



GOZDARSKI INŠTITUT SLOVENIJE
SLOVENIAN FORESTRY INSTITUTE

**Predhodna analiza talnih lastnosti in mikrobnih kazalnikov v
bukovih sestojih z različnim načinom gospodarjenja na območju
Kočevja**

Nataša Šibanc, Daniel Žlindra, Natalija Dovč, Tine Grebenc, Barbara Štupar, Veronika Končan,
Saša Ogorevc, David Debevec, Marko Bajc, Hojka Kraigher

Ljubljana, 2026

Kolofon:

Naslov publikacije: **Predhodna analiza talnih lastnosti in mikrobnih kazalnikov v bukovih sestojih z različnim načinom gospodarjenja na območju Kočevja**

Avtorji: Nataša Šibanc, Daniel Žlindra, Natalija Dovč, Tine Grebenc, Barbara Štupar, Veronika Končan, Saša Ogorevc, David Debevec, Marko Bajc, Hojka Kraigher

CC BY 4.0

DOI: 10.20315/gis1001

Založnik: Gozdarski inštitut Slovenije

Ljubljana, 2026

Podatki o sofinancerjih: ARIS V4-2222, P4-0107, IO-0012.

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE	3
KAZALO SLIK.....	4
KAZALO PREGLEDNIC.....	4
UVOD	5
MATERIAL IN METODE	6
Lokacija	6
Vzorčenje tal in korenin z rizosfero	9
Pedološke analize tal	9
Molekularne metode.....	9
Obdelava podatkov	10
REZULTATI	11
Talne lastnosti	11
Koncentracije PCR produktov	12
RAZPRAVA	15
POVZETEK	16
REFERENCE	17

KAZALO SLIK

- Slika 1 Slike vzorčenih lokacij na in ob območju pragozda Rajhenavski Rog. Zgoraj sta prikazani lokaciji vzorčeni v negospodarjenem gozdu (pragozd Rajhenavski Rog), spodaj v gospodarjenem gozdu. Levi sliki prikazujeta goščo, desni sliki pa debeljak. Izbrane slike so iz lokacij so a) P-G-01 b) P-D-01, c) G-G-03 in d) G-D-01. 8
- Slika 2 Povprečne vrednosti (\pm SE) talnih spremenljivk za posamezne kombinacije območja (pragozd, gospodarjeno) in tipa sestoja (goščo, debeljak). Posamezni paneli prikazujejo: organski ogljik (C_org), skupni ogljik (C_tot), skupni dušik (N_tot), pH tal, rastlinam dostopni kalij (plant_avail_K) in rastlinam dostopni fosfor (plant_avail_P). Črke nad stolpci predstavljajo kompaktne črkovne oznake na osnovi Tukeyevega HSD pri $\alpha = 0,05$; stolpci z isto črko se znotraj posameznega panela statistično ne razlikujejo..... 12

KAZALO PREGLEDNIC

- Preglednica 1 Seznam lokacij s koordinatami..... 6
- Preglednica 2 Rezultati pedološke analize tal. 11
- Preglednica 3 Koncentracija očiščenih PCR pomnožkov združb gliv in bakterij 13

UVOD

Zmerni gozdovi, v katerih prevladuje navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), predstavljajo temelj celinske biotske raznovrstnosti, biogeokemičnega kroženja in sekvestracije ogljika v srednji in zahodni Evropi. Za te ekosisteme so značilne interakcije med nadzemno in podzemno bioto, kjer drevesa, tla in mikrobne združbe uravnavajo razgradnjo, razpoložljivost hranil in uravnavajo odpornost gozdov na okoljski stres (Baldrian, 2017; Baldrian, López-Mondéjar & Kohout, 2023). Mikrobne združbe, povezane s tlemi in koreninami – ki vključujejo glive, bakterije, arheje, protiste in viruse – so še posebej pomembne, saj sodelujejo pri kroženju ogljika in dušika, vplivajo na rast in zdravje dreves ter ščitijo ekosisteme pred motnjami, ki jih povzročajo podnebne spremembe. Samo mikorizne glive lahko drevesom v zmernih gozdovih zagotovijo do 80 % dušika in 75 % fosforja, bakterije pa prispevajo k razgradnji, kroženju dušika (z nitrifikacijo, denitrifikacijo in fiksacijo N₂) in preprečevanju mineralov (van der Heijden, Bardgett & van Straalen, 2008; Baldrian, 2017).

Gospodarjenje z gozdovi spreminja količino in kakovost organskih vnosov (opad, odmrli les, koreninski izločki) in spreminja mikroklimatske razmere, kar ima kaskadne učinke na mikrobno raznolikost, strukturo in delovanje (Goldmann et al., 2015; Purahong et al., 2015). Intenzivne prakse, kot so redčenje, golosečnja in odstranjevanje odmrlega lesa, zmanjšujejo heterogenost habitata, kar pogosto vodi do zmanjšane ektomikorizne raznolikosti in premikov k bolj oportunističnim, na motnje tolerantnim taksonom (Urbanová, Šnajdr & Baldrian, 2015). Nasprotno pa negospodarjeni sestoji ohranjajo kompleksne horizonte opada in tal, ki podpirajo raznolike glivne in bakterijske združbe, vključno s specializiranimi saprotrofi in ektomikoriznimi simbionti (Štursová et al., 2014; Mammadashvili et al., 2024).

Starost sestoja dodatno modulira te odzive. V mladih bukovih sestojih omejene količine odmrlega lesa spodbujajo hitro rastoče bakterijske linije (npr. proteobakterije) in pionirske glive, ki izkoriščajo labilne vire ogljika, medtem ko ektomikorizno raznolikost omejujejo manjši in manj razviti koreninski sistemi (Buée et al., 2009; Baldrian, 2017). V nasprotju s tem se v starejših sestojih kopiči več opada, velikih lesnih ostankov in dobro razvitih koreninskih sistemov, ki zagotavljajo substrate za ligninolitične glive, počasi rastoče oligotrofne bakterije in kompleksne ektomikorizne mreže (Clemmensen et al., 2013; Goldmann et al., 2015). Gozdnogospodarski ukrepi, ki homogenizirajo gozdno strukturo ali skrajšajo cikle rotacije, ne omogočajo razvoja bogatejših poznosukcesijskih mikrobnih združb, kar ima lahko dolgoročen vpliv na rodovitnost tal, shranjevanje ogljika in odpornost gozdov na globalne spremembe (Baldrian et al., 2023).

Kljub napredku pri visokozmogljivem sekvenciranju in študijah na ravni ekosistema so vplivi gospodarjenja z gozdovi na razvoj sestojev in oblikovanje talnih in koreninskih mikrobnih združb v bukovih gozdovih še vedno premalo raziskani. Odprava te vrzeli je ključnega pomena za oblikovanje gozdnogospodarskih strategij, ki ohranjajo tako produktivnost kot mikrobno biotsko raznovrstnost, s čimer se krepi stabilnost ekosistema ob vse večji podnebni spremenljivosti.

MATERIAL IN METODE

Lokacija

Na območju Kočevja smo 21 in 26.5. 2025 vzorčili na območju pragozdnega rezervata Rajhenavski Rog, ter v njegovi neposredni bližini na območju gospodarjenega gozda. V obeh območjih smo povzorčili tla v bukovem sestoj, v gošči (4x) in debeljaku (4x), skupno torej na 16 ploskvah (preglednica 1). Vzorčenja smo izvedli v okviru projekta *Ukrepi za ohranjanje biotske raznovrstnosti v gozdnih ekosistemih* (CRP V4-2222, ARIS).

Preglednica 1 Seznam lokacij s koordinatami

oznaka vzorca	ploskev	gospodarjenje	tip	koordinate
G_D01_01	G_D01	gospodarski gozd	debeljak	45.6730565, 15.002875
G_D01_02	G_D01	gospodarski gozd	debeljak	45.6730989, 15.0028846
G_D01_03	G_D01	gospodarski gozd	debeljak	45.6730931, 15.0030337
G_D02_01	G_D02	gospodarski gozd	debeljak	45.6548353, 15.0025935
G_D02_02	G_D02	gospodarski gozd	debeljak	45.6547658, 15.0026
G_D02_03	G_D02	gospodarski gozd	debeljak	45.6547243, 15.0026845
G_D03_01	G_D03	gospodarski gozd	debeljak	45.664314, 14.99013
G_D03_02	G_D03	gospodarski gozd	debeljak	45.664397, 14.991922
G_D03_03	G_D03	gospodarski gozd	debeljak	45.664821, 14.9903
G_D04_01	G_D04	gospodarski gozd	debeljak	45.662286, 14.990945
G_D04_02	G_D04	gospodarski gozd	debeljak	45.662286, 14.990945
G_D04_03	G_D04	gospodarski gozd	debeljak	45.662352, 14.990733
G_G01_01	G_G01	gospodarski gozd	gošča	45.6730007, 15.0016531
G_G01_02	G_G01	gospodarski gozd	gošča	45.6730232, 15.0015722
G_G01_03	G_G01	gospodarski gozd	gošča	45.672997, 15.0015528
G_G02_01	G_G02	gospodarski gozd	gošča	45.6726632, 14.9938758
G_G02_02	G_G02	gospodarski gozd	gošča	45.6726217, 14.9937324
G_G02_03	G_G02	gospodarski gozd	gošča	45.6726806, 14.9937917
G_G03_01	G_G03	gospodarski gozd	gošča	45.6679775, 14.9905126
G_G03_02	G_G03	gospodarski gozd	gošča	45.66799, 14.9904455
G_G03_03	G_G03	gospodarski gozd	gošča	45.6680301, 14.9904754
G_G04_01	G_G04	gospodarski gozd	gošča	45.6520582, 15.0090011
G_G04_02	G_G04	gospodarski gozd	gošča	45.6519704, 15.0089468
G_G04_03	G_G04	gospodarski gozd	gošča	45.6520524, 15.0090412
P_D01_01	P_D01	pragozd	debeljak	45 39 42 N, 15 0 25 E
P_D01_02	P_D01	pragozd	debeljak	45 43 34 N, 15 0 24 E
P_D01_03	P_D01	pragozd	debeljak	45 39 42 N, 15 0 24 E
P_D02_01	P_D02	pragozd	debeljak	45 39 52 N, 15 0 22 E
P_D02_02	P_D02	pragozd	debeljak	45 39 52 N, 15 0 21 E

P_D02_03	P_D02	pragozd	debeljak	45 39 52 N, 15 0 22 E
P_D03_01	P_D03	pragozd	debeljak	45 39 51 N, 15 0 11 E
P_D03_02	P_D03	pragozd	debeljak	45 39 50 N, 15 0 12 E
P_D03_03	P_D03	pragozd	debeljak	45 39 51 N, 15 0 13 E
P_D04_01	P_D04	pragozd	debeljak	45.659776, 15.009116
P_D04_02	P_D04	pragozd	debeljak	45,65988, 15,00905
P_D04_03	P_D04	pragozd	debeljak	45,65998, 15,00893
P_G04_01	P_G04	pragozd	gošča	45 39 45 N, 15 0 22 E
P_G04_02	P_G04	pragozd	gošča	45 39 45 N, 15 0 23 E
P_G04_03	P_G04	pragozd	gošča	45 39 44 N, 15 0 23 E
P_G05_01	G_G05	pragozd	gošča	45 39 53 N, 15 0 26 E
P_G05_02	G_G05	pragozd	gošča	45 39 54 N, 15 0 26 E
P_G05_03	G_G05	pragozd	gošča	45 39 53 N, 15 0 27 E
P_G06_01	G_G06	pragozd	gošča	45 39 54 N, 15 0 15 E
P_G06_02	G_G06	pragozd	gošča	45 39 55 N, 15 0 14 E
P_G06_03	G_G06	pragozd	gošča	45 39 55 N, 15 0 13 E
P_G07_01	G_G07	pragozd	gošča	45.659046, 15.009606
P_G07_02	G_G07	pragozd	gošča	45.659036, 15.009623
P_G07_03	G_G07	pragozd	gošča	45.659271, 15.009383

a)



b)



c)



d)



Slika 1 Slike vzorčenih lokacij na in ob območju pragozda Rajhenavski Rog. Zgoraj sta prikazani lokaciji vzorčeni v negospodarjenem gozdu (pragozd Rajhenavski Rog), spodaj v gospodarjenem gozdu. Levi sliki prikazujeta goščo, desni sliki pa debeljak. Izbrane slike so iz lokacij so a) P-G-01 b) P-D-01, c) G-G-03 in d) G-D-01.

Vzorčenje tal in korenin z rizosfero

Na vsaki ploskvi smo odvzeli talne vzorce na 3 točkah s čistimi in površinsko steriliziranimi (natrijev hipoklorit) plastičnimi sondami z notranjim premerom 3,5 cm do globine 10 cm. Odstranili smo plast nerazgrajenih rastlinskih ostankov, posameznih talnih horizontov pa nismo ločevali. Vzorce smo shranili v označenih PVC-vrečkah in jih obdelali takoj po vrnitvi v laboratorij. Iz vsakega vzorca smo ročno pobrali korenine skupaj z rizosfernimi tlemi za analize talnega mikrobioma (bakterije, glive), ostanek tal pa smo razdelili na dva dela. Manjši del tal za analize talnega mikrobioma (bakterije, glive), drugi del vseh treh vzorcev s pozamezne ploskve pa smo združili skupaj v en homogeniziran vzorec na ploskev za fizikalno-kemijske analize tal.

Pedološke analize tal

V zračno sušenem vzorcu tal smo analizirali pH, vsebnost skupnega in mineralnega ogljika, skupno vsebnost dušika in rastlinam dostopne K, P. Analize talnih parametrov smo opravili v laboratorijih Oddelka za gozdno ekologijo Gozdarskega inštituta Slovenije, za kar smo uporabili metode:

- SIST ISO 10390: Kakovost tal - Določevanje pH
- SIST ISO 10694:1996: Kakovost tal - Ugotavljanje organskega in skupnega ogljika po suhem sežigu (elementna analiza)
- SIST ISO 13878:1999: Kakovost tal - Določevanje skupnega dušika po suhem sežigu (elementna analiza)
- SIST ISO 11047:1999 je bila uporabljena tudi za določevanje kalija, kalcija, magnezija in železa
- SIST EN ISO 6878:2004: Kakovost vode - Določevanje fosforja - Spektrometrijska metoda z amonijevim molibdatom (modificirana)

Molekularne metode

Za kvantifikacijo celotne glivne in bakterijske združbe smo izolirali DNA iz 250 mg homogeniziranih tal in 250 mg homogeniziranih rastlinskih korenin z rizosfero z uporabo DNeasy PowerSoil Pro (Qiagen, Venlo, Nizozemska) v skladu z navodili proizvajalca. Glivne in bakterijske združbe bomo v naslednjem koraku ovrednotili z Illumina MiSeq visokozmogljivim sekvenciranjem (HTS) ampikonov ITS2 regije ribosomskega operona za glive in V3 in V4 regije gena za 16S rRNA za bakterije.

Za pripravo ampikonskih knjižnic za Illumina MiSeq HTS smo ITS2 fragment najprej pomnožili s PCR, pri čemer smo uporabili Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (New England Biolabs, Ipswich, Massachusetts, ZDA) in par začetnih oligonukleotidov ITS7f (Ihrmark et al.

2012) ter ITS4r (White et al. 1990) z dodanimi za Illumina specifičnimi adapterji. PCR smo izvedli v reakcijskem volumnu 25 μ l, ki je vseboval 2 μ l DNA ekstrakta, 12,5 μ l Master Mix-a in 1,25 μ M vsakega začetnega oligonukleotida. Pogoji PCR so bili: 98 °C za 30 s, nato 25 ciklov pri 98 °C za 10 s, 57 °C za 20 s in 72 °C za 20 s, ter končno podaljševanje pri 72 °C za 2 min na PCR aparatu Applied Biosystems Veriti Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, ZDA). Za analizo bakterijskih združb je bila uporabljena amplifikacija V3 in V4 regije gena za 16S rRNA s parom začetnih oligonukleotidov 341f/805r, z dodanim adapterjem za sekvenciranje na Illumina MiSeq. PCR je bila izvedena v reakcijskem volumnu 25 μ l z 2 μ l DNA ekstrakta, 12,5 μ l mešanice Master Mix in 1,25 μ M vsakega primerja. Pogoji PCR so bili 98 °C 30 s, sledilo je 25 ciklov pri 98 °C 10 s, 60 °C 20 s in 72 °C 20 s ter končno podaljševanje pri 72 °C 2 minuti.

PCR produkte smo očistili z magnetnimi kroglicami Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, California, ZDA). Illumina multiple indeksne oznake so bile dodane z uporabo Nextera XT Index Kit (Illumina, San Diego, California, ZDA) v skladu s priporočili Illumine. Sekundarne PCR produkte smo ponovno očistili z magnetnimi kroglicami Agencourt AMPure XP, nato fluorimetrično kvantificirali z uporabo kompleta Quant-IT PicoGreen dsDNA Assay (Invitrogen/Thermo Fisher Scientific, ZDA) na čitalcu plošč VictorNivo 3S (Perkin Elmer, ZDA) po navodilih proizvajalca. Za umeritveno krivuljo smo pripravili koncentracijsko vrsto dsDNA standarda v treh ponovitvah: 0,01 ng/ μ L, 0,025 ng/ μ L, 0,05 ng/ μ L, 0,1 ng/ μ L, 0,25 ng/ μ L, 0,5 ng/ μ L in 1,0 ng/ μ L. Vse vzorce smo redčili 200 \times .

Obdelava podatkov

Vse analize smo izvedli v programu R (različica 4.5.1; 2025-06-13, »Great Square Root«) v okolju RStudio (različica 2025.09.0+387) (R Core Team, 2025; Posit Team, 2025). Podatke smo uvozili z **readr**, za urejanje in preoblikovanje podatkov smo uporabljali **dplyr** in **tidyr** (Wickham, Hester & Bryan, 2024; Wickham et al., 2023; Wickham & Girlich, 2023). Statistika je temeljila na enosmerni analizi variance štirih skupin *area* (*gospodarjen gozd*, *pragozd*) \times *type* (*gošča*, *debeljak*) (osnovni paket **stats**, aov), sledili so post-hoc testi po Tukeyju (Tukey's HSD; TukeyHSD), kompaktne črkovne oznake (CLD) pa smo izpeljali iz Tukeyjevih *p*-vrednosti z algoritmom paketa **multcompView** (R Core Team, 2025; Tukey, 1949; Graves, Piepho, Selzer & Dorai-Raj, 2019; Piepho, 2004). Grafe smo pripravili z **ggplot2** kot stolpčne prikaze vzorčnih sredin \pm SE z označenimi črkovnimi skupinami (Wickham, 2016).

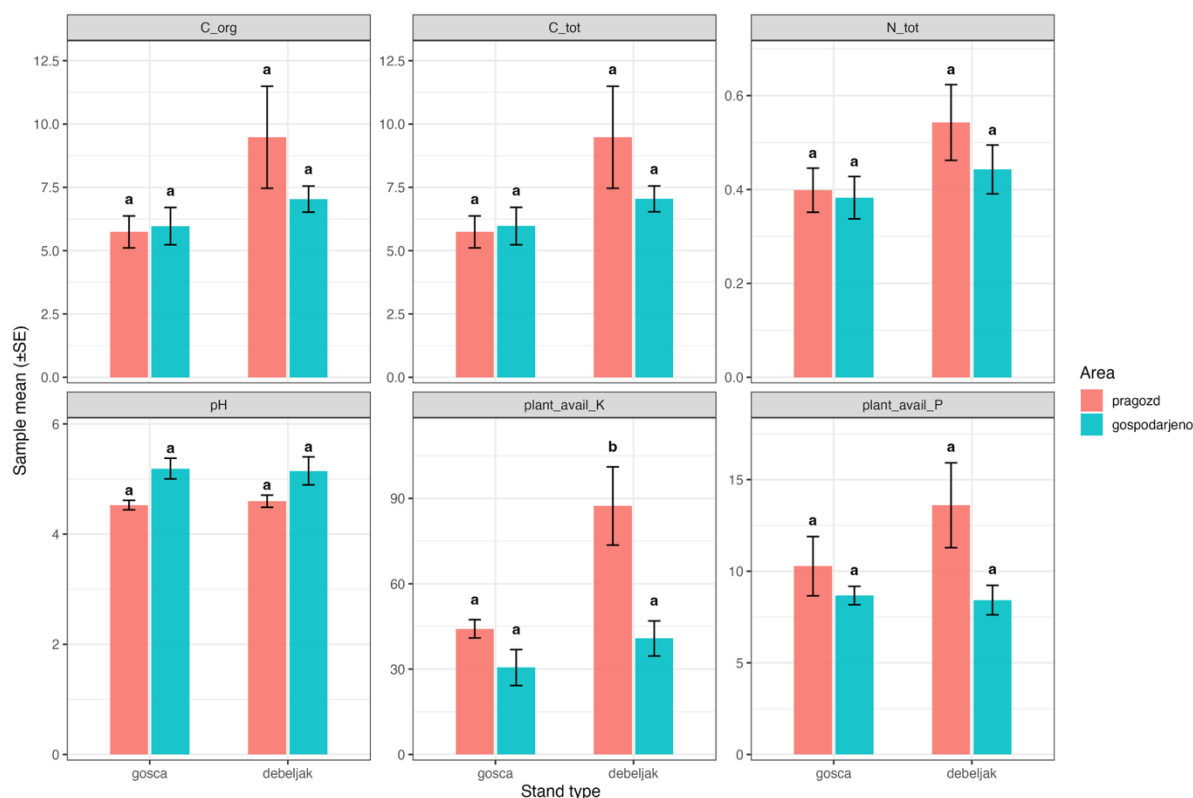
REZULTATI

Talne lastnosti

Rezultati pedološke analize tal so predstavljeni v preglednici 2. Slika 2 prikazuje povprečne vrednosti (\pm SE) za vsako talno spremenljivko v štirih skupinah, opredeljenih po območju (pragozd vs. gospodarjeno) in tipu sestoja (gošča vs. debeljak), pri čemer kompaktne črkovne oznake po Tukeyju (Tukey HSD, $\alpha = 0,05$) označujejo razlike znotraj posameznega panela. Pri pH tal, organskem ogljiku (org C), skupnem ogljiku in dušiku (skup C, skup N) in rastlinam dostopnem fosforju (rastlinam dostopni P) ni statistično značilnih razlik med štirimi skupinami, čeprav so vidne tendence k višjim vsebnostim C in N v debeljaku ter nekoliko višjim vrednostim pH v gospodarjenih sestoji. Nasprotno pa je rastlinam dostopnega kalija (rastlinam dostopni K) značilno več v sestoji debeljaka na območju pragozda. Rezultati kažejo, da so, pri uporabljeni vzorčni ločljivosti, razlike v starosti sestoja in med načinom gospodarjenjem minimalno vplivale na izbrane talne parametre, kar nam omogoča lažje raziskovanje vpliva obeh procesov na združbe gliv in bakterij v talnih in koreninskih vzorcih.

Preglednica 2 Rezultati pedološke analize tal.

vzorec	območje	tip	pH	skup C	org C	skup N	rastlinam dostopni K	rastlinam dostopni P
G_D01	gospodarjeno	debeljak	5,58	6,19	6,16	0,399	37,6	10,2
G_D02	gospodarjeno	debeljak	5,49	8,51	8,51	0,593	53,2	7,5
G_D03	gospodarjeno	debeljak	5,05	6,55	6,55	0,423	47,3	9,3
G_D04	gospodarjeno	debeljak	4,47	6,93	6,93	0,356	25	6,7
G_G01	gospodarjeno	gošča	4,99	4,6	4,6	0,272	21,9	9,3
G_G02	gospodarjeno	gošča	4,92	6,45	6,45	0,413	24,5	9,3
G_G03	gospodarjeno	gošča	5,74	7,84	7,83	0,486	26,5	8,9
G_G04	gospodarjeno	gošča	5,11	5	5	0,359	49,3	7,2
P_D01	pragozd	debeljak	4,34	5,28	5,28	0,344	55,6	10,6
P_D02	pragozd	debeljak	4,81	11,12	11,12	0,637	80,3	17,8
P_D03	pragozd	debeljak	4,75	14,3	14,3	0,705	91,6	17,3
P_D04	pragozd	debeljak	4,49	7,21	7,21	0,485	121,9	8,7
P_G04	pragozd	gošča	4,53	6,34	6,34	0,439	49,6	14,9
P_G05	pragozd	gošča	4,32	4,01	4,01	0,278	40,2	7,4
P_G06	pragozd	gošča	4,52	6,93	6,93	0,498	49,7	9,7
P_G07	pragozd	gošča	4,74	5,68	5,68	0,379	37,2	9,1



Slika 2 Povprečne vrednosti (\pm SE) talnih spremenljivk za posamezne kombinacije območja (pragozd, gospodarjeno) in tipa sestoja (gošča, debeljak). Posamezni paneli prikazujejo: organski ogljik (C_{org}), skupni ogljik (C_{tot}), skupni dušik (N_{tot}), pH tal, rastlinam dostopni kalij (plant_{avail_K}) in rastlinam dostopni fosfor (plant_{avail_P}). Črke nad stolpci predstavljajo kompaktne črkovne oznake na osnovi Tukeyevega HSD pri $\alpha = 0,05$; stolpci z isto črko se znotraj posameznega panela statistično ne razlikujejo.

Koncentracije PCR produktov

Koncentracije očiščenih PCR produktov so se med vzorci razlikovale, vendar jih je treba interpretirati previdno. Vrednosti koncentracij PCR produktov niso neposreden kvantitativni kazalnik številčnosti glivnih ali bakterijskih združb, saj so odvisne od več dejavnikov, med drugim od količine, fragmentiranosti in čistosti izhodne DNA, učinkovitosti PCR pomnoževanja ter morebitne prisotnosti inhibitorjev v talnih in koreninskih ekstraktih. Zato na podlagi teh podatkov ni mogoče zanesljivo sklepati, v katerih vzorcih je bilo gliv ali bakterij več ali manj. Kljub temu koncentracije PCR produktov potrjujejo uspešno pripravo amplikonov za nadaljnje visokozmogljivo sekvenciranje in nakazujejo določeno variabilnost med vzorci, zlasti pri bakterijskih pomnožkih, kjer so bile vrednosti bolj razpršene in so pri posameznih vzorcih dosegle zgornjo mejo kvantifikacije. Takšna variabilnost lahko odraža razlike v kakovosti izhodne DNA ali učinkovitosti pomnoževanja, ne pa nujno dejanskih razlik v številčnosti bakterijskih združb. Za vsebinsko razlago razlik med tlemi in koreninami, med pragozdom in gospodarjenim gozdom ter med goščo in debeljakom bodo zato ključni rezultati sekvenciranja in nadaljnje bioinformatične analize sestave glivnih in bakterijskih združb.

Preglednica 3 Koncentracija očiščenih PCR pomnožkov združb gliv in bakterij

oznaka vzorca	Koncentracija PCR, glive - tla [ng/μl]	Koncentracija PCR glive - korenine [ng/μl]	Koncentracija PCR, bakterije - tla [ng/μl]	Koncentracija PCR bakterije - korenine [ng/μl]
P_G04_01	142,4	58,5	0,1	15,3
P_G04_02	106,6	65,1	2,1	53,4
P_G04_03	64,7	72,0	14,4	27,2
P_D01_01	132,7	57,7	46,4	21,1
P_D01_02	44,9	69,3	0,2	150,7
P_D01_03	10,7	47,1	6,3	36,2
P_D02_01	140,1	91,8	59,6	25,7
P_D02_02	147,9	77,5	70,5	33,3
P_D02_03	133,7	68,7	6,4	59,9
P_D03_01	84,8	69,4	16,0	61,4
P_D03_02	89,5	81,7	15,3	66,6
P_D03_03	54,9	76,8	10,1	48,6
P_D04_01	181,3	94,0	65,3	70,1
P_D04_02	92,8	69,7	36,2	57,6
P_D04_03	95,6	123,4	3,0	83,9
P_G05_01	101,4	74,7	12,7	50,0
P_G05_02	162,4	73,3	51,0	9,3
P_G05_03	80,9	84,8	4,0	6,3
P_G06_01	104,5	67,8	0,0	59,7
P_G06_02	119,5	30,0	76,4	45,6
P_G06_03	136,0	113,3	> 200	75,5
P_G07_01	55,6	135,2	32,2	43,2
P_G07_02	12,0	87,1	34,4	20,2
P_G07_03	61,5	64,2	23,4	12,6
G_G01_01	174,3	76,4	0,0	52,7
G_G01_02	145,3	81,0	164,6	> 200
G_G01_03	40,5	129,9	27,0	> 200
G_G02_01	3,6	71,4	> 200	72,3
G_G02_02	88,7	71,5	56,2	0,2
G_G02_03	110,6	71,7	60,9	223,9
G_G03_01	154,3	70,4	59,1	200,1
G_G03_02	125,9	61,1	44,3	0,1
G_G03_03	114,8	138,9	0,0	65,9
G_G04_01	169,3	128,3	> 200	0,0
G_G04_02	121,1	91,2	30,4	52,6
G_G04_03	> 200	72,6	0,7	102,6
G_D01_01	108,3	118,7	63,8	73,8
G_D01_02	58,8	133,2	27,7	194,7
G_D01_03	160,7	48,3	47,9	0,5
G_D02_01	188,3	44,8	145,1	51,2
G_D02_02	68,5	116,4	34,8	75,8
G_D02_03	12,7	68,4	0,1	72,5

G_D03_01	147,1	83,9	59,9	94,4
G_D03_02	48,3	110,2	24,5	134,1
G_D03_03	178,3	79,2	83,6	65,0
G_D04_01	65,5	69,2	54,8	58,9
G_D04_02	111,4	72,7	70,9	106,3
G_D04_03	152,2	61,7	59,4	72,0

RAZPRAVA

Rezultati kažejo, da se izbrane fizikalno-kemijske lastnosti tal med kombinacijami načina gospodarjenja in razvojne faze bukovega sestoja večinoma niso statistično značilno razlikovale. To nakazuje, da pH, vsebnosti ogljika, dušika in rastlinam dostopnega fosforja pri uporabljeni vzorčni ločljivosti verjetno niso glavni dejavniki razlikovanja med obravnavanimi skupinami. Izjema je bil rastlinam dostopni kalij, ki je bil izraziteje povečan v debeljaku na območju pragozdnega rezervata Rajhenav. To lahko odraža lokalne razlike v kroženju hranil, količini organskega opada, mikrolokacijskih razmerah ali daljši kontinuiteti talnih procesov v starejšem, negospodarjenem sestoju.

Koncentracije očiščenih PCR produktov so potrdile uspešno pripravo ampikonov glivnih in bakterijskih označevalcev za nadaljnje visokozmogljivo sekvenciranje. Vrednosti so bile med vzorci variabilne, zlasti pri bakterijskih pomnožkih, kjer so posamezni vzorci dosegli tudi zgornjo mejo kvantifikacije. Vendar teh koncentracij ni mogoče neposredno interpretirati kot kazalnika številčnosti gliv ali bakterij v tleh oziroma koreninah. Na koncentracijo PCR produktov namreč vplivajo količina, fragmentiranost in čistost izhodne DNA, prisotnost inhibitorjev, učinkovitost pomnoževanja ter tehnične razlike med vzorci. Zato lahko opažena variabilnost nakazuje razlike v kakovosti izhodnega materiala ali učinkovitosti PCR, ne omogoča pa zanesljivega sklepanja o tem, v katerih vzorcih je bilo posameznih mikrobnih skupin več ali manj.

Zaradi teh omejitev bodo zaključki o vplivu gospodarjenja, razvojne faze sestoja in mikrohabitata na talni in koreninski mikrobiom mogoči šele po visokozmogljivem sekvenciranju ter bioinformatiki analizi sestave glivnih in bakterijskih združb. Ti podatki bodo omogočili ločevanje med tehnično variabilnostjo priprave knjižnic in dejanskimi ekološkimi razlikami v strukturi mikrobnih združb.

POVZETEK

V delnem poročilu smo obravnavali izbrane talne lastnosti in pripravo vzorcev za analizo talnega mikrobioma v bukovih sestojih z različnim načinom gospodarjenja na območju Kočevja. Primerjali smo pragozdne in gospodarjene bukove sestoje v razvojnih fazah gošče in debeljaka. Na 16 ploskvah so bili odvzeti vzorci tal in korenin z rizosfero, opravljene pa so bile pedološke analize ter priprava PCR produktov za nadaljnjo analizo glivnih in bakterijskih združb.

Rezultati talnih analiz so pokazali, da se večina merjenih talnih parametrov med skupinami statistično značilno ni razlikovala. Izjema je bil rastlinam dostopni kalij, ki je bil najvišji v debeljaku na območju pragozda. Koncentracije očiščenih PCR produktov so potrdile uspešno pripravo glivnih in bakterijskih amplikonov za nadaljnje visokozmogljivo sekvenciranje, vendar jih zaradi vpliva kakovosti izhodne DNA, učinkovitosti PCR in drugih tehničnih dejavnikov ni mogoče neposredno uporabljati kot kazalnik številčnosti mikrobnih združb. Nadaljnje sekvenciranje in bioinformatična analiza bosta omogočila natančnejšo opredelitev sestave glivnih in bakterijskih združb ter presojo, kako način gospodarjenja in razvojna faza bukovega sestaja vplivata na strukturo talnega in rizosfernega mikrobioma.

REFERENCE

- Baldrian, P. (2017). Forest microbiome: diversity, complexity and dynamics. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(2), 109–130. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw040>
- Baldrian, P., López-Mondéjar, R., & Kohout, P. (2023). Forest microbiome and global change. *Nature Reviews Microbiology*, 21(8), 487–501. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00876-4>
- Buée, M., Reich, M., Murat, C., Morin, E., Nilsson, R. H., Uroz, S., & Martin, F. (2009). 454 pyrosequencing analyses of forest soils reveal an unexpectedly high fungal diversity. *New Phytologist*, 184(2), 449–456. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03003.x>
- Clemmensen, K. E., Bahr, A., Ovaskainen, O., Dahlberg, A., Ekblad, A., Wallander, H., ... Lindahl, B. D. (2013). Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. *Science*, 339(6127), 1615–1618. <https://doi.org/10.1126/science.1231923>
- Goldmann, K., Schöning, I., Buscot, F., & Wubet, T. (2015). Forest management type influences diversity and community composition of soil fungi across temperate forest ecosystems. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1300. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01300>
- Mammadashvili, N., Ottosson, E., Smith, J. E., et al. (2024). Deadwood-associated fungi reflect forest stand age and management intensity across temperate Europe. *Ecology and Evolution*, 14(3), e11660. <https://doi.org/10.1002/ece3.11660>
- Purahong, W., Wubet, T., Lentendu, G., et al. (2015). Determinants of deadwood-inhabiting fungal communities in temperate forests: molecular evidence from a large-scale deadwood decomposition experiment. *Frontiers in Microbiology*, 6, 781. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00781>
- Štursová, M., Žifčáková, L., Leigh, M. B., Burgess, R., & Baldrian, P. (2014). Cellulose utilization in forest litter and soil: identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS Microbiology Ecology*, 88(2), 273–286. <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12294>
- Urbanová, M., Šnajdr, J., & Baldrian, P. (2015). Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. *Soil Biology and Biochemistry*, 84, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.02.011>
- van der Heijden, M. G. A., Bardgett, R. D., & van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 11(3), 296–310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
- Graves, S., Piepho, H.-P., Selzer, L., & Dorai-Raj, S. (2019). *multcompView: Visualizations of Paired Comparisons* (R package). CRAN. <https://CRAN.R-project.org/package=multcompView>

Lenth, R. V. (2018). Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. *Journal of Statistical Software*, 69(1), 1–33. <https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01>

Piepho, H.-P. (2004). An algorithm for a letter-based representation of all-pairwise comparisons. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 13(2), 456–466. <https://doi.org/10.1198/1061860043515>

Posit Team. (2025). *RStudio: Integrated Development Environment for R* (version 2025.09.0+387). Posit Software, PBC. <https://posit.co/products/rstudio/>

R Core Team. (2025). *R: A language and environment for statistical computing* (version 4.5.1). R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>

Tukey, J. W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 5(2), 99–114. <https://doi.org/10.2307/3001913>

Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>

Wickham, H., & Girlich, M. (2023). *tidyr: Tidy Messy Data* (R package). CRAN. <https://CRAN.R-project.org/package=tidyr>

Wickham, H., Hester, J., & Bryan, J. (2024). *readr: Read Rectangular Text Data* (R package). CRAN. <https://CRAN.R-project.org/package=readr>

Wickham, H., François, R., Henry, L., & Müller, K. (2023). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation* (R package). CRAN. <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>