Udio lista i cvata u prinosu ST		
	2004.	2005.	2006.
Stadij zrelosti (SZ)	*	**	**
Kultivar (K)	**	**	**
SZ x K	*	**	NS
Bakterizacija (B)	NS	NS	NS
SZ x B	NS	NS	NS
K x B	NS	NS	NS
SZ x K x B	NS	NS	NS

\*Signifikantno uz P=0,05, \*\*Signifikantno uz P=0,01, NS nije signifikantno

djeteline (P<0,05) u prve dvije godine istraživanja (tablica 8).

U 2004. g. cv. Rajah je imao isti udio lista i cvata u oba stadija zrelosti, dok su ostala dva kultivara imali veći udio lista i cvata početkom pupanja (tablica 9). Početkom pupanja najveći udio lista utvrđen je kod cv. Rajah, dok su ostala dva kultivara imala sličan udio lista. Početkom cvatnje cv. Rajah i dalje je imao najveći udio lista, ali je postojala razlika između cv. Tempus i cv. Ram. U godini punog korištenja sva tri kultivara crvene djeteline su imala trend smanjenja udjela lista i cvata u ukupnom prinosu ST početkom cvatnje, s time što je intenzitet promjena bio različit između kultivara (20,28 % kod cv. Tempus, 10,77 % cv. Ram i 7,43 % cv. Rajah). Uz to, početkom pupanja najveći udio lista

utvrđen je kod cv. Tempus i Ram, a početkom cvatnje kod cv. Ram, dok između cv. Tempus i cv. Rajah nije bilo značajne razlike.

U zadnjoj godini svi su kultivari imali veći udio lista i cvata početkom pupanja, a nesignifikantna interakcije SZ x K (P>0,05) upućuje na sličan trend promjena kod svih kultivara. Najveći udio lista i cvata utvrđen je kod cv. Ram, a najmanji kod cv. Rajah.

#### *Prinos ST lista i cvata crvene djeteline*

U godini sjetve utvrđena je signifikantna (P<0,05) interakcija SZ x K za ovo svojstvo (tablica 10), jer je samo cv. Ram imao značajno veći prinos ST lista i cvata u početku cvatnje u odnosu na početak pupanja (za 20,6 %).

Tablica 9. Godišnji udjeli lista i cvata u prinosu ST crvene djeteline

	Udio lista i cvata u ukupnom prinosu ST, %		
	2004.	2005.	2006.
Početak pupanja (PP)	91,39	71,50	61,45
Početak cvatnje (PC)	86,27	63,38	54,74
LSD(0,05)	4,59	1,42	1,11
cv. Tempus	83,16	68,58	59,96
cv. Ram	88,70	70,83	67,66
cv. Rajah	94,64	62,91	46,66
LSD (0,05)	2,77	1,74	3,29
PP x Tempus	88,10	74,90	64,43
PP x Ram	90,97	74,45	71,37
PP x Rajah	95,10	65,16	48,54
PC x Tempus	78,21	62,27	55,50
PC x Ram	86,43	67,21	63,94
PC x Rajah	94,17	60,65	44,79
LSD (0,05)†	3,92	2,45	NS
LSD (0,05)‡	4,49	2,23	NS

†LSD za usporedbu prosjeka unutar stadija zrelosti; ‡LSD za usporedbu prosjeka između stadija zrelosti

Tablica 10. Kombinirana analiza varijance za prinos ST lista i cvata crvene djeteline

	Prinos ST lista i cvata		
	2004.	2005.	2006.
Stadij zrelosti (SZ)	NS	NS	NS
Kultivar (K)	**	**	*
SZ x K	*	NS	NS
Bakterizacija (B)	NS	NS	NS
SZ x B	NS	NS	NS
K x B	NS	NS	NS
SZ x K x B	NS	NS	NS

\*Signifikantno uz  $P=0,05$ , \*\*Signifikantno uz  $P=0,01$ , NS nije signifikantno

Tablica 11. Godišnji prinos ST lista i cvata crvene djeteline

	Prinos ST lista i cvata, g m <sup>-2</sup>		
	2004.	2005.	2006.
Početak pupanja (PP)	852,34	1006,12	380,12
Početak cvatnje (PC)	951,50	930,92	405,07
LSD(0,05)	NS	NS	NS
cv. Tempus	824,92	1104,25	435,16
cv. Ram	1028,36	914,17	404,25
cv. Rajah	852,48	887,14	338,37
LSD (0,05)	65,39	68,35	58,06
PP x Tempus	758,98	1139,29	414,79
PP x Ram	932,26	970,98	398,33
PP x Rajah	865,78	908,10	327,24
PC x Tempus	890,87	1069,22	455,53
PC x Ram	1124,46	857,37	410,17
PC x Rajah	839,18	866,17	349,51
LSD (0,05)†	92,47	NS	NS
LSD (0,05)‡	135,25	NS	NS

†LSD za usporedbu prosjeka unutar stadija zrelosti; ‡LSD za usporedbu prosjeka između stadija zrelosti

Uz to, početkom pupanja cv. Ram i Rajah imali su znatno veći prinos ST lista i cvata od cv. Tempus, a u početku cvatnje cv. Ram je imao znatno viši prinos ST lista i cvata u odnosu na ostala 2 kultura. U iduće dvije godine na ovo svojstvo jedino je utjecao kultivar ( $P < 0,05$ ). U 2005. g. cv. Tempus je imao veći prinos ST lista i cvata u odnosu na ostala 2 kultura, među kojima nije bilo značajne razlike, dok su u 2006. g. veći prinos ST lista i cvata imali cv. Tempus i Ram u odnosu na cv. Rajah (tablica 11).

#### *Kemijski sastav crvene djeteline*

Košnjom crvene djeteline početkom pupanja koncentracija SB bila je 15,38 % viša nego košnjom u početku cvatnje ( $P < 0,01$ ). Kultivari Tempus i Ram imali su značajno veći sadržaj SB u odnosu na cv. Rajah (tablica 13). Na sadržaj NDV i KDV jedino je

utjecao kultivar (tablica 12). Kod cv. Rajah utvrđen je značajno veći sadržaj NDV i KDV u odnosu na ostala dva kultura, među kojima nije bilo značajne razlike.

#### **Rasprava**

Rizobije su dobro poznate po svom doprinosu u opskrbi tla dušikom, kroz  $N_2$  fiksaciju, u simbiozi s mahunarkama. U mnogim područjima gdje se mahunarke uzgajaju ili su dio prirodne vegetacije, u tlu su prisutne autohtone populacije rizobija. Istraživanja takvih populacija opravdana su s ekološkog i agronomskog stajališta. S agronomskog stajališta, visoka koncentracija rizobija u tlu upućuje na nepotrebnost dodatne inokulacije sjemena crvene djeteline. S druge strane, tla koja sadrže autohtone populacije rizobija su problematična jer mogu stvarati

Tablica 12. Rezultati kombinirane ANOVE za kemijska svojstva crvene djeteline

	Kemijski sastav crvene djeteline		
	SB	NDV	KDV
Stadij zrelosti (SZ)	**	NS	NS
Kultivar (K)	**	**	**
SZ x K	NS	NS	NS
Bakterizacija (B)	NS	NS	NS
SZ x B	NS	NS	NS
K x B	NS	NS	NS
SZ x K x B	NS	NS	NS

\*Signifikantno uz  $P=0,05$ , \*\*Signifikantno uz  $P=0,01$ , NS nije signifikantno

Tablica 13. Kemijski sastav crvene djeteline, 1. otkos 2005. godine

	Kemijski sastav crvene djeteline		
	SB g kg <sup>-1</sup> ST	NDV g kg <sup>-1</sup> ST	KDV g kg <sup>-1</sup> ST
Početak pupanja (PP)	150,76	426,34	334,87
Početak cvatnje (PC)	130,66	442,44	341,01
LSD (0,05)	1,71	NS	NS
cv. Tempus	146,39	422,09	329,79
cv. Ram	148,27	424,36	326,69
cv. Rajah	127,47	456,72	357,36
LSD (0,05)	4,74	11,79	10,68

barijeru u ostvarivanju efektivne simbioze introduciranih sojeva *Rhizobium* bakterija i biljke domaćina (Vlassak i Vanderleyden, 1997). Shejbal i sur., (2001) navode čak i negativan utjecaj bakterizacije na prinos tetraploidne crvene djeteline cv. Vulkan zbog nekompatibilnosti između kultivara i primijenjenih sojeva *Rhizobium leguminosarum var. trifolii*. Međutim, općeniti je zaključak da su autohtone populacije rizobija visoko adaptirane na njihova lokalna tla i okolinu i mogu formirati podjednaku ili puno učinkovitiju simbiozu nego komercijalni inokulanti izolirani iz udaljenih i nesrodnih tala (Gandee i sur., 1999). U ovom istraživanju bakterizacija crvene djeteline nije značajno utjecala ni na jedno istraživano svojstvo crvene djeteline, ni samostalno, niti u interakciji sa drugim čimbenicima istraživanja, što se može objasniti prisutnošću autohtonih sojeva kvržičnih bakterija *Rhizobium leguminosarum bv. trifolii* koji su bili vjerojatno dominantniji u odnosu na introducirane sojeve iz Češke i Engleske, čija primjena u našim ekološkim uvjetima nije dala očekivane rezultate. Jedan od mogućih razloga svakako može biti i nepovoljna reakcija sredine za uspostavljanje učinkovite simbiozne zajednice (pH tla u KCl tijekom istraživanja je bio 5,54).

Prinosi crvene djeteline mogu varirati u ovisnosti o ekološkim uvjetima lokacije uzgoja i vegetacijske sezone. Kao prosječni prinos ST crvene djeteline na farmama u godini sjetve Castle i Watson (1974) navode 6,1 t ha<sup>-1</sup>, a u idućoj godini 10,9 t ha<sup>-1</sup>, što je za preko 60 % manje od ostvarenog prinosa u ovom istraživanju. Najmanji prinos ST postignut u godini sjetve (10,27 t ha<sup>-1</sup>) bio je za 28,4 % viši od prosječnog prinosa 6 kultivara crvene djeteline na istoj lokaciji (Leto, 1997). Razloge svakako treba tražiti u različitim potencijalima rodnosti kultivara crvene djeteline, kao i povoljnim agroekološkim prilikama za rast crvene djeteline u ovom istraživanju. U drugoj godini istraživanja postignut je prosječni prinos od 17,3 t ST ha<sup>-1</sup>, što je gotovo podudarno s prosječnim prinomom 6 kultivara crvene djeteline na istoj lokaciji (Leto, 1997) i nešto više od prinosa koje Frame (1986) navodi kao uobičajene za monokulture crvene djeteline i smjese crvene djeteline, bijele djeteline i lucerne (14,5-16,5 t ST ha<sup>-1</sup>). U 3. godini prosječan prinos svih kultivara iznosio je 7,11 t ha<sup>-1</sup>, gotovo dvostruko više od prosječnog prinosa 6 kultivara na istoj lokaciji (Leto, 1997), ali niže od uobičajenih prinosa koje navodi Frame (1986) za treću godinu uzgoja crvene djeteline (10,6-12,6 t ST

ha<sup>-1</sup>). Kao što je utvrđeno i prethodnim istraživanjima (Leto i sur., 2004) na prinos je najviše utjecao kultivar.

Stadij zrelosti u trenutku košnje najvažniji je činitelj kakvoće crvene djeteline, dok razlike u prinosu ST između najčešćih stadija zrelosti u kojima se kosi crvena djetelina nisu tako izražene. Odgađanje košnje na početak cvatnje u ovom istraživanju značajno je povećalo prinos ST kod dva od tri istraživana kultivara u godini sjetve, te kod svih kultivara u zadnjoj godini istraživanja, čime nije u potpunosti potvrđeno istraživanje Wiersma i sur. (1998) da košnja crvene djeteline u stadiju pupanja značajno smanjuje prinos u odnosu na stadij 20 % procvjetalih biljaka. Razloge najvjerojatnije treba tražiti u reakciji kultivara na specifične agroekološke uvjete.

Promjena stadija zrelosti najviše je, očekivano, utjecala na promjenu odnosa list : stabljika u ukupnom prinosu, kao što navode i Buxton i sur. (1985), te Frame i sur. (1998). Pomicanjem košnje na početak cvatnje došlo je do pada udjela lista, a rasta udjela stabljike u ukupnom prinosu. Postojale su značajne razlike među kultivarima u komponentama prinosa, čime su potvrđena prethodna istraživanja na istoj lokaciji, ali s drugim kultivarima crvene djeteline (Leto i sur, 2004).

Strategija povećavanja broja otkosa sa 3 na 4, 5 ili 6 unapređuje kvalitetu krme (probavljivu organsku tvar u ST, ME, SB), međutim, dobit u kvaliteti s povećanim brojem otkosa mala je u usporedbi s gubicima >33 % u produkciji ST, 28 % u produkciji ME i 15 % u produkciji SB (Scheldrick i sur., 1986). Wiersma i sur. (1998) navode da košnja crvene djeteline u pupanju u odnosu na stadije 20 i 40 % procvjetalih biljaka rezultira najvećom koncentracijom SB, a najmanjom koncentracijom NDV i KDV u krmi, ali i da je kvaliteta djeteline košene u stadiju 20 % cvatnje neznatno niža u odnosu na djetelinu košenu u pupanju. U ovom istraživanju košnja u početku cvatnje smanjila je sadržaj SB za 13 %, što je prvenstveno povezano s padom udjela lista u ukupnom prinosu. Interesantno je da su sadržaji NDV i KDV bili slični među stadijima zrelosti što se može objasniti činjenicom da se kod crvene djeteline ne javlja tako drastičan pad kvalitete odmicanjem zrelosti, kao kod nekih drugih višegodišnjih mahunarka (Buxton, 1985). Buxton (1985) čak navodi da stabljika crvene djeteline ima nešto veću probavljivost od listova u istom stadiju zrelosti do cvatnje.

## Zaključci

Odgađanje košnje na početak cvatnje značajno je povećalo prinos ST u dva od tri istraživana kultivara u godini sjetve, te u svih kultivara u zadnjoj godini istraživanja, dok se u sve tri godine istraživanja povećao udio stabljike, a smanjio udio lista i cvata.

Pad udjela lista najvjerojatnije je uzrokovao značajni pad sadržaja sirovih bjelančevina u početku cvatnje, dok razlike u sadržaju NDV i KDV između stadija zrelosti nisu bile značajne.

Kultivari crvene djeteline pokazali su značajna variranja u svim istraživanim svojstvima, dok bakterizacija nije značajno djelovala ni na jedno istraživano svojstvo crvene djeteline.

## Napomena

Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenog projekta "Vrednovanje održivih sustava proizvodnje krme u brdsko-planinskim područjima", provedenog uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

### *Effects of genotype, inoculation and maturity stage at harvest on red clover (*Trifolium pratense* L.) yield and chemical composition*

## Summary

Red clover is a highly productive, protein-rich fodder crop, with more "bypass" proteins and more digestible fibres than alfalfa providing more energy dense forage to lactating dairy cows diets. The aim of this study was to determine the effect of inoculation of three red clover cultivars with two strains of *Rhizobium leguminosarum* *bv. trifolii*, as well as the effect of cutting them in two different maturity stages on yield and chemical composition. Delaying harvest time of red clover from early budding to early flowering increased DM yield in two out of three cultivars in the sowing year, and in all three cultivars in the last year of study. An increase in relative proportion of stem in total DM yield, and a reduction in the relative proportion of leaf and flowers in all three years of research was observed. Cutting of red clover in the early budding stage resulted in

15.4 % more crude protein content than in the early flowering, whereas differences in neutral and acid detergent fibre were not significant. Red clover cultivars showed significant variation in all traits, while inoculation had no significant effect on any trait of red clover.

*Key words:* inoculation, red clover, cultivar, yield, chemical composition

## Literatura

1. Ames-Gottfred, N.P., Cristie, B.R. (1989): Competition among strains of *Rhizobium leguminosarum* bivar. trifolii and use of a diallele analysis in assessing competition. *Applied Environmental Microbiology* 55, 1599-1604.
2. Broderick, G.A., Walgenbach, R.P., Maignan, S. (2001): Production of lactating dairy cows fed alfalfa or red clover silage at equal dry matter or crude protein contents in the diet. *Journal of Dairy Science* 84, 1728-1737.
3. Buxton, D.R., Hornstein, J.S., Wedin, W.F., Marten, G.C. (1985): Forage quality in stratified canopies of alfalfa, birdsfoot trefoil and red clover. *Crop Science* 25, 273-279.
4. Castle, M.E., Watson, J.N. (1974): Red clover silage for milk production. *Journal of the British Grassland Society* 29, 101-108.
5. Egnér, H., Riehm, H., Domingo, W.R. (1960): Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung die Nährstoffzustandes der Böden. II. *Kungl Lantbrukshögskolans Annaler* 26, 199-215.
6. Frame, J. (1986): The production and quality potential of four forage legumes sown alone and combined in various associations. *Crop Research (Horticultural Research)* 25, 103-122.
7. Frame, J., Charlton, J.F.L., Laidlaw, A.S. (1998): *Temperate Forage Legumes: Red clover*. CAB International, 181-224.
8. Gandee, C.M., Harrison, S.P., Davies, W.P. (1999): Genetic characterisation of naturally occurring *Rhizobium meliloti* populations and their potential to form effective symbioses with Lucerne. *Letters in Applied Microbiology* 28, 169-174.
9. Hoffman, P.C., Broderick, G.A. (2001): Red clover forages for lactating dairy cows. *Focus on forage* 3 (11), 1-2.
10. Ignjatović, S., Vučetić, J., Lugić, Z., Dinić, B. (2001): Effect of Growth Stage on Macro and Trace Elements Content in Red and White Clover. *Journal of Scientific Agricultural Research* 62 (220), 309-316.
11. Leto, J. (1997): Variranje morfoloških i gospodarskih svojstava kultivara crvene djeteline u nizinskom i brdsko-planinskom uzgojnom području. Magistarski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet.

12. Leto, J., Knežević, M., Bošnjak, K., Maćešić, D., Štafa, Z., Kozumplik, V. (2004): Yield and forage quality of red clover (*Trifolium pratense* L.) cultivars in the lowland and the mountain regions. *Plant Soil and Environment* 50, 391-396.
13. Martensson, A.M. (1990): Competitiveness of inoculant strains of *Rhizobium leguminosarum bivar. trifolii* in red clover using repeated inoculation and increased inoculum levels. *Canadian Journal of Microbiology* 36, 136-139.
14. SAS 1999. SAS® Software, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
15. Scheldrick, R.D., Lavender, R.H., Tewson, V.J. (1986): The effects of frequency of defoliation, date of first cut and heading date of a perennial ryegrass companion on the yield, quality and persistence of diploid and tetraploid red clover. *Grass and Forage Science* 41, 137-149.
16. Shejbal, B., Šantruček, J., Zajac, T. (2001): Alfalfa and red clover forage yield after Rizobin application. *Sesja Naukova* 76, 73-78.
17. Thomas, C., Gibbs, B.G., Tayler, J.C. (1981): Beef production from silage. 2. The performance of beef cattle given silages of either perennial ryegrass or red clover. *Animal Production* 32, 149-153.
18. Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991): Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74, 3583-3597.
19. Vlassak, K.M., Vanderleyden, J. (1997): Factors influencing nodule occupancy by inoculant rhizobia. *Critical Reviews in Plant Sciences* 16, 163-219.
20. Wiersma, D.W., Smith, R.R., Mlynarek, M.J., Rand, R.E., Sharpee, D.K., Undersander, D.J. (1998): Harvest management effects on red clover forage yield, quality, and persistence. *Journal of Production Agriculture* 11, 309-313.