

Izolacija rizosfernih bakterij in gliv bukve (*Fagus sylvatica* L.) in jelke (*Abies alba* Mill.) ter testiranje izolatov na rastlinam koristne lastnosti

Robert Logar¹, Tina Unuk Nahberger¹

¹ Gozdarski inštitut Slovenije, Večna pot 2, SI-1000 Ljubljana

E-naslov: robert.logar@gozdis.si

POUDARKI:

- Iz rizosfere navadne bukve (*Fagus sylvatica* L.) in navadne jelke (*Abies alba* Mill.) smo izolirali bakterijske in glivne seve kot potencialne rastlinam koristne mikroorganizme.
- Izolati so bili ovrednoteni glede na izbrane rast spodbujajoče (PGP) lastnosti, povezane z dostopnostjo hranil, hormonsko regulacijo in odzivom rastlin na stres.
- Preliminarni rezultati predstavljajo osnovo za izbor avtohtonih sevov in oblikovanje mikrobnih konzorcijev za nadaljno inokulacijo sadik.

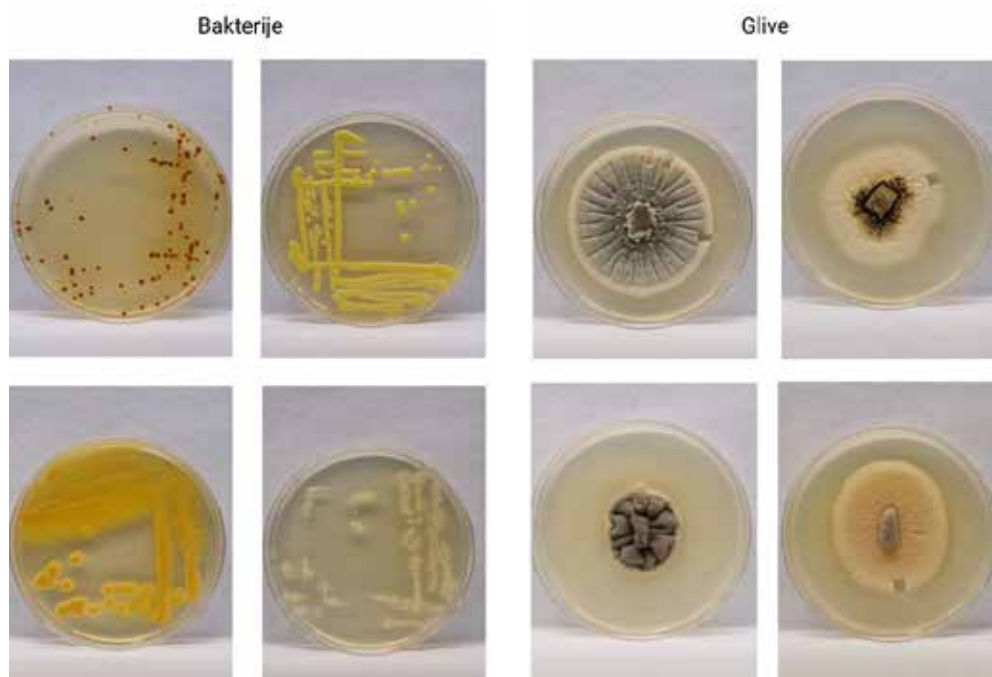
VSEBINA:

Obnova gozdov je kompleksen proces, na katerega vplivajo številni biotski in abiotski dejavniki. V zadnjih letih je uspešna obnova gozdov vse zahtevnejša, saj so sadike gozdnega drevja po sadnji izpostavljene večjim podnebnim nihanjem, predvsem pogostejšim in intenzivnejšim sušam (Sanchez-Cruz in sod., 2020; Ahangar in sod., 2012). Ena od možnosti za izboljšanje kakovosti gozdnih sadik in povečanje njihovega preživetja v fazi prilagajanja na okoljske razmere po presaditvi, je inokulacija z avtohtonimi mikroorganizmi (Su in sod., 2017; Castillo-Arguero in sod., 2014). Rastlinam koristni mikroorganizmi – (PGPM) lahko izboljšajo dostopnost hranil, zmanjšajo vpliv abiotskega in biotskega stresa ter spodbudijo zgodnjo rast rastlin. Uporaba takšnih mikroorganizmov lahko prispeva k razvoju vitalnejših gozdnih sadik in posledično k večjemu preživetju po sadnji (Lucas Garcia in sod., 2004). V gozdarstvu je uporabnost PGPM še razmeroma slabo raziskana. Razvoj in uporaba avtohtonih bakterijskih in glivnih inokulantov, predstavlja eno izmed bolj obetavnih metod, zaradi njihove prilagojenosti na lokalne rastiščne razmere (Rostamikia in sod., 2016; São José in sod., 2019; Pugnaire in sod., 2025).

S tem namenom smo v naši raziskavi, v bukovo-jelovem gozdu na območju Turjaka, izolirali bakterijske in glivne seve iz rizosfere navadne jelke (*Abies alba* Mill.) in navadne bukve (*Fagus sylvatica* L.). Vzorce tal z drobnimi koreninami in rizosferno zemljo smo odvzeli s sondo za vzorčenje tal. V laboratoriju smo iz vzorca zemlje ločili drobne korenine in iz teh z homogenizacijo pripravili suspenzije vzorcev. Različne serijske redčitve smo v treh ponovitvah nacepili na selektivna gojišča, natančneje na triptikaza-sojin agar (TSA) za izolacijo bakterij ter krompirjev dekstrozni agar (PDA) za izolacijo gliv. Morfološko različne kolonije oziroma micelije smo z zaporednim precepljanjem prenašali na sveža gojišča, do pridobitve čistih kolonij (Slika 1).

Izbrane bakterijske in glivne izolate smo nato testirali na prisotnost rastlinam koristnih lastnosti. Produkcijo indol-3-očetne kisline (IAA) smo preverjali s Salkowskim reagentom, pri čemer razvoj rožnate do rdečkaste barve nakazuje potencialno sposobnost tvorbe IAA (Slika 2). IAA kot rastlinski hormon vpliva predvsem na razvoj koreninskega sistema, tvorbo stranskih korenin in s tem na sposobnost rastlin za privzem vode in hranil (Glick, 2020).

Slika 1: Čiste kulture bakterij in gliv izolirane iz rizosfere bukve in jelke.

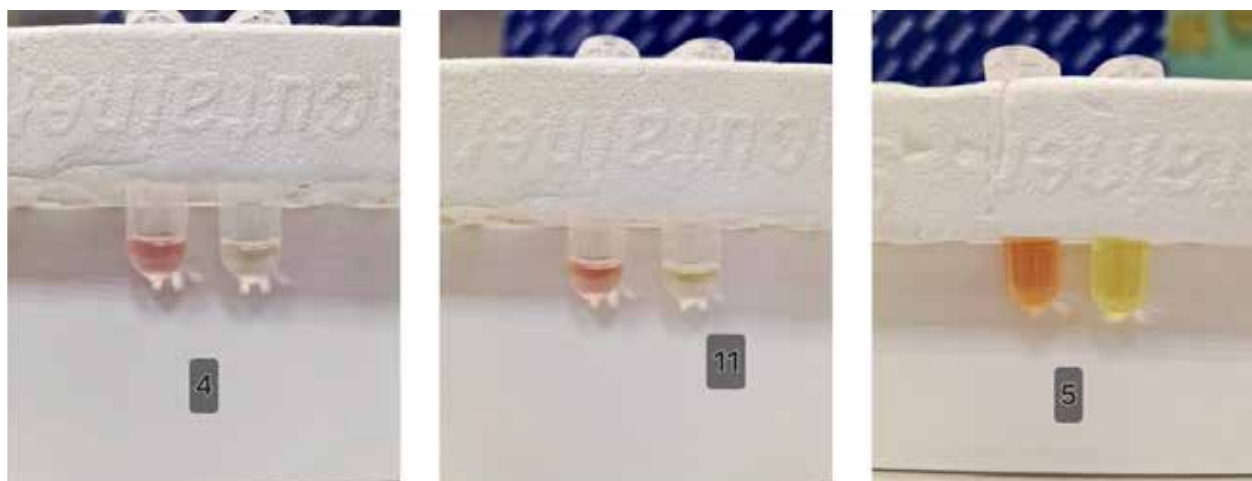


Aktivnost 1-aminociklopropan-1-karboksilne kislinke (ACC) deaminaze smo preverjali z sposobnostjo rasti izolatov na DF-minimalnem gojišču z ACC kot edinim virom dušika. Kot pozitiven rezultat smo opredelili rast na ACC gojišču, ki je bila boljša kot na negativni kontroli brez dodanega dušika in primerljiva z rastjo na pozitivni kontroli z dostopnim drugim virom dušika. Takšen odziv nakazuje, da lahko izolat uporablja ACC kot vir dušika (Slika 3). Mikroorganizmi s to sposobnostjo, potencialno zmanjšajo nastajanje stresnega etilena v rastlinah in s tem omilijo negativne učinke abiotičnega stresa, kot sta suša ali presaditveni šok (Diniz in sod., 2025).

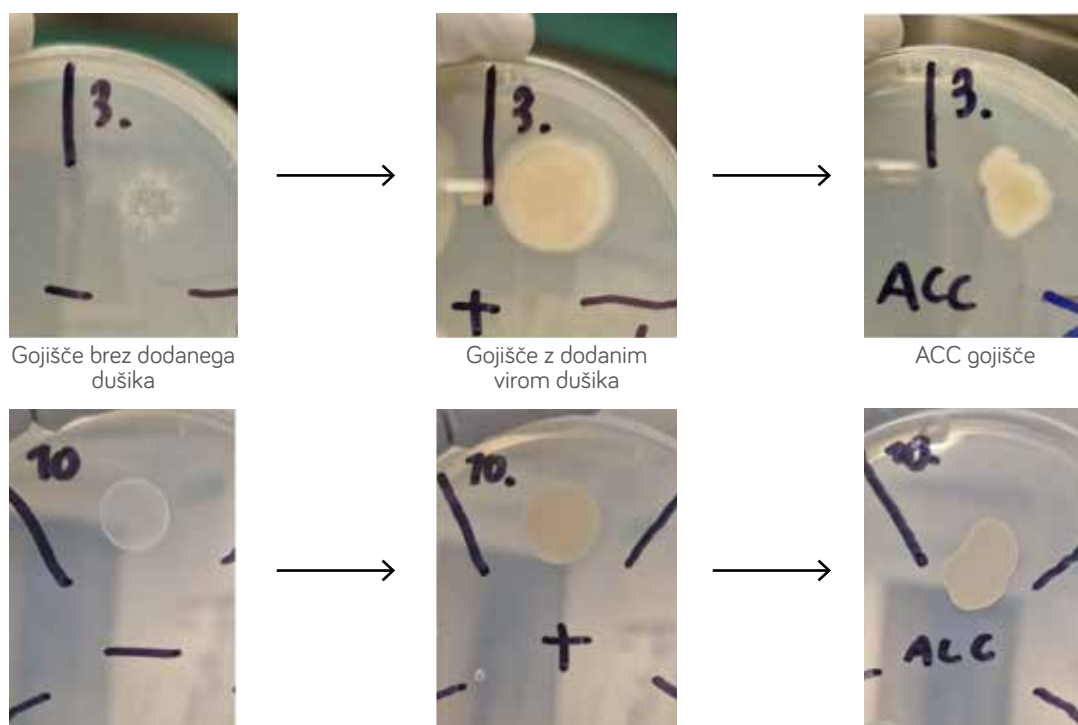
Solubilizacijo fosfata smo preverjali na NBRIP gojišču, kjer nastanek čistih con okoli kolonij oziroma micelija nakazuje sposobnost mobilizacije težje dostopnih oblik fosforja (Slika 4a). Ta lastnost je pomembna, ker je fosfor v tleh pogosto prisoten v rastlinam slabo dostopnih oblikah, mikroorganizmi pa ga lahko pretvorijo v dostopnejše oblike in z tem povečajo privzem le tega.

Produkcijo sideroformov smo ugotavljali na CAS gojišču, kjer pojav rumeno-oranžnih con okoli kolonij kaže na sposobnost vezave železa (Slika 4b). Siderofori mikroorganizmom omogočajo pridobivanje železa v tleh, hkrati pa lahko z vezavo železa zmanjšajo njegovo dostopnost nekaterim patogenim mikroorganizmom.

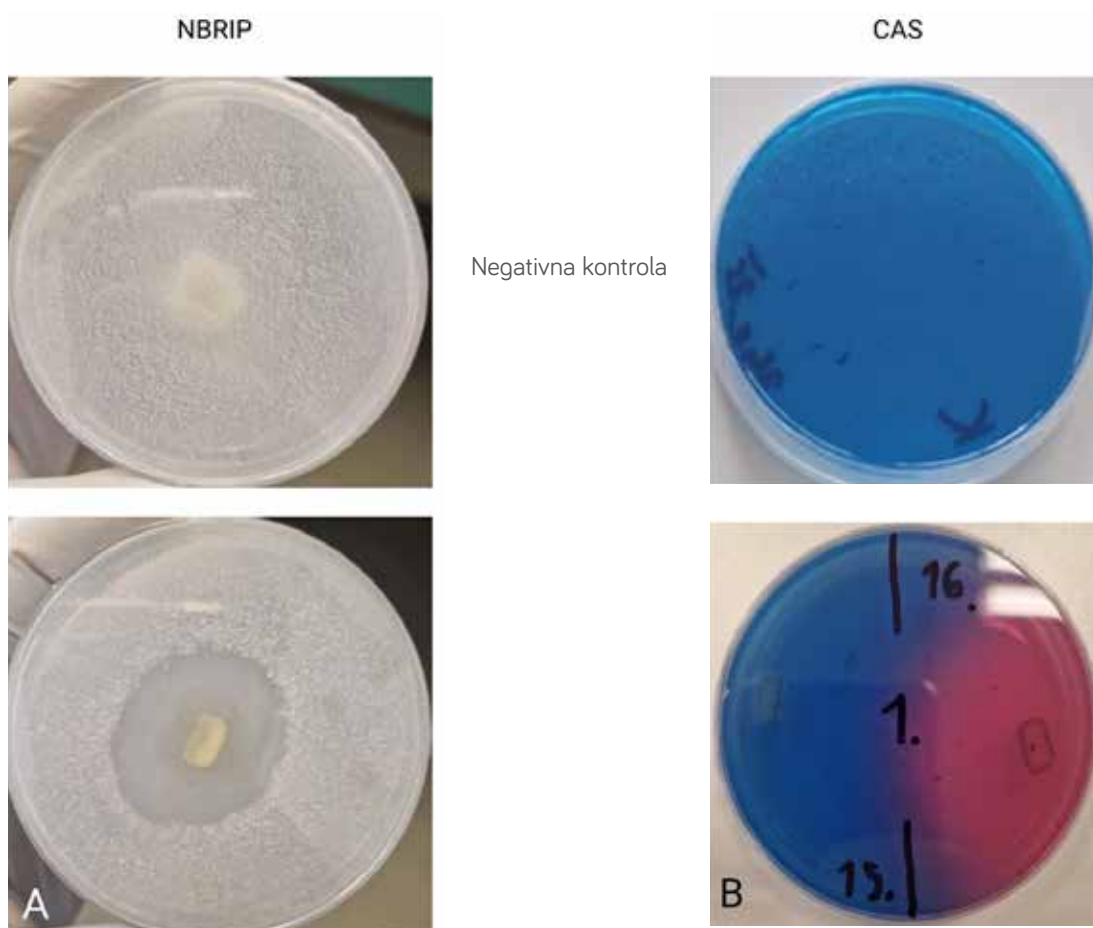
Slika 2: Test sposobnosti produkcije IAA izoliranih bakterij in gliv. Desne epruvete predstavljajo kontrolne vzorce, za primerjavo z izolati v levih epruvetah.



Slika 3: Primerjava rasti izolatov na različnih gojiščih.



Slika 4: Testa solubilizacije fosfata in produkcije sideroforov.



Preliminarni rezultati kažejo, da izbrani bakterijski in glivni izolati iz rizosfere bukve in jelke izkazujejo funkcionalni potencial, povezan z rast spodbujajočimi lastnostmi. Po opravljenih testih, bomo potencialno rast spodbujajoče bakterijske in glivne seve molekularno identificirali s sekvenciranjem 16S rRNA gena (bakterije) in ITS regije (glive). Združljivost potencialnih sevov bomo z laboratorijskimi pristopi preverili in oblikovali različne kombinacije bakterijskih in glivnih izolatov z namenom ugotavljanja njihovega morebitnega sinergijskega učinka. V zaključnem koraku bo sledilo inokulacija sadik bukve in jelke z izbranimi posameznimi sevi ali mikrobnimi konzorciji.

Pri interpretaciji rezultatov je treba upoštevati, da pozitivni odzivi v laboratorijskih testih kažejo na funkcionalni potencial izolatov, ne dokazujejo pa še njihovega neposrednega vpliva na rast in preživetje sadik v drevesnicah ali naravnem okolju. Učinki rastlinam koristnih mikroorganizmov so namreč pogosto odvisni od gostiteljske rastline, sestave mikrobnega konzorcija in specifičnih okoljskih razmer. Kljub temu imajo avtohtoni, iz lokalnega okolja izolirani mikroorganizmi velik potencial, saj so prilagojeni razmeram ciljnega rastišča. Takšen pristop podpira razvoj lokalno prilagojenih mikrobnih inokulantov kot možnega orodja za izboljšanje uspešnosti obnove gozdov (Pugnaire in sod., 2025; Xing in sod., 2024).

LITERATURA IN VIRI:

Ahangar, A., Dar, G. H., Ahangar, A., Bhat, Z. A., 2012. Growth response and nutrient uptake of blue pine (*Pinus wallichiana*) seedlings inoculated with rhizosphere microorganisms under temperate nursery conditions. *Annals of Forest Research*, 55, 217–227. <https://doi.org/10.15287/afr.2012.62>

Castillo-Argüero, S., Martínez-Orea, Y., Barajas-Guzmán, G., 2014. Establecimiento de tres especies arbóreas en la cuenca del río Magdalena, México. *Botanical Sciences*, 92, 309–317.

Diniz, F. V., Scherwinski-Pereira, J. E., Costa, F. H. S., Carvalho, C. M., 2025. Effects on plant physiology in response to inoculation of growth-promoting bacteria: systematic review. *Brazilian Journal of Biology*, 85. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.287279>

García, J. A. L., Domenech, J., Santamaría, C., Camacho, M., Daza, A., Mañero, F. J. G., 2004. Growth of forest plants (pine and holm-oak) inoculated with rhizobacteria: relationship with microbial community structure and biological activity of its rhizosphere. *Environmental and Experimental Botany*, 52, 239–251.

Glick, B. R., 2020. Modulating phytohormone levels. V: Glick, B. R. (ur.), *Beneficial plant-bacterial interactions*. Springer,

Switzerland, 139–180. https://doi.org/10.1007/978-3-030-44368-9_5

Pugnaire, F., Díaz-Santiago, E., Hurtado-Martínez, M., et al., 2025. Microbial effects and home-field advantage in holm oak (*Quercus ilex*) germination. *Ecosphere*, 16. <https://doi.org/10.1002/ecs2.70251>

Rostamikia, Y., Kouchaksaraei, M. T., Asgharzadeh, A., 2016. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and cold stratification on seed germination and early growth of *Corylus avellana* L. *Austrian Journal of Forest Science*, 4, 337–352. https://doi.org/10.1007/978-90-481-8661-7_63

Sánchez-Cruz, N. D., Meza-Contreras, J. C., Escalante, F. M., Macías-Rodríguez, M. E., Salcedo-Perez, E., González-García, Y., 2020. Phosphate solubilization and indole-like compounds production by bacteria isolated from forest soil with plant growth promoting activity on pine seedlings. *Geomicrobiology Journal*, 37, 909–918.

São José, J. F. B., Volpiano, C. G., Vargas, L. K., Hernandez, M. A. S., Lisboa, B. B., Schlindwein, G., 2019. Influence of hot water on breaking dormancy, incubation temperature and rhizobial inoculation on germination of *Acacia mearnsii* seeds. *Australian Forestry*, 82, 157–161. <https://doi.org/10.1080/00049158.2019.1636350>

Su, P., Tan, X., Li, C., Zhang, D., Cheng, J., Zhang, S., Zhou, X., Yan, Q., Peng, J., Zhang, Z., Liu, Y., Lu, X., 2017. Photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris* GJ-22 induces systemic resistance against viruses. *Microbial Biotechnology*, 10, 612–624. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12704>

Xing, W., Gai, X., Xue, L., Chen, G., 2024. Evaluating the Role of Rhizosphere Microbial Home-Field Advantage in *Betula luminifera* Adaptation to Antimony Mining Areas. *Science of the Total Environment*, 912. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.169009>

KLJUČNE BESEDE:

rizosfera, rastlinam koristni mikroorganizmi, bukev, jelka, obnova gozdov

ZAHVALE:

Raziskava je bila financirana v okviru raziskovalnega programa P4-0107 Gozdna biologija, ekologija in tehnologija (ARIS), sheme Mladi raziskovalci na podlagi pogodbe PSF-MR-0404, dodeljene RL (ARIS št. 61229), ter Javne gozdarske službe / Gozdarskega inštituta Slovenije (MKGP).