

ГЛАСНИК ШУМАРСКОГ ФАКУЛТЕТА, БЕОГРАД, 2013, бр. 107, стр. 193-204

BIBLID: 0353-4537, (2013), 107, p 193-204

Stefanović M., Mitrović S., Obratov-Petković D., Vidaković V., Popović Z., Matić R., Bojović S. 2013. *Assessing terpene content variability of whitebark pine in order to estimate representative sample size*. Bulletin of the Faculty of Forestry 107: 193-204.

Милена Стефановић
Слободанка Митровић
Драгица Обратов-Петковић
Вера Видаковић
Зорица Поповић
Рада Матић
Срђан Бојовић

UDK: 58:519.23
UDK: 58.087.1:582.475
Оригинални научни рад
DOI: 10.2298/GSF1307189S

РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТ УЗОРКА ПРИ ОЦЕНИ ВАРИЈАБИЛНОСТИ САДРЖАЈА ТЕРПЕНА КОД МУНИКЕ

Извод: Циљ ових истраживања је да се на основу варијабилности хемијских својстава почетног узорка процени величина новог репрезентативног узорка једне популације мунике. Статистичком анализом је обухваћен садржај 19 својстава (терпенских угљоводоника и њихових деривата) почетног узорка од 10 елемената (стабала). Утврђено је да нови узорак треба да садржи 20 стабала да би средња вредност израчуната из њега репрезентовала основни скуп са вероватноћом већом од 95 %. Одређивање доње границе величине репрезентативног узорка која гарантује задовољавајућу поузданост уопштавања је веома важно због економичности истраживања.

Кључне речи: својство, елемент, узорак, репрезентативност, поузданост процене, муника, терпени

Милена Стефановић, истраживач приправник, Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Београд (milena.stefanovic@ibiss.bg.ac.rs)
др Слободанка Митровић, редовни професор, Универзитет у Београду – Шумарски факултет, Београд

Драгица Обратов-Петковић, редовни професор, Универзитет у Београду – Шумарски факултет, Београд

Вера Видаковић, истраживач приправник, Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Београд

др Зорица Поповић, научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Београд

др Рада Матић, научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Београд

др Срђан Бојовић, научни саветник, Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Београд

ASSESSING TERPENE CONTENT VARIABILITY OF WHITEBARK PINE IN ORDER TO ESTIMATE REPRESENTATIVE SAMPLE SIZE

Abstract: In studies of population variability, particular attention has to be paid to the selection of a representative sample. The aim of this study was to assess the size of the new representative sample on the basis of the variability of chemical content of the initial sample on the example of a whitebark pine population. Statistical analysis included the content of 19 characteristics (terpene hydrocarbons and their derivatives) of the initial sample of 10 elements (trees). It was determined that the new sample should contain 20 trees so that the mean value calculated from it represents a basic set with a probability higher than 95 %. Determination of the lower limit of the representative sample size that guarantees a satisfactory reliability of generalization proved to be very important in order to achieve cost efficiency of the research.

Keywords: characteristic, element, sample, representativity, reliability assessment, whitebark pine, terpenes

1. УВОД

Избор репрезентативног узорка спада међу најважније операције прикупљања података. Из тог разлога најчешће питање истраживача гласи: Колико елемената треба да садржи узорак? Питање је једноставно, а одговор није. Та се операција своди на избор дела популације (групе њених статистичких јединица - елемената) из којег ће се касније подаци прикупљати. Да би подаци који се тако добију били репрезентативни за целу популацију, избору узорка се мора посветити велика пажња (Eng, 2003). Величина узорка зависи у првом реду од варијабилности појаве коју меримо, а затим прецизности којом желимо да је измеримо (Petz, 1970; Bartlett *et al.*, 2001). Неопходно је повећати величину узорка у циљу повећања његове репрезентативности и прецизности процене средње вредности на нивоу читаве популације. Потребно је обезбедити довољно репрезентативан узорак и не повећавати га сувишно, што у крајњем само повећава економске трошкове истраживања (теренске и лабораторијске трошкове). Све ово указује да је број јединица које обезбеђују репрезентативност од великог значаја (Bojović i Mitrović, 2010), посебно када су у питању ретке и угрожене врсте дрвећа каква је муника (*Pinus heldreichii* Chr.), чије су популације удаљене и тешко приступачне а варијабилност терпенског садржаја изражена.

Циљ ових истраживања је био да се на основу варијабилности хемијских својстава почетног узорка процени величина новог репрезентативног узорка једне популације мунике са подручја Пештера (Западна Србија), врсте која је терцијерни реликт и балкански субендемичит и код нас је угрожена. Другим речима, циљ је био да се утврди колико би елемената требало да садржи нови узорак да би средња вредност израчуната из њега репрезентовала основни скуп са вероватноћом већом од 95 %.

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

Основни скуп представља популација мунике (*Pinus heldreichii* Chr.) од преко стотину стабала (локација: ШГ „Голија” Ивањица, ШУ Сјеница; газдинска јединица „Царичина-Жари”, одељење 50, одсек А; географске координате: 43° 14' 52"сгш, 19° 51' 39"игд, око 1525мнв). Ова популација је по нашем сазнању највећа од свега 3 природне популације ове врсте у Србији (ван А.П. Косово) коју је Тошић (1959) први описао. У популацији је изабран почетни узорак од 10 стабала. Количина од око 1g четина по стаблу је уситњена и остављена 24h на 4°C у 1,5ml пентана. Идентификација и мерење садржаја једињења је извршено помоћу гасног хроматографа и масеног спектрометра (GC-MS). Класирање монотерпенских угљоводоника и њихових деривата (укључујући и друга једињења) је вршено у функцији ретенционог времена компонената (време од почетка анализе до појаве максимума траженог пика). Коришћени су апарати Hewlett Packard HP5890-II и Hewlett Packard G1800C-GCD са хелијумом као носећим гасом. У колону (25 m × 0.32 mm; 0.52 μm) је аутоматски ињектован 1μl раствора по стаблу. Карактеристике и услови рада апарата су детаљно описани од стране Војовић *et al.*, (2011). Статистичка анализа је обухватила 19 својстава (терпенских угљоводоника и њихових деривата) почетног узорка од 10 елемената (стабала). За свако својство проверени су основни статистички параметри и нормалност расподеле (hi-kvadrat test). Да бисмо одредили величину новог репрезентативног узорка ($n_{\text{ново}}$) прво је рачуната фиксирана грешка средње вредности из експерименталних података (E_{exp}). Затим је рачуната нова фиксирана грешка средње вредности ($E_{\text{ново}}$) прогресивно умањивана у односу на фиксирану грешку средње вредности из експерименталних података (E_{exp}). Код терпенских угљоводоника и њихових деривата постоји једна специфичност - понекад пренаглашена варијабилност у садржају појединих компоненти. Догађа се да је стандардна грешка средње вредности блиска средњој вредности (Thompson *et al.*, 2003; Miceli *et al.*, 2006; Ormeño *et al.*, 2009), односно да је фиксирана грешка средње вредности чак већа од средње вредности. Зато је постављен услов репрезентативности, базиран на основу сличних услова (Tucović, 1975; Njegić i Žižić, 1983; Војовић i Mitrović, 2010), да двострука вредност фиксиране грешке средње вредности не превазилази средњу вредност ($2E < \bar{x}$). Коришћени су таблица Студентове расподеле и програм *Statgraphics* (Statistical Graphics Corporation, USA).

3. РЕЗУЛТАТИ

Основни статистички параметри (средња вредност, стандардна девијација, коефицијент варијације, минимална и максимална вредност) за свако својство су представљени у Табели 1. Својства (хемијска једињења) наведена у табели се могу сврстати у 5 група. Угљоводоничним монотерпенима припадају S1, S2, S3, S4, S5 и S6 (α -pinene, camphene, β -pinene, β -myrcene, limonene и α -terpinolene, респективно),

Стефановић М., Митровић С., Обратов-Петковић Д.,
Видаковић В., Поповић З., Матић Р., Бојовић С.

угљоводоничним сесквитерпенима припадају S7, S8, S9 и S10 (β -caryophyllene, α -humulene, germacrene D и δ -cadinene, респективно), а оксидованим сесквитерпенима припадају S11, S12 и S13 (germacrene-D-4-ol, τ -muurolol и germacrene-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol, респективно). Угљоводоничним дитерпенима припада S14 (kaurene), оксидованим дитерпенима припадају S15, S16 и S17 (phytol, sandaracopimarinal и 2-keto-manool oxide, респективно) и два једињења (S18 и S19) су неидентификована. Свих 19 својстава су показала нормалну расподелу (hi-kvadrat test, $P > 0,05$). Код сваког својства је фиксирана грешка средње вредности (E_{exp}) мања од средње вредности (\bar{x}). Ова разлика код почетног узорка најмања је код својстава S1 (α -pinene) (7,36:13,53 респективно) и S3 (β -pinene) (1,67:3,89 респективно), па су тако ова својства показала и највећу варијабилност ($V\% = 76$ и 60 респективно) (Табела 1). Нова задата грешка средње вредности (E_{novo}) је резултат умањивања постепено за 10 %, 20 % и 30 % фиксираних грешки средње вредности из експерименталних података (E_{exp}). Величина новог репрезентативног узорка (n_{novo}) за сва три случаја умањења се креће од 10 до 31 елемената. Посматрајући најваријабилније својство S1 (α -pinene) и постављени критеријум ($2E < \bar{x}$), умањење нове грешке за 10 % у односу на фиксирану грешку средње вредности из експерименталних података даје нову грешку чија је двострука вредност приближна средњој вредности \bar{x} ($2 \times 6,62 = 13,24$ у односу на 13,53). Умањење нове грешке за 20 % у односу на фиксирану грешку средње вредности из експерименталних података даје нову грешку чија двострука вредност је знатно мања у односу на средњу вредност ($2 \times 5,89 = 11,78$ у односу на 13,53), а умањење нове грешке за 30 % у односу на фиксирану грешку средње вредности из експерименталних података даје нову грешку чија двострука вредност је најмања у односу на средњу вредност ($2 \times 5,15 = 10,30$ у односу на 13,53) али даје и највеће вредности димензије новог репрезентативног узорка за свих 19 својстава. Корелације између садржаја 19 терпенских угљоводоника и њихових деривата приказане су у Табели 2.

Табела 1. Варијабилност садржаја 19 својстава (терпенских угљоводоника и њихових деривата) код 10 стабала мунике
 Table 1. Content variability of the 19 characteristics (terpene hydrocarbons and their derivatives) of 10 whitebank pine trees

Редни бр. Ordinal	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10	S 11	S 12	S 13	S 14	S 15	S 16	S 17	S 18	S 19
1	10,66	0,52	4,40	2,55	30,99	1,1	9,51	1,59	24,47	0,44	0,46	0,33	0,31	1,34	0,32	0,28	0,20	0,65	2,49
2	13,35	0,38	5,05	2,01	15,02	1,06	12,17	1,86	18,98	0,42	0,51	0,80	0,31	0,74	0,09	0,61	0,14	1,10	1,60
3	11,07	0,54	4,21	2,18	28,44	1,50	7,58	1,30	28,79	0,29	0,57	0,47	0,42	0,38	0,25	0,24	0,15	0,80	3,03
4	6,33	0,37	2,88	1,24	9,50	1,03	12,67	2,05	35,73	0,54	0,61	0,28	0,70	0,40	0,52	0,58	0,31	0,84	3,71
5	16,23	0,65	5,68	2,30	29,71	1,30	8,42	1,40	24,40	0,34	0,74	0,95	0,35	0,29	0,20	0,30	0,23	0,37	1,42
6	37,91	0,65	1,05	1,04	17,79	0,91	8,13	1,48	28,58	0,40	0,32	0,99	0,53	0,08	0,47	0,13	0,15	0,88	1,27
7	22,86	0,96	8,88	2,33	34,23	1,12	7,56	1,21	9,06	0,10	0,11	0,25	0,11	0,22	0,19	0,35	0,16	1,04	1,94
8	4,54	0,21	2,52	1,27	29,02	1,76	11,02	1,78	40,09	0,41	0,62	0,83	0,84	0,20	0,49	0,38	0,14	0,82	2,34
9	8,19	0,42	3,21	2,05	38,04	0,70	7,71	1,28	27,97	0,33	0,85	0,64	0,57	0,23	0,15	0,28	0,25	0,95	1,22
10	4,15	0,29	1,06	1,95	20,44	1,10	6,92	1,91	7,70	0,10	0,15	0,19	0,12	0,34	0,22	0,44	0,12	1,61	3,45
\bar{x}	13,53	0,50	3,89	1,89	25,32	1,16	9,17	1,59	24,58	0,34	0,49	0,57	0,43	0,34	0,29	0,36	0,18	0,91	2,25
S	10,29	0,22	2,34	0,52	9,15	0,30	2,07	0,30	10,37	0,14	0,24	0,31	0,24	0,19	0,15	0,15	0,06	0,32	0,91
V%	76,03	43,52	60,07	27,60	36,13	25,83	22,63	18,75	42,18	42,27	48,65	53,46	55,56	55,25	52,72	41,68	32,95	35,47	40,56
min	4,15	0,21	1,05	1,04	9,50	0,70	6,92	1,21	7,70	0,10	0,11	0,19	0,11	0,08	0,09	0,13	0,12	0,37	1,22
max	37,91	0,96	8,88	2,55	38,04	1,76	12,67	2,05	40,09	0,54	0,85	0,99	0,84	0,74	0,52	0,61	0,31	1,61	3,71
nr	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da	da
n рођено	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
E _{exp}	7,36	0,16	1,67	0,37	6,54	0,21	1,48	0,21	7,42	0,10	0,17	0,22	0,17	0,14	0,11	0,11	0,04	0,23	0,65
E _{ново} (10%)	6,62	0,14	1,50	0,33	5,89	0,19	1,33	0,19	6,68	0,09	0,15	0,20	0,15	0,13	0,10	0,10	0,04	0,21	0,59
n _{ново} (10%)	12	13	12	12	12	13	12	11	12	10	15	13	15	10	10	10	10	12	12

Редни бр. Ordinal	S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S 6	S 7	S 8	S 9	S 10	S 11	S 12	S 13	S 14	S 15	S 16	S 17	S 18	S 19
$E_{\text{ново}} (20\%)$	5,89	0,13	1,34	0,30	5,23	0,17	1,18	0,17	5,94	0,08	0,14	0,18	0,14	0,11	0,09	0,09	0,03	0,18	0,52
$n_{\text{ново}} (20\%)$	16	13	16	15	16	15	16	15	16	10	15	17	15	20	10	10	20	17	16
$E_{\text{ново}} (30\%)$	5,15	0,11	1,17	0,26	4,58	0,15	1,04	0,15	5,19	0,07	0,12	0,15	0,12	0,10	0,08	0,08	0,03	0,16	0,46
$n_{\text{ново}} (30\%)$	20	25	20	20	20	20	20	23	20	20	31	26	31	20	17	17	20	17	20

Легенда / Legend: S1 - α -pinene, S2 - camphene, S3 - β -pinene, S4 - β -pinene, S5 - limonene, S6 - α -terpinolene, S7 - β -caryophyllene, S8 - α -humulene, S9 - germacrene D, S10 - δ -cadinene, S11 - germacrene-D-4-ol, S12 - l-thujolol, S13 - germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol, S14 - kaurene, S15 - phytol, S16 - sandaracopimarinal, S17 - 2-keto-manoool oxide, S18 - methyl arachidionate, S19 - octacosan-1-ol; \bar{x} - средња вредност/Mean, S - стандардна девијација/Standard deviation, V% - коефицијент варијације/ Coefficient of variation, **nr** - провера да ли је расподела нормална, hi-kvadrat test/Test for normal distribution, chi-square test, E_{exp} - фиксирана грешка средње вредности из експерименталних података/Fixed standard error of the mean from the experimental data

$$E_{\text{exp}} = t \cdot \frac{S}{\sqrt{n_{\text{проц}}}}$$

t из таблице за Студентову расподелу за $n_{\text{процент}} - 1 = 9$ степени слободe и 95% ниво поверења; $t=2,26$ (t from table for Student's t distribution, $n_{\text{процент}} - 1 = 9$ degree of freedom and 95% significance level); $E_{\text{ново}}$ = новозадага фиксирана грешка средње вредности умањена у односу на фиксирану грешку средње вредности из експерименталних података, E_{exp} / new fixed standard error of the mean from the experimental data decreased compared to fixed standard error of the mean from the experimental data, E_{exp}

$$n_{\text{ново}} = \frac{t^2 \cdot S^2}{E_{\text{ново}}^2}$$

$n_{\text{ново}}$ = величина новог репрезентативног узорка/size of the new representative sample;

Табела 2. Корелациона матрица 19 својстава (терпенских угљоводоника и њихових деривата) код мунике
 Table 2. Correlation matrix of the 19 characteristics (terpene hydrocarbons and their derivatives) of whitebark pine

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	
S1	1																			
S2	0,704*	1																		
S3	0,136	0,700*	1																	
S4	-0,192	0,378	0,649*	1																
S5	-0,06	0,341	0,424	0,588	1															
S6	-0,293	-0,202	0,082	-0,046	0,106	1														
S7	-0,276	-0,451	-0,045	-0,390	-0,585	0,147	1													
S8	-0,452	-0,725*	-0,499	-0,465	-0,783*	0,085	0,690*	1												
S9	-0,142	-0,415	-0,373	-0,557	-0,108	0,319	0,507	0,158	1											
S10	-0,055	-0,381	-0,284	-0,425	-0,415	-0,004	0,775*	0,399	0,800*	1										
S11	-0,355	-0,369	-0,102	-0,032	0,186	0,057	0,317	-0,066	0,701*	0,606*	1									
S12	0,427	-0,045	-0,16	-0,338	-0,003	0,125	0,136	-0,162	0,432	0,387	0,456	1								
S13	-0,175	-0,503	-0,457	-0,702*	-0,148	0,247	0,516	0,246	0,955*	0,716*	0,638*	0,417	1							
S14	-0,271	-0,119	0,16	0,519	-0,017	-0,064	0,305	0,222	-0,094	0,316	0,006	-0,302	-0,262	1						
S15	0,086	-0,239	-0,501	-0,765*	-0,387	0,267	0,368	0,385	0,674	0,520	0,011	0,062	0,688*	-0,160	1					
S16	-0,539	-0,442	0,09	-0,077	-0,555	0,01	0,701*	0,745*	-0,108	0,175	-0,004	-0,296	-0,008	0,201	-0,109	1				
S17	-0,203	-0,004	0,058	-0,053	-0,064	-0,375	0,329	0,066	0,414	0,516	0,585	-0,002	0,380	0,060	0,217	0,165	1			
S18	-0,183	-0,276	-0,295	-0,112	-0,261	-0,254	-0,193	0,351	-0,580	-0,551	-0,604	-0,461	-0,379	-0,152	-0,226	0,358	-0,470	1		
S19	-0,576	-0,385	-0,257	-0,101	-0,403	0,295	0,183	0,563	0,220	-0,026	-0,240	-0,733*	0,012	0,178	0,358	0,411	0,087	0,324	1	

Легенда / Legend: * Корелација је статистички значајна ($P < 0,05$) (Pearson-ови коефицијенти корелације)

* Correlation is statistically significant ($P < 0,05$) (Pearson correlation coefficients)

4. ДИСКУСИЈА

Ова студија показује да би величина новог репрезентативног узорка могла да буде $n=20$ елемената, на који начин би средња вредност репрезентовала основни скуп са вероватноћом већом од 95 % (а економски била прихватљива).

На основу постављеног критеријума ($2E < \bar{x}$) умањење нове грешке за 10 % у односу на фиксирану грешку средње вредности из експеримента даје нову грешку чија је двострука вредност приближно једнака средњој вредности (Табела 1), што мање одговара постављеном услову репрезентативности. Умањење нове грешке за 20 % у односу на фиксирану грешку средње вредности из експеримента даје нову грешку чија је двострука вредност знатно мања у односу на средњу вредност, што је повољније него у претходном случају. Умањење нове грешке за 30 % у односу на фиксирану грешку средње вредности из експеримента даје нову грешку чија је двострука вредност најмања у односу на средњу вредност података, али даје и веће проширење новог репрезентативног узорка, што по математичком критеријуму највише одговара, али је по економским мерилима истраживања мање оправдано од претходног умањења. На основу изнетих поређења одлучили смо се за умањења нове грешке за 20 % у односу на фиксирану грешку средње вредности из експеримента, и у том случају максимална вредност новог репрезентативног узорка $n=20$ обезбеђује потребну величину узорка за свих 19 својстава.

Двадесет биљака је сасвим довољно да се са предложеном фиксираном грешком средње вредности ($E_{\text{ново}}$) умањеном за 20 % у односу на фиксирану грешку средње вредности (E_{exp}) обезбеди потребна величина узорка. Узорак који третира варијабилност терпенских угљоводоника и њихових деривата у литератури варира, од $n=5$ биљака (Nadian *et al.*, 2011; Kemer *et al.*, 2012), $n=10$ биљака (Segev *et al.*, 2012), $n=30$ биљака (Nikolić *et al.*, 2008) до $n=60$ биљака (Iszkuło *et al.*, 2013). Постоји математички оправдано мишљење да је узорак од $n=30$ довољан јер задовољава нормалну расподелу, али он није увек изводљив. Ови резултати показују да је број анализираних биљака у нашем претходном истраживању хемодиверзитета мунике различитог порекла (30 јединки, Војовић *et al.*, 2012) могао да буде једнако репрезентативан али је садашњи избор од 20 узорака економичнији. Избор узорка величине око 20 елемената потврђују истраживања сличних својстава и код других биљних врста (Andrade *et al.*, 2008; Page *et al.*, 2010; Pholphana *et al.*, 2013). За свих 19 својстава је утврђена нормална расподела фреквенција (Табела 1) али одступање од нормалне расподеле својстава терпена код мунике није ретко. Подаци са садржајем терпенских компоненти често откривају својства са великим стандардним девијацијама (некада већим од средње вредности) које могу да укажу на одступање од нормалне расподеле. Високе стандардне девијације констатоване су у популацијама *Pinus nigra* за $n = 20, 30, 60, 70$ и 80 стабала (Afzal-Rafii *et al.*, 1996) и за $n = 23$ стабла (Roussis *et al.*, 1995), у популацијама *P. monophylla* ssp. *californiarum* за $n = 20$ стабала (Zavarin *et al.*, 1990) и у популацијама *P. canariensis*, *P. halepensis* и *P. brutia* за $n = 23-29$ стабала (Roussis *et al.*, 1995). Високе стандардне

девијације неких терпена указују на могућа одступања од нормалне расподеле која је условљена посебном генетичком контролом. Код таквих терпенских компоненти је у више случајева статистички доказана полимодална (најчешће тримодална) расподела која сугерише моногенетску контролу ових једињења чији је садржај (нижи, средњи и виши) регулисан од стране једног локуса са кододоминантним алелима (Cool and Zavarin, 1992; Војовић и Mitrović, 1997; Ribeiro *et al.*, 2001; Војовић *et al.*, 2005). Управо је овај одабир величине потребног узорка важан због осетљивости варијабилности и могућности различитих расподела својстава терпена код мунике. Повезаност између садржаја 19 терпенских угљоводоника и њихових деривата приказана је у Табели 2. Узајамне везе су већином врло слабе и нису статистички значајне. Значајне корелације постоје између S1, S2 и S3 (α -pinene, camphene и β -pinene, респективно) и јаке су (*sensu* Njegić и Žižić, 1983). Поменуте компоненте, као и S4, S5 и S6 припадају угљоводоничним монотерпенима. Неке од њих показују негативне, јаке корелације са угљоводоничним сесквитерпенима (S8, α -humulene), оксидованим сесквитерпенима (S13, germacre-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol) и оксидованим дитерпенима (S15, phytol). Неки од угљоводоничних сесквитерпена (својства од S7 до S10) су међусобно позитивно јако корелирани, као и са појединим компонентама које припадају оксидованим сесквитерпенима (својства од S11 до S13) и оксидованим дитерпенима (својства од S15 до S17).

5. ЗАКЉУЧЦИ

У случају нашег истраживања варијабилности терпенских угљоводоника и њихових деривата код мунике (19 приказаних својстава) величина новог репрезентативног узорка за сва својства могла би да буде $n=20$ елемената. На тај начин би средња вредност репрезентовала основни скуп са вероватноћом већом од 95 %. Двадесет биљака је сасвим довољно да се са предложеном грешком средње вредности ($E_{\text{ново}}$) умањеном за 20% у односу на фиксирану грешку средње вредности (E_{exp}) која је израчуната при почетном одабиру n , обезбеди репрезентативност и економичност узорка.

Напомена: Овај рад је реализован у оквиру пројеката ОИ-173011, ТР-37002 и ИИИ-43007 које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Стефановић М., Митровић С., Обрадов-Петковић Д.,
Видаковић В., Поповић З., Матић Р., Бојовић С.

ЛИТЕРАТУРА

- Afzal-Rafii, Z., Dodd, R.S., Zavarin, E. (1996): *Genetic diversity in foliar terpenoids among natural populations of european black pine*. Biochemical Systematics and Ecology 24 (4), Elsevier, United Kingdom (325-339)
- Andrade, E.H.A., Carreira, L.M.M., da Silva M.H., da Silva J.D., Bastos, C.N., Sousa, P.J., Guimarães, E.F., Maia, J.G.S. (2008): *Variability in Essential-Oil Composition of Piper marginatum sensu lato*. Chemistry & Biodiversity 5 (1), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (197-208)
- Bartlett, J.E., II, Kotrlik, J.W., Higgins, C. (2001): *Organizational research: Determining appropriate sample size for survey research*. Information Technology, Learning, and Performance Journal, 19 (1), Organizational Systems Research Association, United States (43-50)
- Bojovic, S., Jurc, M., Drazic, D., Pavlovic, P., Mitrovic, M., Djurdjevic, L., Dodd, R., Afzal-Rafii Z. and Barbero M. (2005): *Geographical variation and origin identification of Pinus nigra populations in Southwestern Europe*. Trees - Structure and Function 19 (5), Springer-Verlag, Germany (531-538)
- Bojović, S., Mitrović, S. (1997): *Suggestion of monogenic heredity β -pinene and myrcene concerning black pine*. „Proceedings of the 3rd International Conference on the Development of Forestry, Wood Science and Technology“, Belgrade & Mt Goč (60-64)
- Bojović, S., Mitrović, S. (2010): *Biostatistika*. Institut za šumarstvo, Beograd.
- Bojović, S., Nikolić, B., Ristić, M., Orlović, S., Veselinović, M., Rakonjac, Lj., Dražić, D. (2011): *Variability in Chemical Composition and Abundance of the Rare Tertiary Relict Pinus heldreichii in Serbia*. Chemistry & Biodiversity 8 (9), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (1754-1765)
- Bojović, S., Šarac, Z., Nikolić, B., Tešević, V., Todosijević, M., Veljić, M. and Petar D. Marin, P.D (2012): *Composition of n-Alkanes in natural populations of Pinus nigra from Serbia - a chemotaxonomic implications*. Chemistry & Biodiversity 9 (12), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (2761-2774)
- Cool, L.G., Zavarin, E. (1992): *Terpene variability of Mainland Pinus radiata*. Biochemical Systematics and Ecology 20 (2), Elsevier, United Kingdom (133-144)
- Eng, J. (2003): *Sample Size Estimation: How Many Individuals Should Be Studied?* Radiology, 227 (2), Radiological Society of North America, Inc., United States (309-313)
- Hadian, J., Mirjalilia, M.H., Kananib, M.R., Salehnia, A. and Ganjipoorc, P. (2011): *Phytochemical and Morphological Characterization of Satureja khuzistanica Jamzad Populations from Iran*. Chemistry & Biodiversity 8 (5), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (902-915)
- Iszkuło, G., Kosiński, P., Hajnos, M. (2013): *Sex influences the taxanes content in Taxus baccata*. Acta Physiologiae Plantarum 35 (1), Polish Academy of Sciences, Franciszek Gorski Institute of Plant Physiology, Poland (147-152)
- Kremer, D., Stabentheiner, E., Dunkić, V., Dragojević Müller, I., Vujić, L., Kosalec, I., Ballian, D., Bogunić, F., Bezić, N. (2012): *Micromorphological and Chemotaxonomical Traits of Micromeria croatica (Pers.) Schott*. Chemistry & Biodiversity 9 (4), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (755-768)

- Miceli, A., Negro, C., Tommasi, L. (2006): *Essential oil variability in Thymbra capitata (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy)* Biochemical Systematics and Ecology 34 (6), Elsevier, United Kingdom (528-535)
- Nikolić, B., Ristić, M., Bojović, S., Marin, P.D. (2008): *Variability of the Needle Essential Oils of Pinus peuce from Different Populations in Montenegro and Serbia*. Chemistry & Biodiversity 5 (7), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (1377-1388)
- Njegić, R., Žižić, M. (1983): *Osnovi statističke analize*. Savremena Administracija.0 Beograd
- Ormeño, E., Céspedes, B., Sánchez, I.A., Velasco-García, A., Moreno, J.M., Fernandez, C., Baldy, V. (2009): *The relationship between terpenes and flammability of leaf litter*. Forest Ecology and Management 257 (2), Elsevier, United Kingdom (471-482)
- Page, T., Southwell, I., Russell, M., Tate, H., Tungon, J., Sam, Ch., Dickinson, G., Robson, K., Leakey, R.R.B. (2010): *Geographic and Phenotypic Variation in Heartwood and Essential-Oil Characters in Natural Populations of Santalum austrocaledonicum in Vanuatu*, Chemistry & Biodiversity 7 (8), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (1990-2006)
- Petz, B. (1970): *Osnovi statističke metode*. Sveučilište u Zagrebu. Zagreb
- Pholphana, N., Rangkadilok, N., Saehun, J., Ritruethai, S., Satayavivad, J. (2013): *Changes in the contents of four active diterpenoids at different growth stages in Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees (Chuanxinlian)*. Chinese Medicine 8 (2), International Society for Chinese Medicine, China (doi:10.1186/1749-8546-8-2) (1-12)
- Ribeiro, M.M., LeProvost, G., Gerber, S., Vendramin, G.G., Anzidei, M., Decroocq, S., Marpeau, A., Mariette, S., Plomion, C. (2001): *Origin identification of maritime pine stands in France using chloroplast single-sequence repeats*. Annals of Forest Science 59 (1), EDP Sciences, France (53-62)
- Roussis, V., Petrakis, P.V., Ortiz, A., Mazomenoe, B.E. (1995): *Volatile constituents of needles of five Pinus species grown in Greece*. Phytochemistry 39 (2), Elsevier, United Kingdom (357-361)
- Segev, D., Nitzan, N., Chaimovitsh, D., Eshel, A., Dudai, N. (2012) *Chemical and Morphological Diversity in Wild Populations of Mentha longifolia in Israel*. Chemistry & Biodiversity 9 (3), Wiley - V C H Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany (577-588)
- Thompson, J.D., Chalchat, J.-C., Michet, A., Linhart, Y.B., Ehlers, B. (2003): *Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of Thymus vulgaris chemotypes*. Journal of Chemical Ecology 29(4), Plenum US, United States (859-880)
- Tošić, M. (1959): *Nova nalazišta munike (Pinus heldreichii Christ) u Srbiji*. Šumarstvo 12 (9-10), Društvo šumarskih inženjera i tehničara Srbije (485-490)
- Tucović, A. (1975): *Praktikum iz genetike sa oplemenjivanjem biljaka*. Univerzitet u Beogradu – Šumarski fakultet
- Zavarin, E., Snajberk, K., Cool, L. (1990): *Chemical Differentiation in Relation to the Morphology of the Single-Needle Pinyons*. Biochemical Systematics and Ecology 18 (2/3), Elsevier, United Kingdom (125-137)

Стефановић М., Митровић С., Обрадов-Петковић Д.,
Видаковић В., Поповић З., Матић Р., Бојовић С.

Milena Stefanović
Slobodanka Mitrović
Dragica Obratov-Petković
Vera Vidaković
Zorica Popović
Rada Matić
Srđan Bojović

ASSESSING TERPENE CONTENT VARIABILITY OF WHITEBARK PINE IN ORDER TO ESTIMATE REPRESENTATIVE SAMPLE SIZE

Summary

This study deals with a determination of the sample size in order to obtain sufficiently reliable generalization to the entire population. The primary set represents the largest whitebark pine population in Serbia (over 100 trees), which is located on Pešter (West Serbia). Whitebark pine is a tertiary relict and a Balcanic subendemite and it is an endangered species in Serbia. The initial sample included data on the variability of terpene content of 10 trees selected from this population. The statistical analysis included 19 characteristics (terpene hydrocarbons and their derivatives). For each characteristic we tested the basic statistical parameters and normality of distribution (chi-squared test). The rule of representativeness was set: double value of fixed standard error of the mean should not exceed the mean ($2E < \bar{x}$). To determine the size of the new representative sample ($n_{\text{ novo}}$), we first calculated the fixed standard error of the mean from the experimental data ($E_{\text{ exp}}$). After that, we calculated the new fixed standard error of the mean ($E_{\text{ novo}}$) by progressively decreasing the fixed standard error of the mean ($E_{\text{ exp}}$) from experimental data by 10 %, 20 % and 30 %. It was determined that the new sample should contain 20 trees so that the mean value calculated from it represents the basic set with a probability higher than 95 %.