

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Milica J. Dragojević

**HALOTOLERANTNE MIKROBNE
ZAJEDNICE – DIVERZITET I SPOSOBNOST
STIMULACIJE BILJNOG RASTA**

doktorska disertacija

Beograd, 2025

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Milica J. Dragojević

**HALOTOLERANT MICROBIAL
COMMUNITIES – DIVERSITY AND PLANT
GROWTH PROMOTING ABILITY**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2025

MENTOR:

dr Jelena Jovičić-Petrović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Blažo Lalević, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

dr Vera Karličić, viši naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

dr Steva Lević, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

dr Nada Stanković, viši naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu, Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo

dr Jelica Novaković, viši naučni saradnik

Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Zahvalnica

Iskreno se zahvaljujem svima koji su svojim znanjem, strpljenjem i podrškom doprineli realizaciji ove disertacije.

Najiskreniju zahvalnost dugujem svojoj mentorki, prof. dr Jeleni Jovičić-Petrović, za nesebičnu stručnu i prijateljsku pomoć, strpljenje i ogromnu energiju koju je uložila u apsolutno svaki aspekt izrade ove teze.

Veliku zahvalnost dugujem dr Nadi Stanković koja je od samog početka saradnje pružila stručnu potporu i svojim smernicama dala veliki doprinos kvalitetu ovog rada, uz topao i prijateljski odnos.

Takođe, želela bih da se zahvalim prof. dr Blaži Laleviću na korisnim savetima tokom studija i oblikovanju disertacije kao i dr Veri Karličić, čija podrška godinama nikada nije izostala.

Posebno se zahvaljujem prof. dr Stevi Leviću na podršci, korisnim savetima i idejama, pomoći tokom eksperimentalnog dela rada, kao i oblikovanju teksta disertacije.

Od sveg srca se zahvaljujem dr Jelici Novaković za realizaciju terenskog dela istraživanja, njenoj ogromnoj energiji, stručnosti i nesebičnoj pomoći u svim izazovima koje su nam biljke postavile.

Zahvalila bih se dr Lidiji Đokić, dr Nemanji Mirkoviću, dr Ivani Radović i dr Slavici Kerečki na velikoj stručnoj i prijateljskoj pomoći tokom izrade eksperimentalnog dela disertacije.

Zahvaljujem se svim profesorima i kolegama sa Katedre za ekološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

Posebno želim da se zahvalim prof dr Veri Raičević na dugogodišnjoj saradnji, smernicama i savetima koji su doprineli mom akademskom i profesionalnom razvoju. Posebno joj hvala što je podržala moju inicijativu za izradu teze i učestvovala u njenom kreiranju.

Najdublju zahvalnost izražavam svojim roditeljima, članovima porodice i prijateljima koji su me strpljivo slušali, bodrili i verovali u mene, onda kada ja nisam. U dugogodišnji proces izrade ove teze utkana je ljubav i podrška i nekih dragih ljudi kojih više nema, njima i budućima, čiji dolazak radosno iščekujemo, posvećujem ovu disertaciju.

HALOTOLERANTNE MIKROBNE ZAJEDNICE - DIVERZITET I SPOSOBNOST STIMULACIJE BILJNOG RASTA

Sažetak

Adaptacije biljaka na specifične uslove staništa blisko su povezane sa biljnom mikrobiotom, pri čemu halotolerantne bakterije stimulatori biljnog rasta (*Halotolerant Plant Growth Promoting*, HT PGP) imaju važnu ulogu u toleranciji biljaka na stres izazvan povišenom koncentracijom soli. Nastanjene u rizosferi, okolnom zemljištu ili endorizosferi biljaka, HT PGP bakterije poboljšavaju biljni rast i dostupnost nutrijenata, otpornost na abiotički stres i napade patogena, istovremeno obnavljajući plodnost zaslanjenih zemljišta na agroekološki prihvatljiv način.

U uslovima rastućeg problema zaslanjivanja zemljišta širom sveta i njegovog negativnog efekta na poljoprivredu, raste interes za upotrebu HT PGP bakterija kao strategije za ublažavanje efekata povećanih koncentracija soli na useve. Stoga su ciljevi ove disertacije bili usmereni ka izučavanju diverziteta bakterijskih zajednica rizosfere, endorizosfere i zemljišta prirodnih slatina na lokalitetu Slano Kopovo (Srbija), kao resursa za formiranje kolekcije okarakterisanih HT PGP bakterija sa potencijalom za primenu u održivoj poljoprivrednoj proizvodnji u olakšavanju prevazilaženja efekata stresa izazvanog solima na useve.

U svrhu ispunjenja ciljeva disertacije odabran je integrativni pristup koji kombinuje tehnike izučavanja mikroorganizama nezavisne i zavisne od njihovog gajenja. Primenom sekvenciranja nove generacije (NGS) dobijen je taksonomski profil bakterijskih zajednica povezanih sa halofitama. Za izolaciju i formiranje kolekcije bakterija korišćena su dva kriterijuma, halotolerancija i produkcija enzima 1-aminociklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaze, što je rezultovalo formiranjem HAL kolekcije i ACC kolekcije. Dobijeni izolati su okarakterisani u pogledu halotolerancije i prisustva sledećih PGP odlika: produkcije indol-3-sirćetne kiseline (IAA), amonijaka, solubilizacije fosfata, kalijuma, cinka, stvaranja siderofora, egzopolisaharida (EPS) i biofilmova. PGP svojstva su ispitana u prisustvu različitih koncentracija NaCl, dok je za pojedine sojeve sa višestrukim PGP mehanizmima izvršena molekularna identifikacija. Sojevi *Bacillus megaterium* 6Z3 i *Halomonas songnenensis* 14KX2 su odabrani za ispitivanje uticaja na osam parametara klijanja semena i ranih faza rasta ječma, pšenice i suncokreta u uslovima bez i sa dodatkom NaCl. Takođe, odabrani sojevi su inkapsulisani tehnikom ekstruzije u alginatno skrobnom matriksu. Nakon toga je praćeno preživljavanje ćelija tokom godinu dana, kako bi se ispitalo mogućnosti za primenu ove tehnike u dobijanju čvrstih bioinokulanata.

Metodama nezavisnim od gajenja pokazano je da biljna vrsta u kombinaciji sa spoljašnjim faktorima utiče na diverzitet i sastav bakterijskih zajednica povezanih sa halofitama, kojima je zajednička karakteristika značajna zastupljenost predstavnika Actinobacteria i Proteobacteria. Najveći diverzitet detektovan je u zemljištu, dok je endorizosfera svih biljaka pokazala najniži diverzitet bakterijskih zajednica specijalizovanih pod intenzivnim uticajem biljke.

Primenjene strategije za izolaciju rezultirale su kolekcijama multifunkcionalnih sojeva među kojima je 7% HAL izolata i 13% izolata iz ACC kolekcije ispoljavalo svih osam testiranih PGP svojstava. Svojstva solubilizacije kalijuma, fosfata i cinka su bila izraženija među izolatima ACC kolekcije, dok je produkcija IAA bila zastupljenija među predstavnicima HAL kolekcije. Produkcija amonijaka, EPS i stvaranje biofilma su bili zastupljeni kod više od 90% testiranih izolata obe kolekcije. Molekularnom identifikacijom potvrđeno je prisustvo predstavnika halotolerantnih rodova *Halomonas*, *Kusheria*, *Halobacillus*, *Mammalicoccus* (bivši *Staphylococcus*) i *Planococcus*, među kojima su i predstavnici koji ispoljavaju višestruka PGP svojstva u uslovima povišene koncentracije soli.

Odabrani sojevi *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 su pokazali pozitivne efekte na parametre klijavosti ispitivanih useva, pri čemu su efekti bakterijske inokulacije na parametre germinacije zavisili od primenjenog soja, ispitivanog useva kao i koncentracije soli. *B. megaterium* 6Z3 je značajno poboljšao parametre klijavosti ječma i suncokreta pri čemu su efekti bili izraženiji pri povišenim koncentracijama soli. U slučaju pšenice, efekat inokulacije *B. megaterium* 6Z3 bio je slabiji i statistički značajni efekti su zabeleženi samo na vigor I (63%), dužinu (45%) i suhu masu klijanaca (8%). Tretman semena sojem *H. songnenensis* 14KX2 je najveći efekat ispoljio kod suncokreta poboljšavajući sve testirane parametre u prisustvu najviše koncentracije soli. Kod ječma, efekti inokulacije *H. songnenensis* 14KX2 su bili izraženiji u prisustvu soli, gde je došlo do povećanja procenta germinacije (GP), germinacionog indeksa (GI), vigora I, vigora II, suve mase kao i smanjenja prosečnog vremena germinacije (MGT) inokulisanih semena, dok je kod pšenice inokulacija pozitivno uticala na polovinu testiranih parametara, ali bez uticaja na MGT i vlažnu masu.

Odabrana tehnika inkapsulacije omogućila je zadržavanje visokog procenta vijabilnosti (>90%) oba inkapsulata tokom godinu dana skladištenja na 4°C i sobnoj temperaturi, čime se pokazala kao dobar izbor za dobijanje čvrstih bakterijskih inokulanata.

Izučavanje biljno-mikrobnih interakcija u slanim staništima otvara mogućnosti iskorišćavanja korisnih svojstava autohtonih HT PGP mikroorganizama adaptiranih na nepovoljne uslove. Rezultati ove disertacije sugerišu da su bakterijske zajednice povezane sa halofitama dragocen izvor HT PGP bakterija koje imaju potencijal da podržavaju biljni rast i opstanak u uslovima povišenih koncentracija soli čime se proširuju mogućnosti korišćenja zaslanjenih zemljišta u poljoprivredi.

Ključne reči: zaslanjenost zemljišta, mikrobiota halofita, halotolerantne bakterije stimulatori biljnog rasta (HT PGP), *Halomonas songnenensis*, *Bacillus megaterium*, bakterijski tretman semena, inkapsulacija.

Naučna oblast: Mikrobiologija

Uža naučna oblast: Ekološka mikrobiologija

UDK: 502.211:579]:574:661.162.66(043.3)

HALOTOLERANT MICROBIAL COMMUNITIES - DIVERSITY AND PLANT GROWTH PROMOTING ABILITY

Abstract

Plant microbiota, specifically *Halotolerant Plant Growth-Promoting Bacteria* (HT PGP), play a crucial role in plant tolerance to stress caused by increased salt concentrations. HT PGP bacteria, inhabiting the rhizosphere, surrounding soil, or plant endorhizosphere, promote plant growth and nutrient availability, as well as resistance to abiotic stress and pathogen attacks, while restoring the fertility of saline soil in an agroecologically acceptable manner.

Given the global problem of soil salinization and its detrimental effects on agriculture, there is growing interest in applying HT PGP bacteria to mitigate the impact of elevated salt concentrations on crops. Consequently, the goal of this dissertation was to study the diversity of bacterial communities in the rhizosphere, endorhizosphere, and soil of natural saline habitats at the Slano Kopovo site (Serbia) as a resource for the formation of a collection of characterized HT PGP bacteria with the potential for application in sustainable agricultural production, helping crops overcome the effects of salt stress.

In order to achieve the objectives of the thesis, an integrative method was applied, that includes both culture-independent and culture-dependent strategies. Next generation sequencing (NGS) was used to establish a taxonomic profile of bacterial populations associated with halophytes. The bacterial collection was isolated and formed based on two criteria: halotolerance and synthesis of the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase, resulting in the HAL and ACC collections. The isolates were screened for halotolerance and PGP traits such as indole-3-acetic acid (IAA) synthesis, ammonia production, phosphate solubilization, potassium and zinc mobilisation, siderophore production, as well as exopolysaccharides (EPS) and biofilm formation.

PGP properties were studied under different NaCl concentrations, while molecular identification was performed for individual strains exhibiting multiple PGP mechanisms. The *Bacillus megaterium* 6Z3 and *Halomonas songnenensis* 14KX2 strains were selected to evaluate their effects on eight parameters of seed germination and early growth stages of barley, wheat, and sunflower under conditions with and without NaCl addition. Additionally, the selected strains were encapsulated in an alginate-starch matrix, using the extrusion technique. The viability of the encapsulated cells was monitored for one year to assess the potential of this technique for the production of solid bioinoculants.

Culture-independent methods have revealed that plant species, in combination with external factors, affect the diversity and composition of bacterial communities associated with halophytes, which are predominantly composed of Actinobacteria and Proteobacteria. Soil exhibited the highest bacterial diversity, while the endorhizosphere of all plants had the lowest diversity of bacterial communities that had specialized under the intensive influence of the plant.

The isolation method used resulted in collections of multifunctional bacteria, with 7% of HAL isolates and 13% of ACC isolates demonstrating all eight assessed PGP traits. ACC isolates demonstrated greater potassium, phosphate, and zinc solubilization, whereas HAL isolates produced higher levels of IAA. More than 90% of the isolates from both collections synthesized ammonia, EPS, and formed biofilms. Molecular identification confirmed the presence of representatives from halotolerant genera *Halomonas*, *Kushneria*, *Halobacillus*, *Mammalicoccus* (formerly *Staphylococcus*), and *Planococcus*, all of which exhibit multiple PGP properties at elevated salt concentrations.

Selected strains of *B. megaterium* 6Z3 and *H. songnenensis* 14KX2 had a beneficial impact on the germination parameters of the tested crops, however the effects of bacterial inoculation on germination parameters varied depending on the strain, crop type, and the salt content. *B. megaterium*

6Z3 significantly improved the germination traits in barley and sunflower, with a stronger effect at higher salt concentrations. In wheat, inoculation with *B. megaterium* 6Z3 had a less pronounced effect, with statistically significant increases observed in vigor index I (63%), seedling length (45%), and dry weight (8%). Seed treatment with *H. songnenensis* 14KX2 had a significant impact on sunflower, enhancing all tested parameters at the highest salt concentration. In barley, inoculation with *H. songnenensis* 14KX2 had a more pronounced effect under saline conditions, increasing germination percentage (GP), germination index (GI), vigor I, vigor II, and dry weight while reducing mean germination time (MGT) in inoculated seeds. In wheat, inoculation had a positive effect on half of the parameters tested but had no effect on MGT or wet mass.

The chosen encapsulation procedure allowed both strains to retain a high percentage of viability (> 90%) over one year of storage at 4°C and room temperature, demonstrating its suitability for the production of solid bacterial inoculants.

The study of plant-microbial interactions in saline environments opens up the possibility of exploiting the beneficial properties of indigenous HT PGP bacteria adapted to harsh conditions. The findings of this dissertation suggest that bacterial communities associated with halophytes are a valuable source of HT PGP bacteria capable of supporting plant growth and survival under elevated salt concentrations, thereby expanding the possibilities for utilizing saline soils in agriculture.

Key words: soil salinity, halophyte microbiota, halotolerant plant growth promoting bacteria (HT PGP), *Halomonas songnenensis*, *Bacillus megaterium*, bacterial seed treatment, encapsulation.

Scientific field: Microbiology

Scientific subfield: Microbial ecology

UDK: 502.211:579]:574:661.162.66(043.3)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Zaslanjenost kao vid degradacije zemljišta	3
2.1.1. Nastanak i klasifikacija slanih zemljišta	3
2.1.2. Primarna salinizacija zemljišta, lokalitet Slano Kopovo	4
2.1.3. Sekundarna salinizacija zemljišta	6
2.1.4. Uticaj zaslanjenosti zemljišta na biljke i zemljišne mikroorganizme	7
2.2. Biljne zajednice slanih staništa	7
2.3. Halotolerantni/halofilni zemljišni mikroorganizmi	10
2.4. Bakterijske zajednice asocirane sa halofitama	12
2.4.1. Rizosferne zajednice halofita	13
2.4.2. Endorizosferne zajednice halofita	15
2.4.3. pristupi analizi mikrobnih zajednica	17
2.5. Halotolerantne bakterije stimulatori biljnog rasta (HT PGP)	19
2.5.1. Uticaj halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP) na povećanje dostupnosti nutrijenata	19
2.5.2. Uticaj halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP) na regulaciju nivoa fitohormona	22
2.5.3. Značaj produkcije egzopolisaharida (EPS) i biofilma halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP)	24
2.6. Primena HT PGP za ublažavanje efekata stresa izazvanog povećanjem koncentracije soli	25
2.6.1. Primena HT PGP u mikrobiološkom tretmanu semena	26
2.6.2. Značaj odabira formulacije i prednosti inkapsulacije u formulaciji inokulanata HT PGP bakterija	30
3. CILJEVI RADA	33
4. MATERIJAL I METODE	34
4.1. Biljni materijal i zemljište	34
4.1.1. Priprema uzoraka	35
4.2. 16 S rDNK analiza mikrobioma	36
4.3. Izolacija i formiranje kolekcije bakterija	36
4.3.1. Izolacija halotolerantnih bakterija	36
4.3.2. Izolacija ACC deaminaza produkujućih bakterija	37
4.4. Karakterizacija izolata	38
4.4.1. Morfološke odlike izolata	38
4.4.2. Ekološke odlike izolata	38
4.4.3. Ispitivanje svojstava stimulacije biljnog rasta	39
4.4.3.1. Produkcija indol sirćetne kiseline (IAA)	39
4.4.3.2. Produkcija amonijaka (NH ₃)	39
4.4.3.3. Produkcija siderofora	40
4.4.3.4. Produkcija egzopolisaharida (EPS)	40
4.4.3.5. Produkcija biofilma	40
4.4.3.6. Sposobnost solubilizacije fosfora (P), kalijuma (K) i cinka (Zn)	41
4.4.3.7. Produkcija ACC deaminaze	42
4.4.4. Testovi patogenosti	43
4.5. Ispitivanje uticaja NaCl na ispoljavanje svojstava stimulacije biljnog rasta, pokretljivost i produkciju pigmenata	43
4.6. Molekularna identifikacija izolata	43

4.6.1. Molekularna identifikacija odabranih endofita sukulentnih biljaka	44
4.6.2. Molekularna identifikacija zemljišnih, rizosfernih i endofitnih izolata (osim endofita sukulenata)	46
4.7. Ispitivanje uticaja bakterijske inokulacije na parametre germinacije odabranih biljnih vrsta u uslovima različite koncentracije NaCl	47
4.7.1. Priprema i inokulacija semena	47
4.7.2. Germinacijski testovi	48
4.8. Inkapsulacija odabranih halotolerantnih bakterija	48
4.8.1. Priprema bakterija za inkapsulaciju	48
4.8.2. Procedura inkapsulacije	49
4.8.3. Sušenje inkapsulata	50
4.8.4. Čuvanje inkapsulata	50
4.8.5. Svetlosna mikroskopija	50
4.8.6. Analiza veličine inkapsulata	50
4.8.7. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)	50
4.8.8. Merenje aktivnosti vode (a_w vrednost) inkapsulata	50
4.8.9. Određivanje broja ćelija u inkapsulatima	50
4.9. Metode statističke obrade podataka	51
5. REZULTATI	52
5.1. Diverzitet bakterijskih zajednica u zaslanjenom zemljištu	52
5.1.1. Diverzitet zemljišnih bakterija	53
5.1.1.1. Taksonomski sastav zemljišnih bakterijskih zajednica	54
5.1.2. Diverzitet rizosfernih bakterija	57
5.1.2.1. Taksonomski sastav rizosfernih bakterijskih zajednica	58
5.1.3. Diverzitet endorizosfernih bakterija	64
5.1.3.1. Taksonomski sastav endorizosfernih bakterijskih zajednica	66
5.2. Kolekcija bakterija	72
5.2.1. Kolekcija bakterija izolovanih po principu halotolerancije - HAL kolekcija	72
5.2.2. Kolekcija bakterija izolovanih po principu produkcije ACC deaminaze - ACC kolekcija	75
5.3. Karakterizacija izolata	75
5.3.1. Ekološke karakteristike izolata	75
5.3.1.1. Ekološke karakteristike izolata iz zemljišta	76
5.3.1.2. Ekološke karakteristike rizosfernih bakterija	77
5.3.1.3. Ekološke karakteristike endorizosfernih bakterija	78
5.3.2. Svojstva stimulacije biljnog rasta (PGP svojstva) kolekcije odabranih izolata	80
5.3.2.1. PGP svojstva zemljišnih izolata	81
5.3.2.2. PGP svojstva rizosfernih izolata	83
5.3.2.3. PGP svojstva endorizosfernih izolata	85
5.3.2.4. Kvantifikacija produkcije ACC deaminaze	89
5.3.3. Test patogenosti	89
5.3.4. Ispitivanje uticaja NaCl na pokretljivost i produkciju pigmenata halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP)	90
5.3.4.1. Uticaj NaCl na pokretljivost odabranih izolata	90
5.3.4.2. Uticaj NaCl na produkciju pigmenata	92
5.4. Molekularna identifikacija odabranih izolata	92
5.5. Ispitivanje uticaja bakterijske inokulacije na parametre germinacije odabranih biljnih vrsta u uslovima povišene koncentracije NaCl	95
5.6. Inkapsulacija odabranih halotolerantnih bakterija	100
5.6.1. Morfologija i a_w vrednost inkapsulata	100
5.6.2. Uticaj procesa inkapsulacije i skladištenja na preživljavanje bakterijskih kultura	102

6. DISKUSIJA	103
6.1. Biljke prirodne slatine Slano Kopovo kao potencijal za izolaciju HT PGP bakterija	103
6.2. Bakterijski mikrobiom zaslanjenog zemljišta i rizosfere	104
6.2.1. Diverzitet bakterijskih zajednica u zaslanjenom zemljištu	104
6.2.2. Diverzitet bakterijskih zajednica u rizosferi	107
6.2.3. Diverzitet bakterijskih zajednica u endorizosferi	111
6.3. Kolekcija HT PGP bakterija	115
6.3.1. Taksonomska pripadnost HT PGP izolata	117
6.3.2. Uticaj povišene koncentracije soli na preživljavanje izolata	119
6.3.3. Uticaj povišene koncentracije soli na pokretljivost	120
6.3.4. Uticaj povišene koncentracije soli na produkciju pigmenata	120
6.3.5. Svojstva stimulacije biljnog rasta (PGP svojstva) izolata i njihovo ispoljavanje pri povišenim koncentracijama soli	122
6.3.5.1. Uticaj HT PGP na promenu nivoa fitohormona u prisustvu soli	122
6.3.5.2. Uticaj HT PGP na povećanje dostupnosti nutrijenata u prisustvu soli	124
6.3.5.3. Uticaj povišene koncentracije soli na sposobnost produkcije egzopolisaharida (EPS) i formiranje biofilma od strane HT PGP izolata	126
6.4. Uticaj bakterijske inokulacije na parametre germinacije odabranih biljnih vrsta u uslovima povišene koncentracije NaCl	127
6.5. Inkapsulacija odabranih halotolerantnih bakterija	131
6.5.1. Morfološke karakteristike i aktivnost vode (aw) inkapsulata	131
6.5.2. Uticaj procesa inkapsulacije na vijabilnost inkapsulisanih ćelija	132
7. ZAKLJUČAK	134
8. LITERATURA	137
9. PRILOZI	166
9.1. Prilog 1. Analiza i diverzitet mikrobioma	166
9.2. Prilog 2.	193
Biografija	194
Izjave	195

1. UVOD

Zaslanjivanje predstavlja jedan od glavnih oblika degradacije zemljišta koji ograničava mogućnosti njegovog korišćenja. Gubitak plodnosti zemljišta usled zaslanjivanja je rastući problem, imajući u vidu intenzivnu poljoprivrednu proizvodnju, kao i doprinos klimatskih promena ovom problemu. Povećana akumulacija soli u zemljištu negativno utiče na njegove fizičko-hemijske i biološke osobine, što se odražava na rast i diverzitet organizama koji ga naseljavaju i narušava ekološku ravnotežu u staništu. Tako zaslanjivanje zemljišta dovodi do gubitka biodiverziteta, smanjenja mikrobiološke aktivnosti, degradacije ekosistema, pada prinosa useva, dezertifikacije poljoprivrednih zemljišta i povećanja rizika od erozije usled gubitka vegetacije.

Površine pod zaslanjenim zemljištem se povećavaju svake godine, smanjujući potencijalne poljoprivredne površine dominantno u aridnim i poluaridnim regionima. Međutim, ne postoji klimatska zona u kojoj nije izražen negativan uticaj salinizacije. Prema najnovijoj globalnoj mapi (*GSAS map - Global salt affected soil map*) koja obuhvata 118 zemalja, zaslanjene površine obuhvataju 424 miliona hektara površinskog sloja zemljišta (0-30 cm) i 833 miliona hektara na dubini od 30-100 cm (FAO, 2021a). U Evropi, zaslanjivanje predstavlja jedan od glavnih uzroka degradacije zemljišta na oko 30,7 miliona hektara slanih i sodnih zemljišta, pri čemu je problem najizraženiji u mediteranskoj oblasti (Daliakopoulous et al., 2016). Procenjuje se da je preko 20% ukupnog obradivog zemljišta na svetu pod uticajem povišenih količina soli, a ukoliko se nastavi trenutni trend do 2050. godine, očekuje se približan porast saliniteta obradivih površina za oko 30% (Otlewska et al., 2020). EU strategija za zemljište (*EU soil strategy for 2030*) kao osnovni cilj do 2050. godine postavlja uspostavljanje zdravog zemljišnog ekosistema. Prema tome, postoji urgentna potreba za pronalaženjem održivih strategija i rešenja usmerenih ka ublažavanju efekata zaslanjivanja zemljišta kao jednoj od rastućih globalnih pretnji poljoprivrednoj proizvodnji.

Svega 1% ukupne flore pripada halofitama, biljkama koje su sposobne da rastu i razmnožavaju se na slanim zemljištima. Halofite odlikuju specifične morfološke, anatomske i genetičke adaptacije na povišene koncentracije soli u zemljištu. Međutim, sposobnost biljaka da se prilagode specifičnim uslovima staništa, posebno u uslovima stresa, povezana je i sa mikroorganizmima koji čine biljnu mikrobiotu. Zahvaljujući koevoluciji sa biljkom u istim uslovima, mikrobiota halofita je prilagođena slanom staništu i smatra se ključnim faktorom za razumevanje preživljavanja halofita u uslovima povišenih koncentracija soli (Etesami i Glick 2020). Zaslanjena zemljišta, rizosfera i unutrašnjost halofita su staništa sa promenljivim i često ekstremno visokim koncentracijama soli koje preživljavaju samo adaptirani mikroorganizmi koji pripadaju halotolerantnim i halofilnim grupama. Istaknutu grupu mikrobiote halofita čine halotolerantne bakterije stimulatori biljnog rasta (*Halotolerant Plant Growth Promoting* HT PGP) koji naseljavaju okolno zemljište, rizosferu i unutrašnjost biljke. Uspostavljajući blisku vezu sa biljkom, HT PGP mikroorganizmi poboljšavaju njen rast i dostupnost nutrijenata, otpornost na abiotički stres i napade patogena, istovremeno obnavljajući plodnost zemljišta na agroekološki prihvatljiv način.

Usled uticaja soli, prirodne slatine su zemljišta nepogodna za poljoprivrednu proizvodnju, dok u područjima intenzivne poljoprivredne proizvodnje, sekundarno zaslanjivanje zemljišta ograničava mogućnosti gajenja useva i kultura koje su manje tolerantne na povišene koncentracije soli u zemljištu. Imajući u vidu uticaj mikrobiote na rast i razvoj biljaka, javlja se potreba za ispitivanjem mogućnosti iskorišćavanja HT PGP bakterija poreklom iz prirodno slanih staništa za unapređenje rasta i gajenja useva na sekundarno slanim zemljištima. Predstavnici HT PGP kao što su *Halomonas*, *Halobacillus*, *Bacillus* ili *Pseudomonas* uticajem na germinaciju, povećanje dostupnosti nutrijenata

ili direktnim regulisanjem koncentracije biljnih hormona, imaju potencijal da poboljšaju toleranciju biljaka prema stresu izazvanom salinitetom.

Negativni efekti povećane koncentracije soli su posebno izraženi tokom germinacije i ranog rasta klijanaca što su ključni koraci za dalji razvoj biljke i kontinuiranu poljoprivrednu proizvodnju. Tretman semena korisnim mikroorganizmima je ekološki prihvatljiva i ekonomična tehnika, koja pozitivno deluje na germinaciju, vigor klijanaca, povećanje biomase i jačanje biljke u zemljištima loših osobina i uslovima stresa, što konačno može da uveća ekonomsku dobit održavanjem adekvatnih prinosa. Inokulacijom semena se postiže bolja ishrana, kvalitet i otpornost useva, te stoga istraživanje primene HT PGP inokulanata može rezultovati alternativnom strategijom za ublažavanje efekata salinizacije na biljku i zemljište u održivoj poljoprivrednoj proizvodnji.

Za efikasnu upotrebu HT PGP bakterija u olakšavanju negativnih efekata stresa kod useva, potrebna je adekvatna formulacija koja će obezbediti kvalitet i stabilnost inokuluma uz jednostavnu primenu za krajnjeg korisnika. U tom kontekstu, primena tehnika inkapsulacije u formulaciji mikrobioloških preparata dobija sve veći značaj. Čvrsti inokulanti su stabilniji, manje podložni kontaminaciji i omogućavaju održavanje vijabilnosti i biološke aktivnost ćelija tokom dužeg skladištenja. Inkapsulacija obezbeđuje zaštitu ćelijama od nepovoljnih abiotičkih uslova i biotičkih interakcija, kao i postepeno oslobađanje nakon primene čime se omogućava kontinuirana kolonizacija rizosfere i korena i ispoljavanje pozitivnih efekata na biljku. Imajući u vidu navedeno, za konačnu strategiju primene HT PGP bakterija neophodan je sveobuhvatan pristup koji uključuje više koraka: izolaciju halotolerantnih bakterija iz zaslanjenih staništa, odabir sojeva koji ispoljavaju željene PGP odlike, kao i odlike koje im olakšavaju preživljavanje poput pokretljivosti, produkcije pigmenata uz ispitivanje uticaja povišenih koncentracija soli na ispoljavanje tih odlika, ispitivanje uticaja inokulacije semena na klijavost i rani razvoj biljke, a na kraju i ispitivanje mogućnosti primene savremenih tehnika u formulaciji finalnih proizvoda.

Usled problema sa kojima se poljoprivredna proizvodnja suočava zbog zaslanjivanja zemljišta, raste interes za izučavanjem zajednica mikroorganizama zaslanjenih staništa, posebno onih koje su povezane sa halofitama. Istraživanja biljno-mikrobne interakcije u zaslanjenim staništima imaju multidisciplinarni karakter i pored fundamentalnog značaja mogu rezultirati kreiranjem kolekcije odabranih sojeva HT PGP bakterija sa značajnim potencijalom za primenu u održivoj poljoprivedi, koji se ogleda kroz stimulaciju rasta, poboljšanje klijavosti semena i otpornosti useva na stres, što predstavlja održiv način za povećanje prinosa uz istovremeno smanjenje unosa agrohemikalija i smanjenje troškova proizvodnje.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Zaslanjenost kao vid degradacije zemljišta

Uprkos mogućnosti regeneracije, zemljište se smatra neobnovljivim resursom zbog potencijalno brze degradacije nasuprot dugotrajnim procesima formiranja i obnavljanja (Otlewska et al., 2020). Zemljište je izuzetno osetljivo na uticaje klimatskih promena i ljudskih aktivnosti što ističe značaj održivog upravljanja sa ciljem očuvanja njegovih ekosistemskih funkcija i kapaciteta kao neobnovljivog resursa.

Sva zemljišta prirodno sadrže mešavinu rastvorljivih soli od kojih su neke neophodne za rast biljaka (Otlewska et al., 2020) međutim, prekomerna akumulacija soli negativno deluje na biljni rast (Shrivastava i Kumar, 2015). Zaslanjivanje podrazumeva proces akumulacije rastvorljivih soli do nivoa koji negativno utiče na poljoprivrednu proizvodnju i životnu sredinu, što se posledično odražava na smanjenje ekonomske dobiti (Rengasamy, 2006; FAO, 2011). Degradacija zemljišta koja nastaje usled nagomilavanja soli jedan je od glavnih puteva ka dezertifikaciji (Dagar et al., 2019) i posle suše je drugi dominantni faktor koji negativno utiče na poljoprivrednu biljnu proizvodnju širom sveta (Bensidhoum et al., 2019). Polazeći od uticaja na biljke, prema FAO (2018) zaslanjenim se smatraju ona zemljišta u kojima soli ometaju normalan rast biljaka.

Iako je natrijum-hlorid (NaCl) dominantna so u većini slanih zemljišta (Rengasamy, 2006), proces salinizacije uključuje i akumulaciju ostalih soli rastvorljivih u vodi u obliku katjona kalijuma (K^+), kalcijuma (Ca^{2+}) i magnezijuma (Mg^{2+}), zajedno sa anjonima hloridom (Cl^-), sulfatom (SO_4^{2-}), nitratom (NO_3^-), bikarbonatom (HCO_3^-) i karbonatom (CO_3^{2-}) (Paul i Lade, 2014). Pod pojmom zaslanjenih zemljišta Daliakopoulous et al. (2016) objedinjuju slana zemljišta koja odlikuje visoka koncentracija soli, sodna sa visokom koncentracijom natrijuma (Na^+), i alkalna zemljišta sa visokom pH vrednošću (usled akumulacije karbonatnih jona (CO_3^{2-})). Iako odlike zemljišta pod uticajem soli variraju oblikovane različitim uslovima životne sredine, ona pripadaju jednoj grupi koja usled uticaja koncentracije elektrolita na procese formiranja, morfologiju zemljišnog profila i druga svojstva, ima ograničenu poljoprivrednu vrednost i nisku plodnost (Szabolcs, 1979 i 1989).

Uobičajeno se kao mera zaslanjenosti zemljišta koristi električna provodljivost zasićenog zemljišnog ekstrakta (EC_e) na 25°C koja se izražava u dS/m (deci Simens/metru) (Negacz et al., 2022). Zemljišta se smatraju slanim kada je vrednost EC_e 4 dS/m ili više. Prema Richards (1954), zemljišta sa vrednostima EC_e 4-8 se smatraju umereno slanim, od 8-16 jako zaslanjenim i preko 16 dS/m izrazito zaslanjenim zemljištima na kojima zadovoljavajući prinos mogu da imaju samo usevi tolerantni na soli.

2.1.1. Nastanak i klasifikacija slanih zemljišta

Klimatski uslovi u velikoj meri utiču na zaslanjivanje. Tako se zaslanjena zemljišta javljaju u sušnim i polusušnim klimatskim zonama kao i u priobalnim delovima nezavisno od klimatske zone (Zeremski et al., 2021).

Prema važećoj klasifikaciji zemljišta (Škorić et al., 1985), u Srbiji se razlikuju dve klase zaslanjenih zemljišta: solončak i solonec. Zaslanjena zemljišta klase solončaka obuhvataju 15-25000 ha u Bačkoj i Banatu, dok solonec zauzima veće površine - oko 75000 ha dominantno u Banatu (68000 ha), manje u Bačkoj i Sremu (Đorđević i Radmanović, 2018; Zeremski et al., 2021).

Solončak je akutno zaslanjeno zemljište sa 1% (hloridno-sulfatno zaslanjivanje) ili 0,7% soli (sodno zaslanjivanje, Na_2CO_3) do 125 cm dubine (Škorić et al., 1985). Solončaci se najčešće formiraju putem tzv. izdanskog zaslanjivanja izazvanog slanim podzemnim vodama (Bijelić et al., 2014; Đorđević i Radmanović, 2018). Pod dejstvom kapilarnih sila, te vode se kreću iz dubljih slojeva ka površini zemljišta gde dolazi do nagomilavanja lakorastvorljivih soli nakon evapotranspiracije vode. Solončaci spadaju u najzaslanjenija zemljišta kod kojih se usled visoke koncentracije soli na površini može javiti tanji ili deblji sloj slane kore (Luković, 2019). Solončaci su siromašni humusom (1-2%) (Đorđević i Radmanović, 2018), dok pH vrednost može biti izrazito alkalna u zavisnosti od tipa i količine prisutnih soli (Bijelić, 2014). Dostupnost lakopristupačnih formi azota i fosfora u ovim zemljištima je niska, kao i ukupna proizvodna sposobnost, na kojima se razvija adaptirana halofitna vegetacija i koriste se kao oskudni pašnjaci (Bijelić et al., 2014).

U poređenju sa solončakom, soloneci su slabije zaslanjena alkalizovana zemljišta (0,15-0,25% soli u B horizontu) (Škorić et al., 1985) i razvijaju se najčešće u kombinaciji sa solončacima, ali na višim delovima terena gde podzemne vode ne mogu dospeti u površinske slojeve zemljišta (Đorđević i Radmanović, 2018). Solonec može da nastane desalinizacijom solončaka. Proces uključuje ispiranje lakorastvorljivih soli iz površinskog sloja zemljišta uz istovremenu alkalizaciju. Alkalizacija nastaje kao posledica adsorpcije Na^+ na mineralima gline, koja kada dostigne 15% dovodi do dezintegracije zemljišnih agregata i disperzije zemljišnih čestica (Đorđević i Radmanović, 2018), koje se nagomilavaju i začepljuju zemljišne pore čineći zemljište zbijenim, nepropusnim za vodu i vazduh, te nepovoljnim za razvoj biljke (Paul i Lade, 2014). Sa aspekta poljoprivredne proizvodnje, prema Bjelić et al. (2014) slatine su zemljišta smanjene plodnosti i produktivnosti, slabo snabdevena nutrijentima usled niske mikrobiološke aktivnosti. Održavanje poljoprivredne proizvodnje na ovakvim zemljištima zahteva kompleksne meliorativne mere i velika ulaganja. Relativno jeftina i ekološki prihvatljiva alternativna strategija može da bude upotreba odabranih mikrobioloških inokulanata za poboljšanje fizičko-hemijskih uslova, opšte biogenosti i produktivnosti zaslanjenih zemljišta (Kumawat et al., 2022). Osnovni preduslov za primenu ove strategije je odabir mikroorganizama adaptiranih na nepovoljne uslove u slanom zemljištu kako bi mogli da efikasno uvećaju svoje populacije i metaboličkom aktivnošću utiču na poboljšanje uslova u zemljištu (Etesami i Beatie, 2018).

2.1.2. Primarna salinizacija zemljišta, lokalitet Slano Kopovo

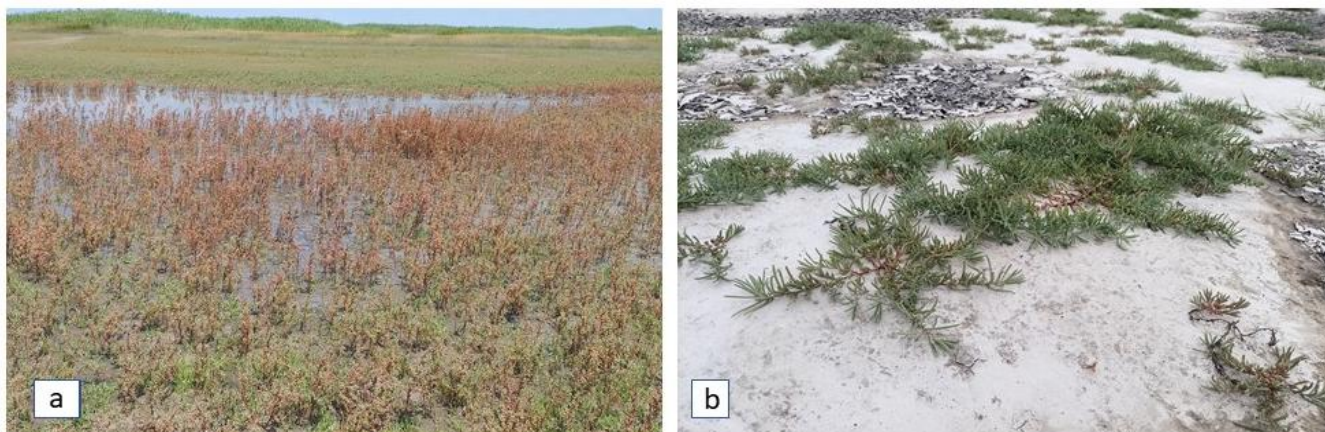
U zavisnosti od faktora koji ga izazivaju, zaslanjenost zemljišta može biti primarna i sekundarna (Paul i Lade, 2014). Primarna salinizacija nastaje kao posledica prirodnih procesa koji uključuju podzemne vode iz dubljih slojeva kao izvor lako rastvorljivih soli, plavljenje zemljišta slanom morskom vodom ili taloženje soli koju vetrovi prenose na kopno u priobalnim područjima (Paul i Lade, 2014; Daliakopoulous et al., 2016). U slučaju aridnih i poluaridnih područja, klimatski faktori mogu biti glavni uzrok zaslanjivanja, gde isparavanje vode dovodi do postepenog nakupljanja soli (Negacz et al., 2022).

Pored klimatskih, zaslanjivanje zavisi od specifičnih lokalnih geoloških, geomorfoloških i hidroloških faktora reljefa (Zeremski et al., 2021). U Srbiji su zaslanjena zemljišta ili slatine dominantno zastupljena u Vojvodini (Luković, 2019). Može se reći da su slatine hidroгене tvorevine nastale posredstvom sezonskih fluktuacija u nivou slanih podzemnih voda (Bjelić et al., 2014). U Vojvodini, slana zemljišta su često kombinovana sa močvarama i slanim jezerima jer najčešće nastaju u aluvijalnim ravnicama ili nižim delovima reliktnih rečnih oblika reljefa sa visokim nivoom podzemnih voda (Zeremski et al., 2021). Lako rastvorljive soli se primarno oslobađaju iz minerala nastalih raspadanjem magmatskih stena (Bjelić et al., 2014). Nizijska topografija terena doprinosi visokom nivou podzemnih voda obogaćenim lako rastvorljivim solima, što omogućava podizanje soli

i nakupljanje u gornjim slojevima zemljišta. U toplim i sušnim periodima godine kada je isparavanje vode izraženije, soli se zadržavaju u zemljištu. Budući da su padavine nedovoljne da ih speru u dublje horizonte, dolazi do nakupljanja soli u površinskim slojevima što dovodi do zaslanjivanja zemljišta.

Zaslanjena zemljišta nastala primarnom salinizacijom na kojima se razvija karakteristična flora i vegetacija poznata su kao prirodne slatine. U širem smislu, slatinska staništa se javljaju kao kontinentalna, uključujući slane močvare, livade i stepe i kao primorska sa močvarama, slanim peščanim obalama i mangrova staništima (Luković, 2019). U Evropi, prirodne slatine se javljaju na teritoriji Španije, Mađarske, Slovačke, Grčke, Austrije, Bosne, Hrvatske, Rumunije, Bugarske, Ukrajine, kao i Srbije (Daliakopoulus et al., 2016; Luković, 2019). Zahvaljujući flori i fauni koju sačinjavaju specijalizovani i često endemični organizmi, prirodne slatine predstavljaju visoko vredna i jedinstvena staništa sa aspekta očuvanja biodiverziteta. Međutim, kao mozaični i fragilni ekosistemi slatine su u velikoj meri ugrožene i pred iščezavanjem (Luković, 2019); zato su u Evropi identifikovane kao prioriteta staništa sa posebnom zaštitom kroz mrežu NATURA 2000 i Ramsarsku konvenciju (Zlatković, 2021).

U ovom istraživanju se za početno formiranje kolekcije potencijalno korisnih bakterija pošlo od reprezentativnog primera kontinentalnih slatinskih staništa-lokaliteta Slano Kopovo, koje se nalazi u severnom Banatu, oko 5 km severoistočno od Novog Bečea. Jezero Slano Kopovo je jedno od poslednjih na slatinama Vojvodine i zajedno sa okolinom jedinstven je lokalitet zbog mešavine vlažnih slatinskih staništa (slane močvare) i suvih slanih stepa i livada. Podloga jezera je po tipu solončak, a voda Slanog Kopova je izrazito bazne reakcije (pH 9,0-9,4) sa prosečnom dubinom oko 70 cm u većem delu jezera koja varira u zavisnosti od vodnog bilansa (<https://www.slanokopovo.com>). Jezero se obnavlja vodom atmosferskih padavina, površinskim doticanjem i podzemnim vodama, a gubi se isparavanjem koje je najizraženije leti. Tokom izrazito sušnih leta, voda može u potpunosti da se povuče a celo dno jezera bude prekriveno slojem soli debljine i nekoliko centimetara (Slika 1).



Slika 1: a) Slano Kopovo leto 2019. godine; b) Dno jezera Slano Kopovo nakon potpunog isparavanja vode, leto 2022. godine (foto M. Dragojević).

Zbog svojih odlika, 2001. godine, zaštićeno je statusom Specijalnog Rezervata Prirode I kategorije Republike Srbije dok je kategorizovano kao stanište IV kategorije po IUCN kategorizaciji. Kao migratorna stanica i mesto gnežđenja velikom broju ptica, prepoznato je kao značajno područje ptica, IBA (*Important bird area*). U julu 2004. godine Slano Kopovo je proglašeno za svetski značajno vodeno stanište po Ramsarskoj konvenciji, a zbog specifičnosti biljnih zajednica iste godine dobija IPA status područja značajnog za biljke (*Important plant area*).

Zbog nepovoljnih osobina zemljišta, slatine su nepogodne za biljnu proizvodnju i koriste se kao oskudni prirodni pašnjaci. Istovremeno, istraživanja adaptacija biljaka koje naseljavaju prirodne slatine mogu poslužiti za pronalaženje rešenja primenljivih na sve većim površinama sekundarno

zaslanjenog zemljišta. U tom kontekstu, značajnu ulogu imaju interakcije biljaka sa mikroorganizmima koji ispoljavaju pozitivne efekte na rast i razvoj biljaka u specifičnim uslovima zaslanjenog staništa.

2.1.3. Sekundarna salinizacija zemljišta

Pored prirodnih procesa, do zaslanjivanja zemljišta može da dođe i antropogeno uslovljenim aktivnostima kroz procese sekundarne salinizacije (Paul i Lade, 2014). Ljudske aktivnosti koje dovode do sekundarne zaslanjenosti zemljišta su uglavnom vezane za poljoprivredu i loše upravljanje zemljištem, dominantno za navodnjavanje i prekomernu upotrebu mineralnih đubriva i pesticida. Navodnjavanje slanom ili vodom lošeg kvaliteta, kao i primena neadekvatnih metoda navodnjavanja na zemljištu loših mehaničkih odlika koje otežavaju drenažu, dovodi do nakupljanja soli (Daliakopoulus et al., 2016). Prisustvo nepropusnih slojeva i loša drenaža u kombinaciji sa sušnom klimom mogu da dovedu do zaslanjivanja zemljišta i u slučaju da se navodnjava vodom koja nije opterećena velikom količinom lakorastvorljivih soli (Otlewska et al., 2019). Istovremeno, ako postoje uslovi za održavanje balansa između nakupljanja i ispiranja soli padavinama, u zemljištima sa dobrim drenažnim osobinama, prisustvo rastvorljivih soli u vodi ne mora dovesti do povišenog saliniteta. Zaslanjivanje zemljišta je posledica udruženog delovanja niza faktora čija kombinacija je specifična za svako područje. Promena prirodne žbunaste i drvenaste višegodišnje vegetacije ka gajenju useva čiji korenov sistem se razvija bliže površini je još jedan faktor koji može da izazove povećanje koncentracije soli u zemljištu narušavanjem hidrološke ravnoteže (Otlewska et al., 2019). Plići razvoj korena i slabija potreba za vodom, omogućavaju održavanje visokog nivoa podzemnih voda a sa njima i lakopristupačnih soli.

Kod useva postoje varijacije u pogledu tolerancije na soli, tako da odabir tolerantnijih useva može biti dobra strategija za gajenje na zaslanjenim zemljištima. Među žitaricama koje se najviše gaje u Evropi, pšenica, ječam i raž se smatraju tolerantnim na soli, dok su suncokret, šećerna repa i pamuk tolerantni (>3 dS/m) do umereno tolerantni (2-3 dS/m) (Daliakopoulus et al., 2016). U poređenju sa ratarskim kulturama, povrće je generalno osetljivije na povećane koncentracije soli sa izuzetkom špargle, artičoke i spanaća kao tolerantnih, dok se krompir, tikvica i šargarepa smatraju umereno otpornim na soli (Bijelić et al., 2014). Od voća, masline i vinova loza su umereno tolerantne, dok je većina koštunjavog voća i citrusa osetljiva na povišene koncentracije soli (Daliakopoulus et al., 2016).

Predložene su i različite agronomske mere koje se mogu primeniti sa ciljem poboljšanja uslova za rast biljaka i plodnosti sekundarno zaslanjenih zemljišta. One obuhvataju unos gipsa (kalcijum sulfata) ili nekih drugih jedinjenja kalcijuma (Paz et al., 2023), ispiranje soli iz zone korena navodnjavanjem i postavljanje drenažnih sistema za uklanjanje slanosti rastvora (Bijelić et al., 2014), povećanje sadržaja organske materije unosom stajnjaka, komposta ili žetvenih ostataka (Paz et al., 2023). Agronomske prakse poput minimalne obrade ili smanjene dubine oranja su podjednako važne kako se soli ne bi prenosile u površinske delove (Bijelić et al., 2014; Paz et al., 2023). Gajenje halofita postaje važna strategija u tzv. slanoj poljoprivredi u zemljištima sa vrlo visokim salinitetom (Rozema i Schat, 2013), a postoje i pokušaji razvoja strategija usmerenih ka stvaranju transgenih biljaka sa pojačanom ekspresijom gena uključenih u toleranciju na soli (Rodriguez Llorente et al., 2019). Budući da je stres izazvan solima uglavnom povezan sa dodatnim abiotičkim stresorima kao što je povećana pH ili prisustvo različitih zagađenja, strategije bazirane na biljkama imaju brojna ograničenja (Rodriguez Llorente et al., 2019).

Za stimulaciju rasta i olakšavanje efekata stresa izazvanog solima kod useva na zaslanjenim zemljištima rešenja se mogu tražiti u primeni korisnih mikroorganizama. Ovo je korisna, jeftina i održiva alternativna strategija koja se može primenjivati samostalno ili u kombinaciji sa prethodno pomenutim. Mikroorganizmi poreklom iz slanosti staništa koji poseduju adaptacije na povišene

koncentracije soli predstavljaju značajan biotehnološki resurs za ublažavanje negativnih efekata zaslanjivanja zemljišta na biljke kao i unapređenje osobina slanog zemljišta (Etesami i Beatie, 2018; Kumawat et al., 2022; Paz et al., 2023).

2.1.4. Uticaj zaslanjenosti zemljišta na biljke i zemljišne mikroorganizme

Negativnim uticajem na fizičko-hemijske i biološke osobine zemljišta, zaslanjenost utiče na rast i diverzitet organizama koji ga naseljavaju, što vodi narušavanju ekološke ravnoteže u čitavom staništu. Stres izazvan povećanom koncentracijom soli negativno utiče na klijanje, vegetativni rast i reproduktivni razvoj biljaka ometajući osnovne fiziološke i biohemijske procese (Shrivastava i Kumar, 2015), što utiče na smanjenje prinosa, a samim tim i na ekonomske aspekte poljoprivredne proizvodnje (Bensidhoum et al., 2019). Zaslanjenost zemljišta izaziva višestruke negativne efekte na neadaptirane biljke (Parida i Das, 2005) dovodeći do osmotskog stresa, toksičnog nivoa jona i neravnoteže u sadržaju hranjivih materija (Shrivastava i Kumar, 2015). Pored biljaka, prekomerno zaslanjivanje zemljišta ima negativan uticaj na mikroorganizme dovodeći do odumiranja ili prelaska u neaktivne forme. Rastvorljive soli povećavaju osmotski potencijal zemljišnog rastvora, izazivajući gubitak vode iz ćelija što dovodi do smrti putem plazmolize. Sušenje i liza mikrobnih ćelija usled osmotskog stresa smanjuju mikrobnu biomasu, istovremeno dovodeći do promena u strukturi njihovih zajednica (Yan et al., 2015), što ima negativan efekat na zemljišne procese posredovane mikroorganizmima, a koji su ključni za kruženje organske i mineralne materije i održavanje plodnosti zemljišta. Mikroorganizmi oslobađaju enzime i druge molekule iz svojih ćelija koji učestvuju u procesima transformacije organskih i mineralnih materija u zemljištu, a koji su sastavni deo biogeochemijskih kruženja različitih elemenata. Istovremeno, mikrobna biomasa predstavlja značajan deo zemljišne organske materije koja se brzo transformiše (Kumawat et al., 2022). Ugljenik i nutrijenti skladišteni u mikrobnj biomasu se nakon odumiranja ćelija mineralizuju delovanjem živih mikroorganizama (Yan et al., 2015). Trošenje energije na preživljavanje u slanom zemljištu smanjuje aktivnost mikroorganizama i efikasnost mikrobiološki posredovanih procesa, čime se usporava transformacija organske materije u zemljištu i smanjuje dostupnost nutrijenata za biljke (Paul i Lade, 2014; Bensidhoum et al., 2019).

2.2. Biljne zajednice slanog staništa

Slana zemljišta u kojima visoka koncentracija soli i/ili visoka pH ograničavaju rast većini biljaka, su stanište halofita koje su specijalizovane biljke sa kapacitetom za toleranciju povećanog saliniteta u zemljištu (Szabolc, 1994). Flowers i Colmer (2008) definišu halofite kao biljke koje mogu da rastu i razmnožavaju se na zemljištima sa koncentracijom soli oko 200 mM NaCl (što odgovara 20 dS/m) ili većoj i tu sposobnost poseduje samo oko 1% svetske flore.

Halofite pružaju brojne ekosistemske usluge u zaslanjenim staništima. Vezivanjem ugljenika ugrađivanjem u biomasu, uticajem na mineralizaciju, kao i kruženje nutrijenata, halofite poboljšavaju uslove u mikro staništima, a kao značajan izvor organske materije doprinose očuvanju čitavog ekosistema zaslanjenih staništa (Chaundhary et al., 2015; Li et al., 2018). Akumulacijom soli u tkivima, halofite mogu uticati na smanjenje koncentracije soli u slanom zemljištu čime stvaraju povoljnije uslove za rast drugih biljaka u okruženju (Song i Vang, 2015). Usled rastućeg globalnog problema sekundarne salinizacije sve više se ističe značaj tzv. "slane" poljoprivrede gde bi halofite imale bitnu ulogu (Rozema i Schat, 2013). Predstavnici *Salicornia* L., *Atriplex* L., *Suaeda* Scop., *Plantago* L. se koriste u ishrani (Luković et al., 2022). Neke halofite, poput *Artemisia santonicum* L. i predstavnika roda *Plantago* su izvor bioaktivnih jedinjenja (Stanković, 2019, Luković et al., 2022) ili se koriste kao uljarice, stočna hrana, gorivo i izvor vlakana (Rozema i Schat, 2013).

Ekološki, halofite su raznolika grupa u pogledu staništa, opsegu tolerancije na soli ili načinima na koji reaguju na faktore u spoljašnjoj sredini (Grigore i Toma, 2007). Mehanizmi tolerancije na soli postoje na svim organizacionim nivoima biljke (Dajić, 2006) i nalaze se u osnovi adaptivnih strategija za život u uslovima povećanog saliniteta. Halofitska vegetacija je izložena velikom broju stresnih faktora kao što su visok osmotski pritisak, toksičnost jona, nepovoljna struktura zemljišta, pH i nedostatak nutrijenata (Dajić, 2016). Prema Dajić (2006), strategije halofita za preživljavanje u uslovima povišenog saliniteta razvijale su se u pravcu izbegavanja stresa ili ka njenoj toleranciji.

Jedna od strategija je sposobnost akumulacije vode u tkivima ili sukulentsnost koja pomaže biljkama da opstanu u sušnim kao i uslovima povišenog saliniteta. Sukulentsnost omogućava biljci razblaživanje jona akumuliranih u tkivima čime se na efikasan način ublažava njihov štetan efekat (Dajić, 2006). Pojedine halofite akumuliraju velike količine soli koje sa starenjem mogu da dostignu toksične nivoe u vegetativnim organima biljke. Kako bi smanjile štetne efekte akumuliranih soli, biljke povećavaju sadržaj vode u svojim tkivima ili pojačavaju rast, što je praćeno morfo-anatomskim promenama kao što su povećanje zapremine ćelija, debljine listova ili smanjenje broja stoma (Dajić, 2006). Istovremeno se u citoplazmi nakupljaju osmotski kompatibilni rastvori poput prolina, glicina betaina, saharoze ili drugih kako bi se balansirao osmotski pritisak jona u vakuolama (Munns i Tester, 2008).

Reprezentativni predstavnici halofita sa adaptivnim strategijama akumulacije soli i sukulentsnosti koje se mogu naći u Slanom Kopovu i koje su korišćene u istraživanju u okviru ove disertacije su *Salicornia europaea* L., *Suaeda maritima* L. i *Camphorosma annua* Pall. (Slika 2). *S. europaea* i *S. maritima* su biljke koje rastu na vlažnim, peskovitim i ponekad zagađenim slanim zemljištima i imaju dosta slične ekološke zahteve (Grigore i Toma, 2007). *S. europaea* naseljava obalska kao i kopnena slana staništa i jedna je od halofita koje najviše akumuliraju so, dok prisustvo karakterističnog parenhimskog tkiva za skladištenje vode omogućava sukulentsnost (Grigore i Toma, 2007). Budući da zadržava sposobnost fotosinteze u uslovima povišene koncentracije soli, *S. europaea* je bitna za kruženje ugljenika u zaslanjenim staništima što je čini pogodnom za bioremedijaciju slanih zemljišta (Fan et al., 2011). Predstavnici roda *Suaeda* se takođe navode kao biljke sa ulogom u desalinizaciji zemljišta zahvaljujući efikasnim kapacitetima za akumulaciju soli u sukulentsnim listovima čime se smanjuje količina soli u okolini korena (Wang et al., 2024).

Prema klasifikaciji halofita koju su predložili Grigore i Toma (2010), *S. maritima* i *S. europaea* pripadaju grupi ekstremnih halofita koje naseljavaju isključivo slana staništa, dok su *C. annua* uključili u grupu "reverzibilnih" halofita što podrazumeva veću fleksibilnost u prilagođavanju promenama saliniteta i sposobnost rasta u širokom opsegu slanih staništa. Adaptacije *C. annua* uključuju sukulentsne listove prekrivene kutikulom sa razvijenim tkivom za skladištenje vode.

Pojedine halofite, kao što su predstavnici roda *Limonium* Mill. (Plumbaginaceae), poseduju sone žlezde pomoću kojih izlučuju višak soli što zajedno sa akumulacijom kompatibilnih osmolita omogućava održavanje jonske homeostaze i osmotske ravnoteže u uslovima povišenog saliniteta. Predstavnik ove grupe halofita koji se može naći u Slanom Kopovu je *Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze (Slika 2c). Honfi et al. (2023) su pokazali da visoke koncentracije soli (500 mM) imaju negativan efekat na rast *L. gmelinii*, kao i da odgovor ove biljke na stres izazvan povišenim koncentracijama soli u velikoj meri zavisi od tipa zemljišta usled razlika u količini vlage, dostupnosti hranljivih materija i sadržaja toksičnih jona.

Rod *Plantago* obuhvata više od 200 vrsta od kojih su 20 halofite, što ga čini podesnim za uporedne studije tolerancije na stres solima. Predstavnik *Plantago schwarzenbergiana* Schur je indikatorska vrsta lekovitih biljaka slanih zemljišta (Luković, 2019) i na lokalitetu Slano Kopovo se javlja sa *L. gmelinii* i *A. santonicum* (Slika 2a, b, c), sa kojima je zajedno korišćena u istraživanjima sprovedenim u okviru ove disertacije. Grigore i Toma (2010) su *P. schwarzenbergiana* svrstali u grupu mezohalofita, kao prelaznu grupu između ekstremnih halofita i glikofita sa umereno razvijenim adaptacijama na povišene koncentracije soli koje mogu naseljavati i slabo zaslanjena staništa.



Slika 2: Predstavnici biljnih zajednica Slanog Kopova a) *Artemisia santonicum* L. b) *Plantago schwarzenbergiana* Schur c) *Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze d) *Agrimonia eupatoria* L. e) *Hordeum geniculatum* All. (sin. *Hordeum hystrix* Roth) f) *Suaeda maritima* L. g) *Camphorosma annua* Pall. h) *Salicornia europaea* L. (foto M. Dragojević, J. Novaković).

Slatinski pelin, *Artemisia santonicum* je višegodišnja polužbunasta halofita koja se javlja na zaslanjenom, suvom i alkalnom zemljištu. U Srbiji, *A. santonicum* raste samo na teritoriji Vojvodine, obično na solonecima u slanim stepama (Gajić, 1975). Još jedna lekovita biljka sa lokaliteta Slanog Kopova odabrana za istraživanja u okviru ove teze, iako ne predstavlja halofitu u užem smislu, je *Agrimonia eupatoria* L. (Rosaceae) (Slika 2d). Uobičajena staništa *A. eupatoria* uključuju padine, puteve, kamenite oblasti, kao i suve travnjake i sušne šume (Muruzović et al., 2016). Narodnog naziva petrovac, ova biljka ima široku primenu u narodnoj medicini (Paluch et al., 2020) ali i za ekstrakciju korisnih jedinjenja za farmaceutsku industriju (Muruzović et al., 2016).

Mehanizmi tolerancije na soli halofita iz porodice trava (Poaceae) oslanjaju se na održavanje homeostaze K^+ i isključivanje Na^+ , kao i produkciju organskih kompatibilnih osmolita (Rozema i Schat, 2013). *Hordeum geniculatum* All. (sin. *Hordeum hystrix* Roth) (Slika 2e) je jednogodišnja vrsta iz familije trava (Poaceae) i smatra se obligatnom halofitom koja raste na blago do umereno slanim zemljištima tipa solonac, često na pašnjacima sa intenzivnom ispašom koji imaju visok sadržaj nutrijenata (Eliáš Jun et al., 2013). Ispitivanja mehanizama tolerancije na soli halofitnih divljih srodnika su važna zbog uloge ječma kao useva. Divlji srodnici useva imaju bolje organizovane i struktuisane mikrobiome u poređenju sa gajenim (Michl et al., 2023), pa razlike u mehanizmima otpornosti treba tražiti i u sastavu mikrobioma divljih i domaćih varijeteta, jer je uticaj biljne mikrobiote neraskidivo vezan sa opstankom biljke u specifičnim uslovima staništa.

Kombinovana slatinska staništa poput Slanog Kopova na kojima se smenjuju slane močvare i livade su posebno interesantna za izučavanje biljnih zajednica, ali i pratećih mikrobni populacija. Biljne zajednice uglavnom čine halofite koje poseduju raznovrsne adaptacije za ublažavanje štetnih efekata akumuliranih soli u zemljištu, ali usled heterogenosti u pogledu količine soli (Canfora et al., 2014) na slatinama se sreću i nehalofilne vrste.

Za razvoj i preživljavanje biljaka na zaslanjenom zemljištu, pored genetski uslovljenih adaptacija veliku ulogu imaju asocirane mikrobne populacije. Slana zemljišta odlikuju specifični i po mnogo čemu ekstremni uslovi koji nameću veliki izazov za preživljavanje neadaptiranim mikroorganizmima (Kumawat et al., 2022), zbog čega se slatine ne smatraju mestima intenzivne mikrobne aktivnosti. Ispitujući uticaj saliniteta na bakterijske zajednice, Dong et al. (2022) su zaključili da salinitet ne utiče na bogatstvo vrsta već na značajno smanjenje mikrobne aktivnosti usled nedostatka organske materije. Povezani sa halofitama, mikroorganizmi koji naseljavaju slana staništa poseduju adaptacije za preživljavanje nepovoljnih osmotskih uslova u zemljištu i imaju integralnu ulogu u funkcionisanju ovih ekosistema. Sa rastućim problemom povećanja površina pod sekundarno zaslanjenim zemljištima intenziviranim klimatskim promenama, alternativna ali i ekološki prihvatljiva rešenja se traže u mikrobni zajednicama koje su povezane za halofitama na slanom staništu (Dodd i Perez Alfonsea, 2012; Paul i Lade, 2014; Etesami i Beattie, 2018). Izučavanje diverziteta ovih zajednica, proučavanje osobina pojedinačnih vrsta sprovode se sa ciljem potencijalne primene za povećanje produktivnosti useva na slanim zemljištima (Egamberdieva et al., 2019).

2.3. Halotolerantni/halofilni zemljišni mikroorganizmi

Zemljište je stanište bogate zajednice makro i mikroorganizama. "Nevidljiva većina" koju čine zemljišni mikroorganizmi ima ključnu ekološku ulogu u procesima vezanim za nastanak i održavanje strukture zemljišta, biogeohemijske cikluse i produktivnost biljaka (van der Heijden et al., 2008; Romero et al., 2023). Prema Saccá et al. (2017) mikroorganizmi deluju kao hemijski, ekosistemski inženjeri i biološki regulatori u zemljištu. Uloga hemijskih regulatora se odnosi na transformaciju organskih i neorganskih jedinjenja što rezultuje oslobađanjem nutrijenata za biljke i bioremedijacijom zemljišta. Kao ekosistemski inženjeri deluju na formiranje zemljišta i održavanje njegove strukture, dok kroz biološke interakcije utiču na biljke i druge organizme u zemljištu. Polazeći od značaja koji mikroorganizmi imaju za procese u zemljištu, prisustvo mikroorganizama koji zadržavaju metaboličku aktivnost u uslovima povišenog saliniteta je važno za funkcionalnost i produktivnost ekosistema slanih zemljišta. Svojom aktivnošću, ovi mikroorganizmi će osigurati odvijanje fundamentalnih ekosistemskih procesa u slanom zemljištu.

Mikroorganizmi u slanim zemljištima se suočavaju sa promenama u sastavu i koncentraciji soli usled variranja u sadržaju vode (Yan et al., 2015). U uslovima visoke koncentracije soli, ćelija gubi vodu, dolazi do smanjenja zapremine, lize i smrti (Daoud i Ali, 2020). Samo mikroorganizmi sa mehanizmima regulacije unutrašnjeg osmotskog pritiska mogu da žive u uslovima povećane i/ili promenljive koncentracije soli i oni pripadaju halotolerantnim i/ili halofilnim mikroorganizmima.

Halofilni mikroorganizmi zahtevaju određene koncentracije soli za normalan rast i obavljanje fizioloških procesa (Shivanand i Mugerava, 2011). Mikroorganizmi sposobni da prežive u širokom rasponu koncentracija soli nazivaju se halotolerantni i, za razliku od halofila, ne zahtevaju so za rast. Obe grupe poseduju specifične mehanizme osmoregulacije za održavanje osmotskog pritiska i sprečavanje gubitka vode iz ćelija u hiperosmotskoj sredini (Oren, 2006).

Postoji više strategija kojima se mikroorganizmi prilagođavaju promenama osmotskog pritiska od kojih su najvažnije: usvajanje jona transportom kroz membranu pomoću jonskih pumpi (*“salt in”* strategija) i sinteza ili akumulacija kompatibilnih organskih osmolita. *“Salt in”* strategija se ogleda u unošenju i akumulaciji neorganskih jona, dominantno K^+ , u citoplazmi bakterijske ćelije pomoću jonskih pumpi i ostalih transportnih sistema prisutnih na ćelijskoj membrani (Daoud i Ali, 2020). Aktivnim ispumpavanjem iz ćelije održava se niža koncentracija Na^+ u citoplazmi halofila u odnosu na spoljašnju sredinu, uz istovremeno usvajanje K^+ , što su energetski zavisni procesi (Rath i Rousk, 2015). *“Salt in”* strategija je zastupljena kod halofila u užem smislu, koji ne mogu da prežive u slučaju smanjenja koncentracije soli, kao što su halofilne arhee i ekstremno halofilne bakterije (Oren, 2006; Daoud i Ali, 2020). Enzimi i ostale ćelijske komponente ovih mikroorganizama su prilagođene visokim koncentracijama soli i pokazuju slabu fleksibilnost i sposobnost prilagođavanja njihovim promenama u spoljašnjoj sredini (Shivanand i Mugerava, 2011). Adaptirani su na određenu koncentraciju soli za održavanje homeostaze, usko su specijalizovani i smanjenje koncentracije soli može da bude letalno za njihove ćelije (Daoud i Ali, 2020). Strategija koja uključuje sintezu organskih kompatibilnih osmolita je zastupljena kod umereno halofilnih i halotolerantnih bakterija (Oren, 2006). Mikroorganizmi sa ovom strategijom održavaju niske nivoe jona u citoplazmi aktivnim ispumpavanjem iz ćelije i reaguju na promene osmotskog potencijala sintezom ili usvajanjem organskih kompatibilnih osmolita (Shivanand i Mugerava, 2011). To su jedinjenja male molekulske mase, netoksična, rastvorljiva u vodi, koji ne inhibiraju enzimsku aktivnost kada su prisutna u visokim koncentracijama u ćeliji (Oren, 2006). Ova strategija pruža fleksibilnost i omogućava adaptacije na širok raspon koncentracija soli izvan ćelije i brzu reakciju na promenu koncentracije u spoljašnjoj sredini. Kompatibilni osmoliti uključuju glicerol, šećere, amino kiseline i njihove derivate i kvaternerne amine kao što su glicin betain i ektoin (Shivanand i Mugerava, 2011). Dodatne adaptacije halotolerantnih bakterija obuhvataju: promene u strukturi ćelijske membrane modifikacijom proteina, glukana, sastava masnih kiselina što ograničava unos soli (Paul i Lade, 2014), produkciju enzima i proteina koji su aktivni pri visokim koncentracijama soli, povećavanje energetskog kapaciteta ćelije i stvaranje egzopolisaharida i biofilmova koji pružaju zaštitu (Ruppel et al., 2013; Etesami i Beattie, 2018; Etesami i Glick, 2020).

Pored osmotskih adaptacija za preživljavanje u uslovima povišenih koncentracija soli bitne osobine su pokretljivost kao i produkcija pigmenata sa antioksidativnom ulogom. Pokretljivost je jedna od glavnih osobina bakterija koja im omogućava da aktivnim pomeranjem pomoću specijalizovanih struktura, odgovore na promene u spoljašnjoj sredini i kolonizuju različita staništa (Venieriaki et al., 2016; Palma et al., 2022). Različiti tipovi pokretljivosti kod mikroorganizama kao što su *“plivanje”* (*swimming*), *“rojenje”* (*swarming*) ili *“grčenje”* (*twitching*) (Palma et al., 2022) zastupljeni su u zavisnosti od površinskih struktura, pri čemu kod jedne bakterije može postojati više mehanizama pokretljivosti. Plivajuća pokretljivost je bazični tip pokretljivosti koji se odvija pomoću rotirajuće flagele. Ova pokretljivost se smatra individualnom osobinom, što znači da ćelija samostalno reaguje na signale u okruženju i određuje pravac kretanja bez koordinacija sa drugim bakterijama (Venieriaki et al., 2016).

Pokretne bakterije imaju mogućnost da izbegnu nepovoljne uslove, što je važno za preživljavanje u heterogenim sredinama kakva su zaslanjena zemljišta. Zatim, pokretljivost je među ključnim osobinama koja daje adaptivnu prednost ćelijama da naseljavaju rizosferu i rizoplan, krećući se privučene biljnim eksudatima (Compant et al., 2010). Vođena hemotaksijom, pokretljivost omogućava da se prate detektovani hemijski gradijenti i dosegnu niše sa novim nutrijentima (Ebrahimi i Or, 2014). Stoga je pokretljivost od značaja i za međusobne mikrobne i biljno-mikrobne

interakcije (Aroney et al., 2021). Iako daje brojne prednosti, pokretljivost je energetski zahtevna za ćeliju i zavisi od uslova u ćelijskoj okolini. U nepovoljnim uslovima, kakva je povećana koncentracija soli, može doći do prekidanja kretanja i usmeravanja energije u neke druge mehanizme preživljavanja kao što je osmoregulacija. Plivajuća pokretljivost se odvija u tečnoj ili polutečnoj sredini. Kretanje kroz zemljište zavisi od dovoljne količine vlage za formiranje vodenih puteva. Gubitkom vlage evaporacijom, drenažom ili usvajanjem od strane biljaka, formiraju se vazdušni džepovi koji zaustavljaju kretanje. Vazdušni džepovi istovremeno negativno deluju na hemotaksis jer sprečavaju disperziju hemoatraktanta i formiranje hemijskog gradijenta (Ebrahimi i Or, 2014). Prevazilaženje prepreka nastalih vazdušnim džepovima se može postići prenošenjem na ili u telima zemljišne faune, duž hifa gljiva ili korena (Aroney et al., 2021).

Pored osmotskog stresa, povećana akumulacija soli u zemljištu negativno deluje na ćelije povećavajući oksidativni stres, što zahteva aktivaciju različitih mehanizama za neutralizaciju reaktivnih vrsta kiseonika (*reactive oxidative species* ROS). ROS interaguju sa vitalnim ćelijskim strukturama izazivajući oštećenja koja narušavaju osnovne procese i vode ćelijskoj smrti. ROS dovode do lipidne peroksidacije koja narušava strukturu i permeabilnost ćelijske membrane, narušavaju strukturu proteina i dovode do modifikacija baza i prekida u lancima DNK (Addorisio et al., 2022).

Različita jedinjenja se produkuju kao odgovor biljaka i mikroorganizama na oksidativni stres, među kojima pigmenti imaju značajnu ulogu. Dominantan tip bakterijskih pigmenata u slanim i hiperslanim staništima su karotenoidi (Fariq et al., 2019) koji predstavljaju jedan od najvažnijih neenzimskih antioksidativnih sistema za neutralizaciju slobodnih radikala unutar ćelije i zaštitu ćelijskih struktura (Correa-Llanten et al., 2012; Banik et al., 2018). Zahvaljujući antioksidativnoj ulozi, karotenoidi pomažu mikroorganizmima da prežive u ekstremnim sredinama u uslovima stresa izazvanog UV zračenjem, visokim temperaturama i hiperosmotskim sredinama (Fariq et al., 2019).

Život u slanim zemljištima je izazovan zbog konstantnih prostorno-vremenskih varijacija u sadržaju soli i vode (Yan et al., 2015). Prema tome, mikroorganizmi su izloženi udruženom delovanju više vrsta abiotičkog stresa, što zahteva aktivaciju različitih mehanizama odbrane i regulacije koje su energetski veoma zahtevne za ćelije što dodatno otežava njihov opstanak. Najveći broj mikroorganizama se stoga nalazi u blizini biljke jer korenski sistem obezbeđuje nutrijente za rast i razvoj.

2.4. Bakterijske zajednice asocirane sa halofitama

Adaptacije halofita na stres solima su neraskidivo povezane sa složenim ekološkim procesima koji su pod uticajem mikrobnih zajednica koje naseljavaju različita biljna tkiva i organe (Ruppel et al., 2012). Skup svih asociranih mikroorganizama predstavlja mikrobiotu koja povećava kapacitete biljke za adaptaciju na određeno stanište u kome deluju različiti abiotički i biotički faktori (Bulgarelli et al., 2013; Rodríguez-Llorente et al., 2019). Kolektivni genom mikrobnih zajednica asociranih sa biljkom, mikrobiom, višestruko prevazilazi genom biljke domaćina i posmatra se kao njegov produžetak ili drugi biljni genom (Berendsen et al., 2012; Schlaeppi i Bulgarelli, 2015). Sa razvojem metoda koje su omogućile uvid u zajednice mikroorganizama bez kultivacije, postaje jasno da se biljke ne mogu posmatrati odvojeno već zajedno sa asociranim mikroorganizmima, kao holobionti, a kolektivni genom kao hologenom (Poupin et al., 2023). Shodno tome, sposobnost biljke da preživi, raste i reprodukuje se u specifičnom staništu je pod uticajem hologenoma, a ne samo biljnog genoma (Poupin et al., 2023). Na oblikovanje holobionta utiče biljka, sredinski faktori kao i mikrobnomikrobne interakcije. Delujući na sve komponente holobionta, specifični faktori sredine utiču na sastav mikrobnih zajednica favorizujući mikroorganizme sa korisnim efektima na biljku u određenom okruženju (Hassani et al., 2018). Sadržaj i sastav nutrijenata za mikroorganizme varira u različitim delovima biljke, što vodi razvoju adaptiranih mikrobnih zajednica koje mogu imati pozitivne

(mutualističke), neutralne (komensalne) ili negativne (patogene) efekte na rast i razvoj biljke (Thrall et al., 2007). Mikrobno-mikrobne interakcije imaju značajnu ulogu u oblikovanju zajednica asociranih sa biljkama imajući u vidu ranije evolutivno poreklo mikroorganizama, brzinu razmnožavanja i gustinu populacija u različitim delovima biljke.

Količina soli i vlage variraju u zaslanjenim zemljištima i u fiziološki neujednačenom okruženju se ne razvija homogena (halotolerantna) zajednica mikroorganizama već čitav niz adaptiranih zajednica (Canfora et al., 2014; Otlewska et al., 2020). Prema tome se i različiti delovi biljaka koje rastu na slanom zemljištu odlikuju specifičnošću mikrobnih zajednica koje su direktno ili indirektno uključene u osmoregulaciju halofita olakšavajući im preživljavanje u uslovima stresa solima (Otlewska et al., 2020).

Budući da je koren mesto gde se biljka susreće sa slanim zemljištem, mikrobiota halofita vezana za koren i usku zonu oko korena su od posebnog značaja za izučavanje biljno-mikrobnih interakcija na zaslanjenim zemljištima. Koren predstavlja mesto usvajanja nutrijenata dok istovremeno služi za transport ugljenika asimilovanog u biljci ka zemljištu, utiče na stabilizaciju zemljišta i stvara fizički prostor za razvoj rizosfere (Moran i McGrath, 2021). Prilikom analiza mikroorganizama povezanih sa korenom, potrebno je napraviti razliku između zajednica koje naseljavaju unutrašnjost korena (endorizosfera), zajednica koje su povezane sa spoljašnjom površinom korena (rizoplan) i zajednica u okolnom zemljištu koje nije pod direktnim uticajem biljke (Bulgarelli et al., 2012; Reinhold-Hurek et al., 2015).

2.4.1. Rizosferne zajednice halofita

Rizosfera je zona zemljišta koja je pod neposrednim uticajem korena i predstavlja područje izraženih mikrobnih interakcija i aktivnosti koje su od vitalnog značaja za biljku (Bakker et al., 2013). Predstavlja složeno i dinamično mikrostanište u kome se prepliću uticaji biljke, zemljišta i velikog broja mikroorganizama. Uprkos maloj veličini, rizosfera ima ogromnu ulogu u zemljišnoj biogeohemiji i mikrobiologiji, kao mesto razmene nutrijenata, energije i predstavlja “vruću tačku” mikrobne aktivnosti (Moran i McGrath, 2021).

Izražena mikrobna aktivnost je posledica obilja hranljivih materija koje potiču od biljke kroz procese rizodepozicije. Rizodepozicija obuhvata akumulaciju organskih i neorganskih jedinjenja kao i ćelija korena u rizosferi (Hartman et al., 2009). Sa površine korena u rizosferu dospevaju žive ćelije (posebno u vrhu korena), polisaharidni mucigel koji oblaže korensku kapu, kao i mrtve ćelije korena koje se odvajaju sa korenskih dlaka i epiderma u starijim delovima korena. Pored ćelija koje se dalje razlažu delovanjem mikroorganizama, ćelije rizoderma luče spektar organskih jedinjenja nastalih u fotosintezi, šećere, organske kiseline, fitosiderofore, aminokiseline, vitamine, kao i neorganske jone u rizosferu (Bulgarelli et al., 2013). Rizodepoziti podstiču rast zemljišne mikrobiote a njihov sastav utiče na selekciju rizosfernih zajednica. Količina rizodepozita varira u zavisnosti od tipa ekosistema, vrste, veličine nadzemnog dela kao i faze razvoja biljke (Hartman et al., 2009; Bulgarelli et al., 2013).

Kako bi se uspešno izvršila kolonizacija rizosfere, mikroorganizmi moraju posedovati odgovarajuća svojstva. U jednoj od prvih studija bakterijske genomike u rizosferi, Matilla et al. (2007) su pokazali da se ključne selektivne sile za uspešno naseljavanje rizosfere odnose na mogućnost korišćenja dostupnih nutrijenata u korenskim eksudatima kao i sposobnost adaptacije na stresne uslove koji vladaju u rizosferi. U interakciji sa korenom kukuruza, isti autori su zabeležili povećanu ekspresiju gena uključenih u usvajanje amino kiselina i aromatičnih jedinjenja prisutnih u eksudatima korena kukuruza kao i gena uključenih u odbranu od oksidativnog stresa i detoksikaciju kod *Pseudomonas putida* KT2440. Ovi rezultati ukazuju da se genska ekspresija kod bakterija menja i prilagođava ka korišćenju nutrijenata prisutnih u korenskim eksudatima kao i na preživljavanje u stresnim uslovima u rizosferi. Budući da su mikroorganizmi privučeni prisustvom odgovarajućih nutrijenata u rizosferi,

prisustvo flagele i hemotaksis ka eksudatima i mucigelu su osobine koje su važne za naseljavanje rizosfere (Compant et al., 2010). Korenski eksudati privlače korisne mikroorganizme, ali i bakterije i gljive koje imaju neutralan ili štetan efekat na mikroorganizme i biljku; shodno tome je kompetitivnost važna osobina za uspešno naseljavanje rizosfere. Sekundarni metaboliti uključeni u biološku kontrolu, poput antibiotika, litičkih enzima ili siderofora omogućavaju bakterijama koje ih proizvode selektivnu prednost i kompetitivnost u kolonizaciji rizosfere i rizoplana pri čemu ostvaruju i pozitivan efekat na biljku delujući protiv fitopatogena (Compant et al., 2010).

Na sastav mikrobne zajednice u rizosferi utiču i biljka i zemljište, ali koji faktor ima odlučujući uticaj zavisi od abiotičkih i biotičkih faktora u staništu (Berg i Smalla, 2009). Biljka deluje na mikroorganizme u rizosferi putem korenskih eksudata. Sastav korenskih eksudata varira među biljnim vrstama, što rezultuje razvojem različitih mikrobne populacije usled različitih nutritivnih afiniteta (Hartman et al., 2009). Korenski eksudati određene biljne vrste mogu stimulisati ili zaustaviti rast bakterija i promena sastava korenskih eksudata je mehanizam kojim biljke vrše odabir članova mikrobne zajednice u rizosferi (Dhungana et al., 2023). Pored ovog, Feng et al. (2023) su pokazali da biljka može da utiče na sekvencijalnu ekspresiju gena za stimulaciju rasta i biološku kontrolu kod *Bacillus velezensis* SQR9 i *Pseudomonas protegens* CHA0 promenom korenskih eksudata tokom različitih razvojnih faza biljke. Isti autori su dodatno identifikovali hemijska jedinjenja koja dovode do promene funkcionalne ekspresije gena kod ispitivanih bakterija. Dobijeni rezultati potvrđuju uticaj biljke na oblikovanje mikrobiote što je posebno izraženo u uslovima stresa, kada putem promene sastava korenskih eksudata biljke utiču na privlačenje mikroorganizama koji bi mogli da pospeše rast i razvoj i olakšaju efekte stresa. Ova hipoteza je poznata kao poziv za pomoć “*cry for help*” (Rolfe et al., 2019) čiji mehanizmi nisu dovoljno poznati. Odlike zemljišta, pre svega salinitet, pH i količina vode zajedno sa aktivnošću biljke regulišu strukturu i diverzitet mikroorganizama u rizosferi halofita (Wang et al., 2024a). Količina soli deluje kao sredinski filter koji preživljavaju samo adaptirani mikroorganizmi, dok se dodatna selekcija odvija delovanjem biljke (Otlewska et al., 2019).

Istraživanje Chaudhary et al. (2015) je pokazalo značajne razlike u hemijskom i mikrobiološkom sastavu između rizosfere i okolnog zemljišta. Količine azotnih jedinjenja (ukupnog N, $\text{NH}_4\text{-N}$), kao i dostupnih K i Na su bile veće u rizosferi analiziranih *Suaeda* i *Aeluropus* u odnosu na okolno zemljište. Razlike u količini nutrijenata su zabeležene i među rizosferom različitih halofita. Najveće količine azotnih i ostalih nutrijenata su zabeležene u rizosferi *Suaeda*, što se objašnjava izlučivanjem azotnih jedinjenja preko korena, ali i većom količinom biljnih ostataka ove biljke koja u poređenju sa ostalim analiziranim halofitama ima veću nadzemnu biomasu. Iako se u rizosferu izlučuju organske kiseline koje pospešuju solubilizaciju fosfata, količina dostupnog P u rizosferi sukulenata je bila manja od okolnog zemljišta što je verovatno posledica usvajanja od strane biljke ili imobilizacije P. Električna provodljivost (EC) u rizosferi halofita je bila manja od okolnog zemljišta u radu Chaudhary et al. (2015). Slične rezultate dobili su Qiu et al. (2022) koji su pokazali veći sadržaj svih analiziranih nutrijenata zajedno sa smanjenim salinitetom u rizosferi halofita u poređenju sa okolnim slanim zemljištem. Usvajanje soli od strane sukulentnih halofita i akumulacija u listovima dovela je do smanjenja njihove koncentracije u rizosferi, što je istaknuta ekosistemska uloga halofita u bioremedijaciji slanih zemljišta.

Zahvaljujući obilju hranljivih materija u rizosferi, aktivnost i gustina mikrobne populacije su uglavnom veće od okolnog zemljišta. Usled snažnog uticaja biljke biljke (Matilla et al., 2007) neretko diverzitet u rizosferi može da bude manji od okolnog zemljišta, što se često dešava u agroekosistemima. Međutim, u uslovima stresa kao što je povećanje soli ili suša, biljka deluje u pravcu povećanja diverziteta u rizosferi “regrutacijom” korisnih mikroorganizama koji mogu da olakšaju negativne efekte stresa, što je u skladu sa “*cry for help*” hipotezom. Povećan diverzitet u rizosferi halofita u odnosu na okolno zemljište su pokazali rezultati Qiu et al. (2022), što je objašnjeno delovanjem halofita na oblikovanje mikrobne zajednice oslobađanjem nutrijenata i snižavanjem saliniteta u okolini korena. Istovremeno, povećanje diverziteta i aktivnosti mikroorganizama u

rizosferi dovodi do intenziviranja procesa transformacije organske i mineralne materije, oslobađanja nutrijenata i ostalih jedinjenja koja mogu biti od pomoći biljci u uslovima stresa.

Povećanje količine soli u zemljištu negativno utiče na rast, respiraciju, enzimsku aktivnost i diverzitet mikroorganizama u zemljištu (Zhang et al., 2019). Pristupačnost nutrijenata zavisi od pH vrednosti, ali se bakterije razlikuju u sposobnosti tolerancije prema različitim pH, što se odražava na sastav mikrobnih populacija. Narušavanje fizičko-hemijskih uslova u zemljištu sa povećanjem soli vodi smanjenju dostupnih nutrijenata, što se takođe odražava na mikrobne populacije. Povećanje saliniteta (EC zemljišta), pH i Na^+ imalo je negativan uticaj na alfa diverzitet bakterija, arhea i strukturu analizirane mikrobne zajednice u rizosferi predstavnika *Suaeda* (Wang et al., 2024a). Wang et al. (2024a) zaključuju da *Suaeda* reaguje na povećan salinitet selekcijom mikrobnih zajednica sa većim mogućnostima halotolerancije i korisnim svojstvima koja ublažavaju stres izazvan salinitetom, što vodi specijalizaciji (smanjenju diverziteta) rizosfernog mikrobioma. Razlike u sastavu mikrobnih zajednica rizosfere kod dve vrste *Suaeda* naglašavaju ulogu vrste u selekciji mikroorganizama (Wang et al., 2024). Brojne studije dokazuju uticaj halofita na strukturnu i funkcionalnu raznolikost zajednica u rizosferi, usled varijacije u eksudatima korena i rizodepoziciji u različitim zonama (Chaudhary et al., 2015; Huang et al., 2018; Peng et al., 2022; Qiu et al., 2022). Analizirajući mikrobne zajednice dve vrste roda *Suaeda*, Peng et al. (2022) su pokazali značajne razlike u sastavu zajednica okolnog zemljišta, rizosfere i endorizosfere kod iste vrste, pri čemu su najizraženije razlike bile između zajednica zemljišta i endorizosfere. Mreže zajednica zemljišta i rizosfere su bile povezaniye u odnosu na endofitnu. Proteobacteria i Actinobacteria su označene kao komponenta osnovnog (*core*) mikrobioma za *Suaeda* vrste (Peng et al., 2022), ali i druge halofite (Yammamoto et al., 2018; Kearn, 2019). Široku zastupljenost ovih velikih bakterijskih grupa objašnjava sposobnost brzog rasta i korišćenje različitih nutrijenata poreklom iz halofita kao i pozitivan uticaj koji imaju na biljke u ekstremnom staništu.

2.4.2. Endorizosferne zajednice halofita

Zahvaljujući mehanizmima biljke za održavanje homeostaze na zaslanjenom tlu, uslovi života unutar tkiva halofita su stabilniji od uslova u zemljištu, ali i izazovniji usled izraženog uticaja biljke. Endofite su mikroorganizmi čiji se životni ciklus delimično ili potpuno odvija unutar različitih tkiva i organa biljke bez izazivanja vidljivih negativnih efekata na domaćina (Rosenblueth i Martínez-Romero, 2006; Hardoim et al., 2008). Endofite su u najbližem kontaktu sa biljkom i imaju bolji i efikasniji pristup resursima biljke (Afzal et al., 2019) bez izražene kompeticije koja postoji u rizosferi (Hartman et al., 2009).

Najveći broj korenskih endofita potiče iz rizosfere (Compant et al., 2010) pri čemu mikrobiom endorizosfere ima manji diverzitet od mikrobioma zemljišta i rizosfere (Liu et al., 2017) što je posledica selekcije mikroorganizama kroz tri ekološke niše (rizosfera, rizoplan ka endorizosferi). Bulgarelli et al. (2013) predlažu „dvostepeni“, a Reinhold Hurek et al. (2015) „trostepeni“ model selekcije korenskih endofita. Prema dvostepenom modelu, prvi korak u diferencijaciji od zemljišnih zajednica koje su pod uticajem edafskih faktora ka zajednicama u rizosferi je vođen supstratom, rizodepozitima i odlikama ćelijskog zida domaćina koji stimulišu rast određenih grupa mikroorganizama. U drugom koraku, dominantan je uticaj biljke na selekciju rizosfernih mikroorganizama koji kolonizuju endorizosferu. Trostepeni model dodaje i specijalizovanu zajednicu rizoplana na površini korena kao prelazni korak u selekciji mikroorganizama između rizo i endorizosfere. Uticaj biljke je izraženiji u formiranju zajednica rizoplana, a najizraženiji je u endorizosferi gde se mikrobiom dodatno sužava pod uticajem biljke zadržavajući manju raznovrsnost ali i specifično prilagođene mikroorganizme. Oba modela ističu rizosferu kao nišu gde je selekcija mikroorganizama uslovljena nutrijentima, dok približavanjem unutrašnjosti korena, zajednice postaju specijalizovanije, usled rastućeg uticaja genotipa biljke na njihov sastav. Za uspešnu kolonizaciju rizoplana bitne su osobine prijanjanja, pili, adhezini i produkcija egzopolisaharida (EPS) (Compant

et al., 2010; Liu et al., 2017). Nakon kolonizacije rizoplana, bakterije mogu ulaziti u tkivo korena, aktivno ili pasivno. Osobine bakterija koje omogućavaju aktivnu endofitnu kolonizaciju i kretanje kroz biljna tkiva su stvaranje lipopolisaharida, flagela, pila i pokretljivost. Od posebnog značaja je produkcija enzima koji razgrađuju ćelijski zid, celulaza i pektinaza, koji olakšavaju prolazak i širenje kroz biljku (Compant et al., 2010). Endofite mogu pasivno da ulaze u biljku kroz pukotine nastale delovanjem patogena ili zemljišne faune, kao i na mestima gde se razdvaja ćelijski zid usled rasta korenske dlake (Afzal et al., 2020). Endofite koje u tkivo korena dospevaju slučajno, kroz rane ili pukotine nastale na mestima rasta, Liu et al. (2017) označavaju kao pasivne. Zajedničko za pasivne endofite je da ostaju u površinskom delu usled nedostatka osobina neophodnih za uspešnu kolonizaciju dubljih slojeva korena. Ove endofite nemaju značajniji uticaj na rast i razvoj biljaka (Fadiji i Babalola, 2020).

Hardoim et al. (2008) razlikuje obligatne i fakultativne endofite. Obligatne endofite su zavisne od biljke, ne mogu se razmnožavati izvan tkiva i prenose se vertikalno, semenom. Ove bakterije poseduju osobine za aktivnu kolonizaciju korena, šire se vaskularnim tkivima i dobro su prilagođene uslovima koji vladaju u unutrašnjosti biljke (Hardoim et al., 2008; Liu et al., 2017). Fakultativne endofite žive slobodno u zemljištu i kolonizuju koren u povoljnim uslovima (Fadiji i Babalola, 2020). Najveći broj ostaje u korteksu korena, ali mogu i da se prenose u druga biljna tkiva sprovodnim sudovima (Compant et al., 2010). Životni ciklus većine endofita obuhvata smenu između života u zemljištu i unutrašnjosti biljke (Afzal et al., 2019) i najveći broj bakterija koje imaju pozitivan uticaj na biljku pripada ovoj grupi (Hardoim, 2015). Pored horizontalne transmisije od zemljišta ka unutrašnjosti korena, endofitni mikrobiom se može prenositi i vertikalno putem semena ka rizosferi (Feng et al., 2023). Pored osobina bakterija koje su značajne za endofitnu kolonizaciju, populacije endofita variraju u zavisnosti od tkiva, faze rasta i genotipa biljke, kao i uslova u spoljašnjoj sredini (Otlewska et al., 2020). Genotip i faza razvoja biljke utiču na endofitni mikrobiom biljke promenom nutritivnog statusa u tkivima, koji se menja u različitim fazama razvoja (Liu et al., 2017). Iako žive u relativno stabilnim uslovima i direktno koriste dostupne nutrijente u tkivima, endofitni način života stvara dodatne izazove koji se pre svega odnose na izbegavanje imunog odgovora biljke. Kao neke od mehanizma izbegavanja imunog sistema biljke, Liu et al. (2017) navode smanjenu produkciju enzima koji razlažu ćelijski zid u odnosu na patogene kao i održavanje niže gustine populacija u tkivima biljke.

Endofitne zajednice halofita mogu da se razlikuju od endofitih zajednica ostalih biljaka jer količina soli deluje kao filter za mikroorganizme sa mehanizmima osmoregulacije (Furtado et al., 2019). Adaptacije halofita kao što je akumulacija soli u listovima i sukulenost, vode tome da njihova tkiva mogu da nasele halofilne/halotolerantne bakterije od kojih su mnoge sa potencijalno korisnim ulogama u rastu i razvoju biljke domaćina u slanom staništu (Mora-Ruiz et al., 2016).

Shodno prethodno opisanim modelima selekcije endofita, veći diverzitet i bogatstvo bakterijskih zajednica u rizosferi halofita u poređenju sa endofitnim potvrđen je brojnim istraživanjima (Huang et al., 2018; Yammamoto et al., 2018; Furtado et al., 2019; Peng et al., 2022). Ključni razdeli endorizosfere su Proteobacteria, Actinobacteria i Firmicutes koji sadrže veliki broj opisanih predstavnika koji imaju pozitivan efekat na rast i razvoj biljaka. Chloroflexi, Cyanobacteria, Verrucomicrobia, Planctomycetes i Nitrospirae mogu biti prisutne, ali sa manjim udelom dok su Archaea, Acidobacteria i Gemmatimonadetes retki ili potpuno odsutni u endorizosferi (Liu et al., 2017). Kako bi endofite koristile unutrašnjost biljke kao ekološku nišu, neophodan je dugotrajan proces "aklimatizacije" bakterija i uspostavljanja balansa sa biljkom domaćinom. Tokom ovog procesa, endofite su izložene delovanju niza biotičkih i abiotičkih faktora koji redefinišu njihov metabolički kapacitet (Furtado i Hryniewicz, 2021). Furtado i Hryniewicz (2021) ističu sledeće faktore kao ključne u oblikovanju endofitne zajednice halofita: uticaj zemljišta (budući da su endofite podskup zemljišne mikrobiote), vreme prilagođavanja unutrašnjosti biljke, biljna vrsta, organ kao i faza rasta biljke.

Budući da su u tesnoj vezi sa halofitama, korisne osobine endofita za rast ili toleranciju na stres biljke je potrebno istražiti i iskoristiti njihov potencijal za primenu za poboljšanje rasta useva netolerantnih na soli (Furtado et al., 2019; Furtado i Hrynkiewicz, 2021).

2.4.3. pristupi analizi mikrobnih zajednica

Upoznavanje diverziteta, izolacija korisnih mikroorganizama kao i ispitivanje mogućnosti njihove primene za povećanje otpornosti useva na stres solima predstavljaju izazove sa metodološke strane koji zahtevaju kombinovani pristup različitih metoda i tehnika mikrobiologije, molekularne biologije (i biotehnologije). Metode za analizu mikrobnih zajednica mogu se podeliti na metode zavisne i nezavisne od gajenja (kultivacije) mikroorganizama u laboratoriji.

Metode koje podrazumevaju gajenje mikroorganizama u kulturi su deo tradicionalnog mikrobiološkog pristupa i baziraju se na korišćenju različitih hranljivih podloga i rastu mikroorganizama u kontrolisanim laboratorijskim uslovima. Čista kultura mikroorganizma je neizostavna za detaljne genetičke analize i potencijalnu aplikaciju, pri čemu je osnovni nedostatak odgajivačkog pristupa nemogućnost gajenja najvećeg broja mikroorganizama u laboratorijskim uslovima (Turner, 2013). Procenjuje se da je samo oko 0.1-1% mikroorganizama moguće gajiti u laboratorijskim uslovima (Solden et al., 2016) i ovaj raskorak u broju kultivabilnih predstavnika definisan je kao „velika anomalija podloge“ (Staley i Konopka, 1985). Analize sekvenci gena za 16 rRNK direktno iz uzoraka životne sredine su pokazale da skoro polovina poznatih filuma bakterija sadrži samo jednog predstavnika kojeg je moguće gajiti (Solden et al., 2016). Molekularne analize su otkrile postojanje razdela kandidata (Candidat Phyla-CP) koji se sastoje isključivo od mikroorganizama koji se ne mogu gajiti (Solden et al., 2016; Sarhan et al., 2019). Ovi razdeli zajednički nazvani „mikrobna tamna materija“ verovatno čine veliki deo mikrobne biomase i biodiverziteta dok njihova osnovna metabolička i ekološka svojstva ostaju nepoznata (Solden et al., 2016).

Nutritivni i sredinski zahtevi rizosfernih mikroorganizama su izrazito heterogeni i uglavnom nepoznati. Prema tome ne postoji metod ili univerzalna podloga koja se može koristiti za izolaciju i održavanje većine mikroorganizama povezanih sa korenom (Sarphe i Javadi, 2022). Unapređenja *in vitro* tehnika ka gajenju novih vrsta uključuju: dodavanje mikro, makronutrijenata i signalnih molekula u medijume za gajenje, zajedničko gajenje radi simulacije biotičkih faktora, manipulaciju uslovima inkubacije koji favorizuju grupu mikroorganizama od interesa (npr. produžena inkubacija na nutritivno siromašnim medijumima za izolaciju oligotrofa) (Sarhan et al., 2016). Korišćenje hranljivih podloga sa dodacima biljnog porekla kao što su sokovi ili prah dehidratiranih biljaka povećava uspešnost gajenja mikroorganizama povezanih sa biljkom. Saleh et al. (2017) su za gajenje halotolerantnih mikroorganizama poreklom iz halofita razvili medijum koji se bazira na sirovim biljnim sokovima halofita razblaženim u morskoj vodi bez dodatnih sastojaka. Ovaj medijum je povećao sposobnost kultivisanja (>15,0-20,0%) u poređenju sa standardnim veštačkim medijumom sa dodatkom NaCl. Podloge od sastojaka biljnog porekla omogućavaju gajenje *in vitro* velikog broja bakterija koje pripadaju razdelima Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes i Actinobacteria (Sarhan et al., 2019).

Sekvenciranje gena za ribozomalne RNK zajedno sa daljim unapređenjem metoda i tehnika molekularne biologije, omogućilo je detekciju bakterija iz prirodnih sredina koje nije bilo moguće odgajiti u laboratoriji (Riesenfeld et al. 2004). Tehnike nezavisne od gajenja omogućile su potpunije upoznavanje genetičkog diverziteta, strukture populacija i ekoloških uloga mikroorganizama u biljnom mikrobiomu, obuhvatajući retke i/ili nekultivabilne vrste što je osnova za razumevanje biljno-mikrobnih ili mikrobno-mikrobnih interakcija (Schlaeppli i Bulgarelli, 2015).

Molekularna identifikacija postaje preciznija uvođenjem DNK barkodinga (Janakiev, 2019), pri čemu su barkod regioni kratki delovi DNK koji se mogu lako amplifikovati i sekvencirati iz uzoraka, bez

potrebe za gajanjem mikroorganizama u laboratoriji. Metagenomske analize zajedno sa sekvenciranjem nove generacije (*Next Generation Sequencing* NGS) koje omogućavaju analizu kompletnih genoma mikrobne zajednice direktno iz životne sredine postaju dominantan metod za analizu diverziteta zemljišta i rizosfere. Metagenomika se definiše kao istovremena karakterizacija mešavine DNK sadržane u uzorku iz životne sredine (Riesenfeld et al. 2004) i postavila je osnove razvoju ostalih OMIC-s tehnika koje omogućavaju višestruk uvid u metaboličke kapacitete analiziranog mikrobioma (Schlaepi i Bulgarelli, 2015). NGS omogućava uvid u celokupne mikrobne zajednice asocirane sa biljkom (Schlaepi i Bulgarelli, 2015) i karakteriše ga masovno paralelno sekvenciranje velikog broja molekula DNK i potpuna automatizacija procesa sekvenciranja. Gen za 16s rRNK je dugačak oko 1600 bp i sadrži devet varijabilnih regiona (V1-V9) različitog stepena konzervisanosti (Bukin et al., 2019). Odabir 16s rRNK regiona za sekvenciranje je bitan za preciznu analizu diverziteta zajednice. Konzervativniji regioni su pogodni za analizu viših taksonomskih kategorija dok hipervarijabilni regioni kao što su V2 i V3 pogoduju identifikaciji rodova ili vrsta (Bukin et al., 2019). Kombinovanim korišćenjem DNK barkodova kao što su 16S rRNK za bakterije ili ITS region za gljive zajedno sa NGS tehnikama, metagenomika amplikona ili metabarkoding tehnički omogućava identifikaciju taksona prisutnih u određenom uzorku sa visokom preciznošću zbog čega je postao široko korišćen molekularni pristup analizi biodiverziteta mikroorganizama u životnoj sredini (Alberdi et al., 2018; Bukin et al., 2019).

Analiza mikrobni zajednica pomoću metabarkodinga uključuje: uzorkovanje, izolovanje ukupne DNK iz uzorka, amplifikaciju target gena, sekvenciranje amplikona odabranom platformom kao što je Illumina i bioinformatičku analizu podataka. Ukupni diverzitet se povećava sa dubinom sekvenciranja do dostizanja platoa koji ukazuje da sa daljim povećanjem dubine neće doći do opisivanja novih taksona. Stoga je važno odrediti optimalnu dubinu sekvencioniranja koja bi pokrila mikrobni diverzitet za svaku studiju (Alberdi et al., 2018). Očitane sekvence je neophodno obraditi adekvatnim bioinformatičkim alatima kako bi se dobile finalne jedinstvene sekvence koje se na osnovu sličnosti (97% ili više) grupišu u operativne taksonomske jedinice (OTU). OTU služe za razlikovanje taksona na osnovu sličnosti genetskog koda određenog sekvenciranjem, ali ih je potrebno povezati sa ekološkim i fiziološkim osobinama vrsta za pravilnu identifikaciju (Ruppert et al., 2019). Analiza OTU pruža bitne informacije o diverzitetu populacije. Bogatstvo pojedinačnih vrsta i njihova raspodela (ujednačenost) u uzorku opisuje se alfa diverzitetom koji se izražava indeksima kao što su Chao, Shannon ili Simpson (koji se računaju preko učestalosti ili distribucije OTU u populaciji) koristeći bioinformatičke alate kao što je Qiiime platforma (Caporaso et al., 2010). Bogatstvo i ujednačenost vrsta su bitni indikatori diverziteta određene populacije (Choi et al., 2015). Na primer, niske vrednosti indeksa koji opisuju bogatstvo vrsta praćeni niskom ujednačenošću ukazuju na dominaciju nekoliko taksona u populaciji što govori o uslovima koji vladaju u staništu analizirane mikrobne zajednice. Dok alfa diverzitet daje pregled diverziteta u pojedinačnom uzorku, beta diverzitet se koristi za poređenje mikrobnih profila više uzoraka pružajući podatke o funkcionalnoj raznolikosti između populacija (Choi et al., 2015). Za računanje beta diverziteta koriste se različiti indeksi sličnosti kao što je Bray-Curtis koji pokazuju koji deo populacije je zajednički u različitim uzorcima.

Biljna mikrobiota sadrži relativno veliku frakciju kultivabilnih bakterija (Finkel et al., 2017) čije kolekcije sadrže biotehnološki značajne predstavnike. U analizi šumskog zemljišta, VanInsberghe et al. (2013) su pokazali da je 22% mikrobiote detektovane molekularnom metodom moguće gajiti na hranljivim podlogama što ukazuje da je preklapanje između kultivabilne i nekultivabilne mikrobote veće nego što se ranije mislilo. Mora Ruiz et al. (2015) su uspeli da odgaje u laboratorijskim uslovima 66% mikroorganizama koji naseljavaju list halofita otkrivenih 454 pirosekvenciranjem. Diverzitet i sastav mikrobni zajednica povezanih sa rizosferom i endorizosferom tri halofite koje su rasle na slano-alkalnim zemljištima analizirane su Illumina sekvenciranjem V3 i V4 hipervarijabilnih regiona 16S rRNK u radu Gao et al. (2022). Rezultati su pokazali da je diverzitet u rizosferi analiziranih biljaka veći nego u endorizosferi, dok su dominantni razdeli u uzorcima bili *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Proteobacteria*. Illumina sekvenciranje korišćeno je za

analizu mikrobnih zajednica rizo- i endorizosfere halofita *Messerschmidia sibirica* (Tian i Zhang, 2017), *Halocnemum strobilaceum*, *Halostachys caspica*, *Limonium gmelinii*, *Lycium ruthenicum* i *Kalidium foliatum* (Li et al., 2018), *Glaux maritima* i *Salicornia europaea* (Yamamoto et al., 2018) kao i rizosfere *S. europaea* (Peng et al., 2022; Wang et al., 2024b). Szymanska et al. (2018) i Furtado et al. (2019) su analizirali endofitni mikrobiom korena sukulentne *S. europaea*, dok su Wang et al. (2021) istraživali endofite povezane sa *Suaeda glauca* korišćenjem Illumina sekvencioniranja proširujući uvid u mikrobne zajednice povezane sa sukulentama.

Bez obzira na neophodnost korišćenja tehnika nezavisnih od gajenja u analizi diverziteta zajednica, za dublje razumevanje biljno-mikrobne interakcije i što potpuniju analizu mikrobiote, Shaleppi i Bulgarelli (2015) predlažu kombinovani pristup. Kearl et al. (2019) su za analizu mikrobnih zajednica povezanih sa tri halofite *Salicornia rubra*, *Sarcocornia utahensis*, i *Allenrolfea occidentalis* koristili kombinovani pristup. Korišćene metode nezavisne od gajenja su uključivale DNK sekvenciranje pomoću Illumina platforme koje je pokazalo dominaciju razdela i klasa Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Gama i Delta Proteobacteria u rizo i endorizosferi analiziranih halofita. Izolati iz istih uzoraka pripadali su dominantno rodovima *Halomonas*, *Bacillus*, i *Kushneria* koji su pokazali sposobnost stimulacije rasta lucerke u uslovima povišene koncentracije soli.

2.5. Halotolerantne bakterije stimulatori biljnog rasta (HT PGP)

Interakcije sa mikroorganizmima imaju važnu ulogu za rast i razvoj biljke, kao i održavanje zdravlja zemljišta (Etesami i Glick, 2020). Biljno-mikrobne interakcije obuhvataju epifitne (na površini biljke), endofitne (unutrašnjost biljnih tkiva) i rizosferne (neposredna okolina korena) (Etesami i Glick, 2020) koje mogu biti korisne, štetne ili neutralne za biljku (Lynch, 1990). Bakterije koje različitim mehanizmima stimulišu rast i razvoj biljaka označavaju se kao bakterije stimulatori biljnog rasta (PGP) (Kloepper i Schroth, 1978). Ključni deo mikrobiote halofita predstavljaju halotolerantne bakterije stimulatori biljnog rasta (HT PGP) koje naseljavaju rizosferu, filosferu i endosferu i doprinose rastu, zdravlju i otpornosti biljke na stres kroz višestruke PGP mehanizme (Kumawat et al., 2021). Mehanizmi stimulacije biljnog rasta mogu se podeliti u dve kategorije: direktne i indirektne (Glick, 1995). Direktnim mehanizmima PGP bakterije neposredno utiču na fiziološke procese u biljci putem produkcije fitohormona kao regulatora fizioloških procesa ili kroz povećanje dostupnosti nutrijenata (azot, fosfor, kalijum, cink, gvožđe) (Glick, 2012). Indirektni mehanizmi stimulacije biljnog rasta odnose se na delovanje protiv biljnih patogena, pri čemu se smanjenjem ili blokiranjem njihovog uticaja olakšava rast i razvoj biljke (Glick, 2012).

2.5.1. Uticaj halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP) na povećanje dostupnosti nutrijenata

Izazivajući jonsku i osmotsku neravnotežu, preterana akumulacija soli u zemljištu ima negativan uticaj na dostupnost nutrijenata, ometa njihovo usvajanje i transport unutar biljke, što može da rezultuje deficitom u esencijalnim nutrijentima (Fageria et al., 2011; Paul i Lade, 2014; Khan et al., 2023). Nedostatak nutrijenata pojačava efekte abiotičkog stresa i umanjuje sposobnost biljke da se prilagodi nepovoljnim uslovima sredine, ometa rast, reprodukciju i umanjuje prinos. Zbog toga su mehanizmi HT PGP bakterija kojima se kroz procese solubilizacije i mineralizacije oslobađaju nutrijenti dostupni biljkama za usvajanje važni za preživljavanje biljaka u uslovima povećanih koncentracija soli.

Zbog negativnog efekta povećanog saliniteta na azotofiksaciju i aktivnost mikroorganizama, u slanim zemljištima produktivnost biljaka može da bude smanjena usled nedostatka dostupnih oblika azota (Fageria et al., 2011; Etesami i Beattie 2018). Nadoknada azota đubrenjem može da dovede do

sekundarne salinizacije i dodatne degradacije zemljišta. Stoga je produkcija amonijaka važno svojstvo HT PGP kojim povećavaju dostupnost azota u zaslanjenim zemljištima. Enzimskim transformacijama azotne organske materije, bakterije oslobađaju amonijak (ili amonijum) koji je dostupan biljkama za usvajanje, čime se direktno stimuliše biljni rast. Marques et al. (2010) su pokazali da je produkcija amonijaka od strane bakterija pozitivno uticala na rast korena, izdanka i biomasu kukuruza. Prisustvo amonijaka ograničava delovanje patogenog uticajem na smanjenje sposobnosti kolonizacije biljke i klijanja spora gljiva (Goswami i Deka, 2020), čime se ostvaruje i indirektna stimulacija biljnog rasta.

Kao sastavni deo makromolekula, fosfor (P) je neophodan za pravilan rast i razvoj svim ćelijama. Samo 0,1% ukupnog fosfora je dostupno biljkama zbog slabe rastvorljivosti i snažnog vezivanja za zemljišne čestice (Goldstein, 1986). Zahvaljujući ulozi u regulaciji fizioloških odgovora, njegova uloga je nezamenljiva u povećanju tolerancije biljaka na različite abiotičke stresove uključujući salinitet (Khan et al., 2023). Povećan salinitet dodatno može smanjiti količinu dostupnog fosfora, usled prelaska u manje rastvorljive i teže pristupačne oblike (Fageria et al., 2011). Fosfor se u zemljištu može nalaziti u mineralnoj formi kao apatit ili organskom obliku kao fosfomonoestri, fosfortriestri i fitati što su teško rastvorljivi oblici (Glick, 2012; Etesami i Glick, 2020). Unošenje fosfora u zemljište đubrenjem smanjuje negativne efekte soli na biljku, povećava efikasnost fotosinteze, usvajanje nutrijenata i rast (Khan et al., 2023). Međutim, najveća količina fosfornih mineralnih đubriva bude imobilisana nakon aplikacije i neiskorišćena od strane biljaka, povećavajući količinu nedostupnog fosfora u zemljištu (Glick, 2012).

Bakterije koje imaju sposobnost da povećaju dostupnost fosfora u zemljištu solubilizacijom mineralnih jedinjenja označene su kao fosfat-solubilizirajuće bakterije (PSB). Delovanje halotolerantnih PSB je važno za funkcionisanje biljke u zaslanjenim zemljištima jer one povećavaju dostupnost fosfora biljkama bez dodatnog zaslanjivanja i narušavanja fizičko-hemijskih osobina zemljišta (Otlewska et al., 2019). Solubilizacija mineralnih oblika fosfora se vrši različitim mehanizmima koji podrazumevaju helaciju, jonsku razmenu, produkciju organskih kiselina male molekulske mase kao što je glukonska, limunska, sukcinatna ili mlečna, ali i kroz mineralizaciju organskih jedinjenja fosfora delovanjem enzima (Etesami i Beattie, 2018). Mineralizacija organskih jedinjenja fosfora se odvija delovanjem različitih fosfataza koje katalizuju hidrolizu fosfornih estara. Isti soj bakterija može da povećava dostupnost fosfora solubilizacijom iz mineralnih i mineralizacijom iz organskih oblika (Glick, 2012). Dodatna uloga mikroorganizama u zemljištu, posebno u zaslanjenom, je sprečavanje gubitka fosfora ugrađivanjem u mikrobnu biomasu. Predstavnici halotolerantnih PSB *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Halobacillus*, *Halomonas*, *Planococcus*, *Oceanobacillus*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Zhihengliuella* su izolovani iz brojnih halofita (Navarro-Torre et al., 2017; Mapelli et al., 2013; Zhao et al., 2016; Teles et al., 2024) i pokazali sposobnost stimulacije rasta useva kao što je pšenica (Orhan, 2016; Albdaiwi et al., 2019) ili repa (Zhou et al., 2017) u uslovima povećanog saliniteta.

Kalijum (K) je makronutrijent koji kao aktivator preko 60 enzima, ima važnu ulogu u rastu i razvoju biljaka i učestvuje u otpornosti biljke na bolest i abiotički stres (Kour et al., 2020). Rezerve kalijuma u zemljinoj kori su velike, ali samo 1-2% je direktno dostupno biljkama i mikroorganizmima za korišćenje i to je kalijum u zemljišnom rastvoru koji se lako ispira u dublje slojeve zemljišta (Etesami et al., 2017).

Mnoge bakterije poseduju efikasne mehanizme za oslobađanje dostupnih formi kalijuma iz neorganskih oblika i označavaju se kao kalijum-solubilizirajuće bakterije (KSB) (Kour et al., 2020). Osnovni mehanizam KSB je razlaganje alumosilikata produkcijom organskih ili neorganskih kiselina u procesu acidolize, zatim produkcija siderofora, reakcije katjonske razmene i sprečavanje ispiranja kalijuma ugrađivanjem u mikrobnu biomasu (Etesami et al., 2017; Ashfaq et al., 2020). Produkcija ekstracelularnih polimera uključujući proteine i egzopolisaharide (EPS) koji stvaraju biofilm preko minerala i stena je rasprostranjen mehanizam za oslobađanje kalijuma iz minerala (Ashfaq et al.,

2020; Nawaz et al., 2023). Sposobnost solubilizacije kalijuma zabeležena je kod predstavnika rodova: *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Acidithiobacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Erwinia*, *Azospirillum*, *Marinococcus*, *Serratia*, *Streptomyces*, i *Azotobacter* (Etesami et al., 2017; Nawaz et al., 2023). Kontrola usvajanja i transporta Na kroz biljku kao i održavanje Na:K odnosa je bitno sa aspekta održavanje homeostaze u uslovima povišenog saliniteta (Ashfaq et al., 2020). U slanim zemljištima, Na^+ konkuriše sa K^+ za apsorpciju u biljku; shodno tome je uloga KSB u oslobađanju kalijuma važna zbog njegove uloge u zaštiti biljke od stresa izazvanog povećanom količinom Na i održavanju normalnog metabolizma biljke (Nawaz et al., 2023). Halotolerantne KSB izolovane iz slanih staništa imaju sposobnost solubilizacije kalijuma u uslovima povišenog saliniteta (Ashfaq et al., 2020), što ih čini dobrom alternativnom strategijom za snabdevanje biljaka kalijumom (Nawaz et al., 2023).

Cink (Zn) je važan mikronutrijent sa višestrukim ulogama u biološkom sistemu. Zbog njegove slabe rastvorljivosti (dostupnosti) u uslovima povišene pH, visokog sadržaja bikarbonata i odnosom Mg^{2+} i Ca^{2+} (Wissuwa, 2006), nedostatak cinka u slanim zemljištima je posebno izražen (Otlewska et al., 2019), a njegova uloga nazamenljiva u biohemijskim reakcijama, rastu, reprodukciji biljaka i sintezi biljnih hormona auksina (Gandhi i Muralidharan, 2016). Upotreba mineralnih đubriva sa cinkom nije dovoljno efikasna zbog relativno brze fiksacije nakon primene i gubitka dostupnih oblika za biljku (Yasmin et al., 2021). Mnoge rizosferne bakterije imaju sposobnost da solubilizuju neorganske izvore cinka kao što su ZnO i ZnCO_3 prevodeći ih u oblik dostupan biljkama za korišćenje (Wissuwa et al., 2006), čime mogu da smanje ili zamene dodavanje izvora cinka putem mineralnih đubriva. Bakterije sa ovim svojstvom nazivaju se cink-solubilizirajuće bakterije (ZSB) i njihovi predstavnici su opisani kod rodova *Thiobacillus*, *Bacillus*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* i *Acinetobacter* (Gandhi i Muralidharan, 2016) kao i *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Klebsiella* (Gontia Mishra et al., 2017).

Još jedan esencijalni mikronutrijent za fiziološke procese kod biljaka je gvožđe (Fe). Gvožđe ulazi u sastav metaloproteina i kofaktor je mnogih enzima uključenih u vitalne reakcije kod biljke kao što su sinteza DNK, fotosinteza, respiracija, transpiracija i azotofiksacija (Abbas et al., 2015; Etesami i Beattie, 2018). Mnoge biljke pokazuju simptome deficita gvožđa u sredinama sa $\text{pH} > 5$ (Abbas et al., 2015). Dostupnost Fe^{3+} se smanjuje sa povećanjem pH vrednosti zbog čega je njegov nedostatak veliki problem u krečnjačkim i slano-sodnim zemljištima širom sveta (Etesami i Beattie, 2018; Gamalero et al., 2020). Sa povećanjem saliniteta i nedostatkom gvožđa, dolazi do smanjenja količine hlorofila u mladim listovima i pojave hloroze što vodi redukciji rasta i razvoja biljke (Abbas et al., 2015). Budući da je i mikroorganizmima neophodno gvožđe, problem njegovog deficita je još izraženiji u rizosferi biljaka koje rastu u slanim staništima usled kompeticije. U uslovima nedostaka gvožđa bakterije proizvode male molekule sa velikim afinitetom za vezivanje Fe^{3+} koji se zovu siderofore. Siderofore oslobođene iz ćelije vezuju dostupne Fe^{3+} jone u okolini formirajući kompleks koji se zove ferisiderofor, a koji se, nakon prepoznavanja membranskim receptorima, unosi u bakterijsku ćeliju (Gamalero et al., 2020). Tokom prolaska kroz membranu, Fe^{3+} jon se prevodi u Fe^{2+} pre nego što se oslobodi i koristi unutar bakterijske ćelije (Neilands, 1981; Gamalero et al., 2020). Bakterijske siderofore imaju veći afinitet vezivanja za Fe^{3+} od fitopatogenih gljiva kod kojih je gvožđe neophodno za mehanizme infekcije biljke (Otlewska et al., 2019). Mnoge HT PGP bakterije izolovane iz halofita proizvode siderofore gvožđa (Navarro-Torre et al., 2017; Zhou et al., 2017; Mahdi et al., 2021; Oliva et al. 2023) što je svojstvo koje dvojako deluje na biljku: direktno preko snabdevanja gvožđem i indirektno smanjenjem delovanja patogenih gljiva.

2.5.2. Uticaj halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP) na regulaciju nivoa fitohormona

Pored povećanja dostupnosti mikro i makronutrijenata, HT PGP bakterije direktno utiču na rast, razvoj i odgovor biljaka na različite vidove stresa u spoljašnjoj sredini putem produkcije i menjanjem nivoa fitohormona.

Indol-3-sirćetna kiselina (IAA) je najpoznatiji hormon iz grupe auksina, hormona rasta, koji reguliše različite aspekte biljnog rasta i razvoja. IAA utiče na deobu, izduživanje i diferencijaciju ćelija, ima značajnu ulogu u klijanju, razvoju ksilema i korenovog sistema, kontroliše vegetativni rast, sintezu mnogih metabolita i odgovor biljaka na stresne uslove (Glick, 2012; Egamberdieva et al., 2019). Stimulacijom rasta korena i povećanjem apsorpcione površine pospešuje se usvajanje vode i nutrijenata iz zemljišta (Otlewska et al., 2019). Khan et al. (2023) ističu ulogu IAA u odgovoru biljke u uslovima nedostatka fosfora, gde auksin stimuliše razvoj bočnih korenova i korenskih dlačica čime se povećava površina za usvajanje fosfora.

Produkcija IAA je relativno česta odlika PGP bakterija (Dodd i Perez Alfonsia, 2012) i HT PGP sa ovim svojstvom mogu da nadomeste nedostatak biljnog IAA i poboljšaju rast i toleranciju biljaka u uslovima stresa izazvanog solima. Orhan (2016) je zabeležio pozitivan uticaj HT PGP koje produkuju IAA na rast korena, izdanka i svežu masu pšenice u uslovima stresa solima. Efekti auksina na rast mogu biti stimulativni ili inhibitorni, što zavisi od koncentracije. Uticaj bakterijski produkovanog (egzogenog) IAA zavisi od nivoa prisutnog u biljci (endogenog IAA), vrste biljke, faze rasta i osetljivosti na IAA. Bakterijski IAA može pozitivno uticati na biljke koje imaju niske nivoe IAA (Glick, 2012). Prevelike količine auksina mogu inhibitorno delovati na rast, stoga biljka može da neutrališe višak ovog hormona vezivanjem sa peptidima, aminokiselinama ili šećerima (Gamalero et al., 2020).

Etilen je gasoviti biljni hormon uključen u različite faze biljnog rasta, procese vezane za starenje cvetova, listova i sazrevanje plodova. Etilen stimuliše klijanje semena (prekida dormanciju), inicira formiranje ali sprečava izduživanje korena, aktivira sintezu drugih biljnih hormona, inhibira nodulaciju i formiranje mikorize i ima ulogu u odgovoru biljke na različite vidove biotičkog i abiotičkog stresa (Glick, 2012; Gamalero et al., 2020). Sinteza etilena kod viših biljaka se odvija preko metioninskog puta, tokom kog se metionin prevodi u S-adenozil-L-metionin (SAM) delovanjem enzima SAM sintetaze. Delovanjem 1-aminociklopropan-1-karboksilat (ACC) sintaze SAM se prevodi u 1-aminociklopropan-1-karboksilnu kiselinu (ACC) koji je neposredni prekursor etilena kod biljaka (Gamalero et al., 2020).

U uslovima stresa nivo etilena u biljci raste, što inicijalno aktivira odbrambene mehanizme biljke ali dugotrajnim delovanjem vodi inhibiciji rasta i potencijalno smrti biljke. Delovanje etilena u uslovima stresa se objašnjava modelom koji razlikuje dva nivoa (dva pika) produkcije etilena (Glick, 2007; Etesami i Glick, 2020). Izloženost stresu dovodi do početnog porasta etilena koji pokreće niz mehanizama otpornosti kao zaštitni odgovor biljke. Kada stres postane intenzivniji ili hroničan, biljka sintetiše dodatne količine ACC što dovodi do nastanka drugog, većeg etilenskog pika koji je inhibitoran, dovodi do redukcije rasta korena i izdanka, hloroze, starenja i opadanja listova i posledično ugrožava opstanak biljke (Glick, 2012). Veliki deo inhibicije biljnog rasta u različitim stresnim uslovima zapravo potiče od odgovora biljke na povećane nivoe etilena, koji uvećavaju efekte delovanja stresora (Glick et al., 2007). Smanjenjem nivoa etilena, ublažava se njegovo negativno delovanje na biljni rast u periodu izloženosti stresu. ACC deaminaza je enzim koji razgrađuje direktan prekursor etilena ACC do amonijaka i alfa ketobutirata koji bakterije koriste kao izvor azota i dalje lako metabolišu (Glick, 2007; Gamalero et al., 2020). U uslovima povećane koncentracije, ACC se zajedno sa drugim eksudatima izlučuje iz semena, korena ili lista i biva razložen delovanjem ACC deaminaza bakterija povezanih sa biljkom što dovodi do smanjenja količine etilena koja može da se

sintetiše (Glick, 2007). Bakterije koje proizvode ACC deaminazu ublažavaju inhibitorne efekte koje etilen izaziva u stresnim uslovima i omogućavaju nastavak rasta korena i izdanaka.

IAA stimuliše transkripciju gena za ACC sintazu čijom aktivnošću se povećava koncentracija ACC i, posledično, etilena. Povećan nivo etilena u biljci povratno deluje na transport i sintezu IAA, ograničavajući tako produkciju ACC sintaze koja bi dovela do dodatne sinteze etilena (Glick et al., 2007). Bakterije koje imaju svojstva produkcije IAA i ACC efikasnije deluju na ublažavanje efekata stresa kod biljke. U prisustvu ACC deaminaze nivo etilena je manji, samim tim i njegov inhibitoran efekat na sintezu IAA. Istovremeno bakterijska IAA deluje na rast biljke i povećava transkripciju ACC sintaze ali se značajan deo sintetisanog ACC razloži bakterijskom ACC deaminazom, tako da ove bakterije snižavanjem nivoa etilena umanjuju njegove inhibitorne efekte na različite procese u biljci i istovremeno olakšavaju stimulaciju rasta biljaka putem IAA (Glick et al., 2007; Gamalero et al., 2020).

Zahvaljujući ulozi koju ima u ublažavanju negativnih efekata različitih vrsta abiotičkog stresa na biljku, ACC deaminazna aktivnost HT PGP bakterija je od posebnog značaja u uslovima stresa izazvanog povećanom koncentracijom soli (Kumar Arora et al., 2020). Metodologija izolacije ACC deaminaza proizvodećih bakterija kao i ispitivanje aktivnosti enzima ACC deaminaze su ustanovljeni (Penrose i Glick, 2003) zajedno sa kolorimetrijskim ninhidrinskim testom za kvantifikaciju ACC (Li et al., 2011). Ispitujući potencijal ACC proizvodećih bakterija *Achromobacter piechaudii* ARV8 izolovane iz sušnog slanog zemljišta, Mayak et al. (2004) su pokazali značajno povećanje suve i vlažne mase paradajza u uslovima povišene koncentracije soli. Ovo istraživanje je postavilo temelje i podstaklo dalja istraživanja bakterija koje proizvode ACC deaminazu u kontekstu povećanja otpornosti biljaka u uslovima povišene koncentracije soli. Iz raznovrsnih slanih staništa izolovane su ACC deaminaza proizvodeće HT PGP bakterije sa pozitivnim efektom na rast različitih useva u uslovima povećane koncentracije soli. U istraživanjima Siddikee et al. (2010), 25 od 140 izolata iz obalskih zemljišta imalo je sposobnost produkcije ACC deaminaze dok je inokulacija odabranim sojevima dovela do 40% povećanja u dužini korena i suvoj masi kod *Brassica napus*. Kapadia et al. (2022) su pokazali povećanje dužine korena, suve mase i broja bokora pirinča nakon inokulacije ACC deaminaza pozitivnim izolatima poreklom iz slanog zemljišta.

HT PGP ACC deaminaza proizvodeće bakterije su izolovane iz mnogih halofita sa potencijalom da stimulišu rast i razvoj halofita kao i useva netolerantnih na soli. Predstavnici *Brachyбактерium*, *Zhihengliuella*, *Brevibacterium*, *Halomonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* su izolovane iz korena *Salicornia brachiata* (Jha et al., 2012) dok su izolati iz halofite *L. sinense* prilikom reinokulacije u uslovima povišene koncentracije soli stimulišali biljni rast (Qin et al., 2014). Zhou et al. (2017) su pokazali da HT PGP sojevi koji proizvode ACC deaminazu poreklom iz prirodno zaslanjenih sredina, kakva je rizosfera halofita, mogu da stimulišu rast šećerne repe u uslovima povišene koncentracije soli (50-125 mM). Predstavnici *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Gracilibacillus*, *Virgibacillus*, *Salinicoccus*, *Pseudomonas* i *Exiguobacterium* izolovani iz *Suaeda fruticosa* stimulišali su rast kukuruza u uslovima povišene koncentracije soli (Ashlam i Ali, 2018). Inokulacija pasulja (*Phaseolus vulgaris* L.) ACC deaminaza proizvodećim izolatima *Aneurinibacillus aneurinilyticus* ACC02 i *Paenibacillus* sp. ACC06 dovela je do smanjenja nivoa etilena indukovaniog stresom za ~60% i njegovog inhibitornog efekta, pri čemu je došlo do poboljšanja rasta korena i izdanaka, kao i sadržaja hlorofila u uslovima povišene koncentracije soli (Gupta i Pandey, 2019). Pozitivne efekte na kukuruz u prisustvu soli su dobili i Misra i Chauhan (2020) prilikom inokulacije sa halotolerantnim ACC pozitivnim *B. subtilis* (NBRI 28B), *B. subtilis* (NBRI 33 N) i *B. safensis* (NBRI 12 M).

2.5.3. Značaj produkcije egzopolisaharida (EPS) i biofilma kod halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP)

Važne PGP osobine HT PGP bakterija su sposobnost produkcije egzopolisaharida (EPS) i stvaranje biofilma. Termin egzopolisaharidi (EPS) se odnosi na različite omotače sa spoljašnje strane bakterijskog ćelijskog zida koji mogu da čine i do 95% ćelijske mase i imaju bitnu ulogu u formiranju i održavanju bakterijskih biofilmova (Naseem et al., 2018; Gamalero et al., 2020). Sadržaj vode u EPS dostiže 97% (Naseem et al., 2018) i svojstvo zadržavanja vode je u osnovi brojnih uloga ovih supstanci. EPS imaju višestruke zaštitne i korisne funkcije za bakterijske ćelije, biljku, kao i zemljište. Zahvaljujući velikom kapacitetu zadržavanja vode, EPS sprečavaju isušivanje ćelija i predstavljaju barijeru štetnom delovanju soli, teških metala i antimikrobnih jedinjenja (Costa et al., 2018). Dodatno, EPS omogućavaju agregaciju ćelija i pomažu adheziju za različite površine, olakšavaju komunikaciju između bakterija i biljke, zadržavanje ugljenika i različitih nutrijenata. Zadržavanje ekstracelularnih enzima u matriksu EPS pospešuje razlaganje nutrijenata i funkcioniše kao spoljašnji sistem za razgradnju (Costa et al., 2018). Stvaranje EPS je važna osobina koja PGP bakterijama omogućava naseljavanje rizoplana, što je korak ka endofitnoj kolonizaciji (Compant et al., 2010).

Pored zaštitne uloge, jedna od najvažnijih ekosistemskih uloga bakterijskih EPS je formiranje osnovnih strukturnih jedinica zemljišta, zemljišnih agregata, što je neophodno za održavanje strukture i plodnosti zemljišta. Bakterijski EPS povećavaju zapreminu makropora oko korena i podstiču zadržavanje vode i nutrijenata u zemljištu (Etesami i Glick, 2020). Produkcija EPS može da se intenzivira u uslovima abiotičkog stresa kao što je suša, visoka temperatura, promena pH i povećanje koncentracije soli koji imaju negativan efekat na fizičko-hemijske uslove u zemljištu. Uloga bakterijskih EPS u održavanju vlage i zemljišnih agregata, posebno je izražena tokom stresnih uslova jer omogućavaju protok vode, jona i nutrijenata do korena (Gamalero et al., 2020). Sposobnost biljaka da prežive u uslovima povećane zaslanjenosti delimično zavisi od sposobnosti da ograniče usvajanje Na^+ i omoguće kontinuiranu apsorpciju K^+ preko korena. Zahvaljujući brojnim funkcionalnim grupama bakterijski EPS mogu da vezuju katjone (Etesami i Glick, 2020), uključujući Na^+ , sprečavajući stvaranje prevelike koncentracije u zoni korena i usvajanje od strane biljke. Umanjujući efekte osmotskog stresa i sprečavajući neravnotežu u snabdevanju nutrijentima bakterijski EPS olakšavaju rast i razvoj biljka u slanim zemljištima (Upadaya et al., 2011; Costa et al., 2018).

Biofilmovi su složene zajednice u kojima se skupine bakterijskih ćelija nalaze obložene ekstracelularnim matriksom od EPS zajedno sa proteinima, lipidima, ekstracelularnom DNK, RNK, celulozom i neorganskim jedinjenjima (Bhattacharyya et al. 2023; Muhammad et al., 2020). U prirodnim sredinama, većina mikroorganizama ne živi samostalno već su povezani u biofilme koji su otporniji na delovanje nepovoljnih uslova od planktonskih (slobodnoživećih) ćelija. Produkcija biofilma ima višestruke pozitivne efekte na bakterije koje naseljavaju zemljište, okolinu biljke i omogućava kolonizaciju i preživljavanje na površini korena (Bhattacharyya et al. 2023). Aktivna pokretljivost pomaže u ostvarivanju inicijalnog kontakta sa biljkom, dok je za formiranje biofilma neophodno vezivanje bakterija za površinu korena koje se ostvaruje adheziniama poput polisaharida i proteina (Danhorn i Fuqua, 2007). Stvaranje biofilma prilikom kolonizacije korena prolazi nekoliko faza koje započinju pričvršćivanjem bakterijskih ćelija, nastavlja se formiranjem kolonija i sazrevanjem biofilma, zajedno sa završnom fazom disperzije u kojoj dolazi do dezintegracije biofilma i oslobađanja planktonskih ćelija sposobnih za narednu kolonizaciju (Bhattacharyya et al. 2023). Korisne i patogene bakterije proizvode biofilme kao odgovor na korenove eksudate, antimikrobne supstance i stresne uslove (Bhattacharyya et al. 2023). Biofilmovi pružaju pre svega zaštitu ćelijama od isušivanja, delovanja predatorskih protozoa i antimikrobnih jedinjenja (Danhorn i Fuqua, 2007). Pored zaštitne uloge, biofilm omogućava bolje preživljavanje u oligotrofnim sredinama, pristup nutrijentima, genetičku razmenu, održavanje međusobnih kao i interakcija sa biljkom (Muhammad et al., 2020). Sposobnost formiranja biofilma je važna odlika PGP bakterija koju treba uzeti u obzir prilikom odabira bakterija za primenu kao inokulanata.

Među zemljišnim i rizosfernim bakterijama koje proizvode EPS i biofilme ističu se predstavnici rodova *Planococcus*, *Halomonas*, *Burkholderia*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus* kao i rizobije (Qurashi i Sabri, 2012a; Ruppel et al., 2013; Nadeem et al., 2018, Costa et al., 2018).

2.6. Primena HT PGP za ublažavanje efekata stresa izazvanog povećanjem koncentracije soli

U uslovima rastućeg procesa zaslanjivanja zemljišta širom sveta i njegovog negativnog efekta na poljoprivredu, raste interes za upotrebu HT PGP bakterija kao dobre strategije za ublažavanje efekata povećanih koncentracija soli na useve uz istovremeno smanjenje dodatnog opterećenja obradivog zemljišta hemikalijama (Dodd i Perez Alfoncia, 2012; Etesami i Beattie, 2018). Istraživanja vezana za biljno-mikrobne interakcije u slanim staništima, prisutnost HT PGP, analize mikrobioma i primena u poljoprivrednoj proizvodnji su na drugom mestu po broju objavljenih naučnih radova u periodu od 2000-2021 u oblasti istraživanja PGP bakterija (Sagar et al., 2022), što ukazuje na globalnu aktuelnost teme i rastuće interesovanje za problem zaslanjivanja zemljišta širom sveta. U ovom kontekstu, najčešće navođeni HT PGP bakterijski rodovi za tretmane biljaka u uslovima sa i bez stresa solima u literaturi su *Pseudomonas* i *Bacillus* (Zamanzadeh-Nasrabadi et al., 2023).

Inokulacija PGP bakterijama neće imati efekta ukoliko one ne mogu da prežive i ispolje svoja korisna svojstva u novoj sredini. Pozitivni efekti PGP bakterija na biljku u velikoj meri zavise od klimatskih i uslova u zemljištu, kao i biotičkih interakcija (Etesami i Beattie, 2018). Povećanje koncentracije soli negativno utiče na neadaptirane zemljišne mikroorganizme i mnoge bakterije gube PGP svojstva sa povećanjem koncentracije soli *in vitro* (Upadhyay et al., 2011). Iz tog razloga selekcija sojeva na osnovu sposobnosti tolerancije povećanih koncentracija soli u kombinaciji sa PGP odlikama može povećati njihovu efikasnost u stimulaciji rasta biljaka u primarno ili sekundarno zaslanjenim zemljištima (Etesami i Beattie, 2018). Adaptivnu prednost u zaslanjenim zemljištima, koja se odlikuje izraženom prostornom i vremenskom heterogenošću u količini soli i dostupnosti vode, imaju halotolerantni i umereno halofilni mikroorganizmi. Budući da su bakterije povezane sa biljkom ključni faktor preživljavanja i adaptacija na uslove u staništu (Berendsen et al., 2012), rizosfera i endorizosfera halofita predstavljaju rezervoar korisnih halotolerantnih bakterija (Szymanska et al., 2016; Yuan et al., 2016; Zhou et al., 2017) čije osobine bi mogle da se nakon reinokulacije iskoriste za poboljšanje rasta useva netolerantnih na soli u slanom zemljištu. Tako predstavnici *Halomonas* izolovani iz rizosfere *S. europaea* pokazuju sposobnost produkcije IAA, azotofiksacije, produkcije amonijaka i solubilizacije fosfata pri 5% NaCl (Mapelli et al., 2013).

Efekat inokuluma ne mora nužno biti povezan sa poreklom sojeva, već je posledica specifičnih osobina sojeva koje omogućavaju bolju i korisniju interakciju sa domaćinom (Castiglione et al., 2021). Iako se mnoge vrste smatraju PGP bakterijama, nije svaki soj iste vrste genetički ni metabolički identičan (Glick, 2014). Bakterije izolovane iz nedegradiranih zemljišta su pokazale sposobnost produkcije većih količina prolina i IAA i bolje stimulisale rast deteline u uslovima suše od bakterija izolovanih iz sušnih degradiranih zemljišta (Benabdellah et al., 2011). Ispitivanjem inokulacije HT PGP *B. pumilus*, *E. auranticum* i *P. fluorescens* na sorte pšenice osetljive i tolerantne na so, *B. pumilus* i *E. auranticum* delovali su bolje na tolerantne useve dok je *P. fluorescens* ostvario bolji efekat kod pšenice osetljive na soli (Nawaz et al., 2020). U istraživanju Szymanska et al. (2022), *K. marisflavi* CSE9 poboljšao je germinaciju i rast sva tri testirana useva, dok je *P. stutzeri* ISE12 pozitivno uticao na rast i olakšanje efekata stresa samo kod ječma. Oba korišćena endofitna PGP soja su izolovana iz istog uzorka ali imaju izraženu specifičnost prema domaćinu. Selekcija sojeva koji su kompatibilni sa biljkom u specifičnom kontekstu životne sredine je ključan ali i izazovan korak (Szymanska et al., 2022). Bolje povezivanje bakterija sa određenom biljkom domaćinom je rezultat evolutivnih procesa (Drogue et al. 2013). U procesima prepoznavanja važnu ulogu imaju koncentracija i sastav korenskih eksudata, koji deluju kao hemijski signali na mikroorganizme (Mahmood et al., 2016).

Za postizanje optimalnog efekta u različitim uslovima, potrebno je pažljivo kreirati inokulum izborom mikroorganizama koji odgovaraju ekološkim uslovima i specifičnim ciljevima koji se žele postići (Castiglione et al., 2021). Prednost imaju PGP mikroorganizmi koji mogu formirati veliki broj simbiotskih interakcija u različitim uslovima sredine (Castiglione et al., 2021). Dobru strategiju prilikom kreiranja inokulanta predstavlja kombinovanje mikroorganizama iz različitih ekoloških niša koji bi se mogli komplementarno koristiti kao inokulanti (Gupta et al., 2023).

2.6.1. Primena HT PGP u mikrobiološkom tretmanu semena

Većina biljaka je tokom celog životnog ciklusa osetljiva na delovanje povećanog saliniteta, ali su neke faze razvoja osetljivije od ostalih. Germinacija predstavlja ključni razvojni korak u životnim ciklusu biljke koga prate brojne biohemijske promene vođene kombinacijom aktivnosti gena i hormona (Fiodor et al., 2023). Brzina i ujednačenost klijanja semena utiču na vitalnost klijanaca kao i kasniji rast i zdravlje biljke, stoga je germinacija semena posebno osetljiva faza na delovanje abiotičkog stresa. Počevši sa redukcijom germinacijskih parametara, efekti abiotičkog stresa se produžavaju tokom daljeg razvoja biljke, sve do neuspešne žetve.

U toku germinacije, salinitet izaziva smanjenje procenta klijanja, produžava vreme klijanja i inhibira izduživanje ćelija (Tarchoun et al., 2022). Povećanje koncentracije soli u zemljištu može da inhibira klijanje i razvoj klijanaca kombinacijom stresa izazvanog povećanjem osmotskog potencijala koji sprečava usvajanje vode kao i toksičnim delovanjem jona (Kaymakanova, 2009). Nemogućnost usvajanja dovoljne količine vode ometa fazu imbibicije tako što usporava ili sprečava aktivaciju rezervi semena za klijanje (Mwando et al., 2020). Povećanje koncentracije natrijuma (Na^+) i hlora (Cl^-) do toksičnih nivoa vodi oksidativnom stresu i nutritivnoj neravnoteži, što na kraju izaziva inhibiciju klijanja kod mnogih vrsta (Tarchoun et al., 2022). Dalje, salinitet negativno utiče na izduživanje ćelija korena i umanjuje njegov rast tokom ranog razvoja klijanaca (Kaymakanova et al., 2014; Tarchoun et al., 2022) i izazivajući neravnotežu biljnih hormona. Povećane koncentracije soli ometaju klijavost (Mwando et al., 2020), a salinizacija negativno utiče i na enzimsku aktivnost i metabolizam proteina u semenu, što produžava vreme klijanja i smanjuje broj proklijalih semena (Mwando et al., 2020). Usevi se međusobno razlikuju u pogledu tolerancije prema povišenim koncentracijama soli gde, pored faze rasta, efekti stresa zavise od vrste i genotipa biljke (Munns i Tester, 2008). Szymanska et al. (2022) su analizirali germinaciju i razvoj suncokreta (*Helianthus annuus* L.), ječma (*Hordeum vulgare* L.) i zelene salate (*Lactuca sativa* L.) u uslovima povišenih koncentracija soli. Negativni efekti saliniteta u pogledu smanjenja procenta i indeksa germinacije, dužine korena, sveže i suve mase su zabeleženi kod svih biljaka pri većim koncentracijama NaCl (150 i 300 mM). Međutim, efekti povišenih koncentracija soli su zavisili od vrste, pri čemu se suncokret pokazao kao najtolerantniji, a zelena salata najmanje tolerantna (Szymanska et al., 2022).

U predsetvenom tretmanu semena koriste se različite tehnike kao efikasni alati za poboljšanje klijavosti i preživljavanja biljaka u uslovima stresa. Među njima se ističe prajming, koji se izvodi potapanjem semena u rastvor sa prajming agensom nakon čega se seme suši, što dovodi do hidratacije i započinjanja fizioloških procesa u semenu ali bez izbijanja klice (Mc Donald, 1999). Za prajming semena se može koristiti voda (hidroprajming) ili različiti rastvori (osmoprajming, hormonalni prajming, hemoprajming) koji dovode do iniciranja metaboličkih procesa u semenu karakterističnim za rane faze germinacije (sinteza proteina i nukleinskih kiselina, produkcija ATP, ili aktivacija reparacije DNK i antioksidativnih mehanizama) ali ne uključuje pojavu klice (Paparella et al., 2015).

Bioprajming se odnosi na upotrebu jedinjenja biološkog porekla ili korisnih mikroorganizama u procesu prajminga (Paparella et al., 2015). Mikrobiološkom inokulacijom semena, odnosno kontrolisanim procesom potapanja semena u suspenziju mikroorganizama, stvaraju se idealni uslovi za kolonizaciju semena i pokretanje različitih fizioloških i biohemijskih procesa u semenu ali bez izbijanja klice (Mahmood et al., 2016). Aktivacijom procesa u semenu, oslobađaju se različita jedinjenja koja predstavljaju nutrijente i izvor energije i dovode do povećanja brojnosti PGP

mikroorganizama u okolini semena (spermosferi) (Mahmood et al., 2016). Tretman semena mikroorganizmima zahteva malu količinu inokuluma i omogućava direktan kontakt između mikroorganizama i korena u toku germinacije i ranim fazama rasta (Cardarelli et al., 2022). Pozitivni efekti mikrobiološkog tretmana semena su primećeni kod različitih useva. Tretman semena primenom PGP *Bacillus megaterium* 11/3 i *Azotobacter chroococcum* 8/2 uticao je pozitivno na germinacione parametre i biomasu klijanaca više ratarskih i povrtarskih vrsta (Kerečki, 2023). Inokulacija *A. chroococcum* 8/2 dovodi i do mikromorfoloških promena u vaskularnom tkivu korena šećerne repe, čime je pokazano da PGP bakterije deluju ne samo obezbeđujući adekvatnu formu nutrijenata, već i kroz uticaj na razvoj biljnog tkiva koje je značajno u transportu nutrijenata (Kerečki et al., 2022).

Tretman semena omogućava rano uspostavljanje interakcije između biljke i HT PGP čime se korisni efekti bakterija na biljku aktiviraju pre germinacije. Ova tehnologija može ublažiti ili eliminisati negativan uticaj povećanog saliniteta na germinaciju. Povišene koncentracije soli utiču na snižavanje fitohormona kod biljaka, zbog toga produkcija egzogenih fitohormona od strane HT PGP ima značajan uticaj na klijavost u uslovima stresa solima (Egamberdieva et al., 2019). Etilen ima ulogu u prekidanju dormancije kod mnogih biljaka (Corbineau et al., 2014), ali tokom germinacije njegovi efekti mogu da inhibiraju izduživanje korena. Inokulacija semena pomoću ACC-deaminaza produkujućih PGP bakterija sprečava da se dostigne inhibicioni nivo etilena (Siddike et al., 2010). Tokom germinacije, delovanjem ACC deaminaze na snižavanje nivoa etilena umanjuje se njegov inhibicioni efekat na izduživanje korena klijanca. Kada klijanac potroši rezerve iz semena, drugi PGP mehanizmi koji su povezani sa snabdevanjem nutrijentima dobijaju veći značaj (Penrose i Glick, 2003). IAA je direktno uključena u stimulaciju rasta biljaka, pozitivno utiče na germinaciju i stimuliše rast korenovog sistema što olakšava apsorpciju vode i hranljivih materija (Ait Bassai et al., 2023). Mesa-Marín et al. (2019) ističu značaj sposobnosti azotofiksacije i IAA, kao PGP osobina od značaja za germinaciju i vigor klijanca. Delujući na formiranje lateralnih korenova produkcijom IAA mogu da povećaju stopu preživljavanja semena pogotovo tokom prvih dana setve. Produkcija EPS je bitno svojstvo koja pozitivno utiče na germinaciju tako što omogućava PGP bakterijama da kolonizuju površinu semena (Sagar et al., 2022) i poboljšaju klijanje. Takođe, nakon tretmana klijanci su otporniji na delovanje drugih stresora - poplave, teskih metala, soli i suše (Penrose i Glick, 2003).

Tretman semena HT PGP bakterijama imao je pozitivne efekte na germinacione parametre i rani razvoj klijanaca mnogih useva u uslovima povišenog saliniteta (Tabela 1).

Tabela 1: Pozitivni efekti tretmana semena pomoću HT PGP bakterija u uslovima stresa usled povišenih koncentracija soli

HT PGP	Poreklo	PGP svojstva	Efekat na biljku	Inokulisan usev	Referenca
Hallobacillus sp. SL3, Bacillus halodenitrificans PU62	slana staništa	IAA, siderofore, fosfati	povećanje suve mase i dužine korena	pšenica (<i>Triticum aestivum</i>)	Ramados et al., 2013
<i>Bacillus</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Marinobacterium</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Rhizobium</i> i <i>Sinorhizobium</i>	halofita <i>Psoralea corylifolia</i>	IAA, solubilizacija fosfata, siderofore	povećanje GP* i dužine korena, vigor	pšenica (<i>Triticum aestivum</i>)	Sorty et al., 2016
<i>Arthrobacter</i> TF1 i TF7,	<i>Tamarix chinensis</i> , <i>Suaeda salsa</i>	IAA, fosfati	povećanje GP, vigor, dužina klijanaca,	paradajz (<i>Solanum licopersicum</i>)	Fan et al., 2016

<i>Bacillus megaterium</i> TF2 i TF3	<i>Zoysia sinica</i>		vlažna i suva masa klijanaca		
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Curtobacterium oceanosedimentum</i> i <i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	slana staništa	IAA, solubilizacija fosfata, azotofiksacija	povećanje GP i dužina klijanaca	pamuk (<i>Gossypium hirsutum</i>)	Irizarry i White, 2017
<i>Micrococcus yunnanensis</i> , <i>Planococcus rifietoensis</i> , <i>Variovorax paradoxus</i>	<i>Suaeda physophora</i> , <i>S. microphylla</i> , <i>Halocnemum strobilaceum</i> , <i>Nitraria tangutorum</i> , <i>N. sibirica</i> , <i>Halostachys caspica</i> , <i>Kalidium capsicum</i>	ACC deaminaza, IAA, siderofore, solubilizacija fosfata	povećanje GP, otpornosti na stres i biomase, smanjena količina etilena	šećerna repa (<i>Beta vulgaris</i>)	Zhou et al., 2017
<i>Lysinibacillus</i> sp A-16, <i>Lysinibacillus fusiformis</i> A-11, <i>Bacillus licheniformis</i> M-16	rizosfera pirinča i pšenice otpornih na soli	IAA, siderofore, solubilizacija fosfata	povećanje GP, vigor I i vigor II dužine izdanka, sveže i suve mase izdanka,	pšenica (<i>Triticum aestivum</i>)	Damodaran et al., 2018
<i>Bacillus</i> sp., <i>Oceanibacillus</i> sp <i>Halomonas</i> .	rizo i endorizosfera pšenice <i>Triticum turgidum</i> subsp. <i>durum</i> na slatinama	azotofiksacija, ACC deaminaza, solubilizacija fosfata, siderofore	povećanje GP, dužine korena i suve masu klijanaca	pšenica (<i>Triticum aestivum</i>)	Albdaiwi et al., 2019
<i>Pseudomonas stutzeri</i> ISE12, <i>Kushneria marisflavi</i> CSE9	<i>S. europaea</i>	azotofiksacija, siderofore, IAA, celulolitička aktivnost	povećana GP, GI, dužina korena, sveža i suva masa, broj listova i sadržaj hlorofila	cvekla (<i>Beta vulgaris rubra</i>)	Szymanska et al., 2020
<i>Bacillus atrophaeus</i>	<i>Suaeda mollis</i> i <i>Salsola tetrandra</i>	IAA, solubilizacija fosfata, siderofore, amonijak, celulazna, proteazna, hitinazna, amilazna aktivnost, antifungalna aktivnost	povećanje GP, vigor I i vigor II	pšenica (<i>Triticum aestivum</i>) <i>Arabidopsis thaliana</i>	Kerbab et al., 2021
<i>Bacillus megaterium</i> PN89	rizosfera	IAA, HCN, amonijak, siderofore, solubilizacija fosfata, proteazna,	poboljšana GP, dužina korena i izdanka	pšenica (<i>Triticum aestivum</i>)	Lee et al., 2021

		celulazna aktivnost			
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BS-56 i BS-10, <i>Pseudomonas fluorescens</i> S-90	/	/	poboljšanje GP, dužine kljanaca, vigora I i vigora II, sveže i suve mase, sadržaja hlorofila	proso (<i>Echinochloa frumentacea</i>)	Singh et al. (2021)
<i>Bacillus</i> sp. MGW9	slano zemljište	azotofiksacija, IAA, mineralizacija i solubilizacija fosfata	povećana GP, dužina korena i izdanka kljanaca, sveža i suva masa izdanka i korena	kukuruz (<i>Zea mays</i>)	Li et al., 2021
<i>Serratia rubidaea</i> ED1	kinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>)	IAA, solubilizacija fosfata cinka, produkcija proteaza, celulaza, siderofora, amonijak	poboljšanje GP, suva masa, dužina kljanaca	kinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>)	Mahdi et al., 2021
<i>Pseudomonas stutzeri</i> ISE12, <i>Kushneria marisflavi</i> CSE9	<i>S. europaea</i>	azotofiksacija, siderofore, IAA, celulolitička aktivnost	poboljšana GP, GI, dužina korena, sveža i suva masa, broj listova i sadržaj hlorofila i sadržaj vode u tkivima	ječam (<i>Hordeum vulgare</i>), zelena salata (<i>Lactuca sativa</i>), suncokret (<i>Helianthus annuus</i>)	Szymanska et al., 2022
<i>Bacillus</i> sp. PnD	mangrova	IAA, solubilizacija fosfata, siderofore	povećanje GP, rast kljanaca, sadržaj fotosintetičkih pigmenata	pirinač (<i>Oryza sativa</i>)	Dutta et al., 2023
<i>Bacillus megaterium</i>	/	IAA, amonijak fiksacija azota, fosfati, enzimska aktivnost	poboljšana GP	pšenica (<i>Triticum aestivum</i>)	Ait Bessai et al., 2023
<i>Pseudomonas fluorescens</i> SBW25, <i>Pseudomonas putida</i> KT2440	/	/	poboljšana GP, suva i sveža masa, dužina korena i usvajanje nutrijenata	ječam (<i>Hodeum vulgare</i>)	Zaib et al., 2023
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (B1), <i>Bacillus subtilis</i> (B2), <i>Lysinibacillus fusiformis</i> (B3)	/	/	poboljšanje GP, dužine korena i izdanka, suve i vlažne mase, sadržaj hlorofila	pirinač (<i>Oryza sativa</i>)	Mahmud et al., 2023

* GP - procenat germinacije; GI – germinacioni indeks;

Inokulacija HT PGP bakterijama poboljšava ishranu, nutritivni sastav i kvalitet useva, a primena ovih sojeva kao biofertilizatora predstavlja efikasnu strategiju za ublažavanje efekata salinizacije i održavanje poljoprivredne proizvodnje u slanim zemljištima (Malik et al., 2021; Kerbab et al., 2021).

2.6.2. Značaj odabira formulacije i prednosti inkapsulacije u formulaciji inokulanata HT PGP bakterija

Izolacija i karakterizacija korisnih mikroorganizama uz odabir najefektivnijih pojedinačnih sojeva ili konzorcijuma sojeva je prvi korak ka primeni bionokulanta. Za uspešnu primenu, potrebno je optimizovati uslove gajenja odabranih sojeva za masovnu proizvodnju i odabrati adekvatnu formulaciju što je ključni korak (Saberri Riseh et al., 2021). Formulacija obuhvata procedure i tehnologije kojima se, nakon gajenja kulture, mikroorganizmi tretiraju i mešaju sa različitim nosačima u cilju zaštite i održavanja populacije tokom transporta, skladištenja i primene (Rojas-Sánchez et al., 2022). Uspešna formulacija ima ulogu da podrži rast i održi dovoljan broj vijabilnih ćelija u dobrom fiziološkom stanju u prihvatljivom periodu vremena, koje će nakon inokulacije postići prag koji je potreban za željeni efekat kod biljke (Bashan et al., 2014).

Na preživljavanje bakterija u zemljištu nakon primene deluju abiotički i biotički faktori (Mahmood et al., 2016). Zemljište je izrazito heterogena sredina i inokulisanim bakterijama je potrebno da pronađu i nasele slobodne ekološke niše, pri čemu dolazi do interakcije kompeticije sa autohtonim mikrobnim populacijama i delovanja predatora (Egamberdieva i Kucharova, 2009). Opadanje brojnosti inokulanta će biti izraženije ukoliko je kombinovano sa slabom proizvodnjom bakterijske biomase, smanjenim brojem i lošim fiziološkim stanjem ćelija u vreme primene. Iz navedenih razloga, primena inokulanta neće dovesti do uspostavljanja efektivnih populacija nakon aplikacije i željenih efekata (Bashan et al., 2014). Formulacija inokulanta treba da obezbedi fizičku zaštitu i stvori povoljnije mikrookruženje za bakterije što će sprečiti naglo smanjenje brojnosti njihovih populacija nakon inokulacije (Bashan et al., 2014; Szopa et al., 2022). Za postizanje željenog efekta na biljke, inokulant mora posedovati efektivne populacije, čije brojnosti se razlikuju među bakterijama. Na primer, za PGP bakteriju *Azospirillum brasilense* potreban je prag od 10^6 - 10^7 ćelija po biljci (Bashan et al., 2014; Vassilev et al., 2020).

Inokulanti se prema fizičkom obliku mogu podeliti na tečne i čvrste fomulacije (Bashan et al., 2014).

Tečni inokulanti se baziraju na direktnom korišćenju suspenzija željenih mikroorganizama, ili formulacijama koje podrazumevaju mešanje ćelijskih supespenzija sa vodom, mineralnim ili organskim uljima (Schoebitz et al., 2013; Rojas-Sánchez et al., 2022). Tečne formulacije su jednostavnije i ekonomične za proizvodnju i aplikaciju prskalicama ili sistemima za navodnjavanje. Primenuju se direktno, potapanjem semena ili korena u inokulant ili prskanjem po površini semena ili zemljišta (Bashan et al., 2014). Osnovni nedostaci tečnih inokulanata su opadanje brojnosti i metaboličke aktivnosti populacije tokom skladištenja, transporta i primene zato što uglavnom ne sadrže pojačivače ili aditive (Schoebitz i López Belchí, 2016; Vassilev et al., 2020). Tečne formulacije ne pružaju dovoljnu zaštitu ćelijama, podložnije su kontaminaciji drugim mikroorganizmima i zahtevaju odgovarajuće skladištenje (Rojas-Sánchez et al., 2022).

Čvrste formulacije imaju prednost nad tečnim u pogledu skladištenja i transporta. Najjednostavnija tehnika za proizvodnju čvrstih inokulanata je mešanje ćelija sa čvrstim nosačem pri čemu dolazi do imobilizacije ćelija adsorpcijom (Rojas-Sánchez et al., 2022). Nosači mogu biti organskog ili neorganskog porekla i poželjno je da su široko dostupni, jeftini, ekološki prihvatljivi i da mogu da zaštite bakterije i omoguće im preživljavanje tokom skladištenja (Szopa et al., 2022). Nosači mogu biti vermikulit, perlit, dijatomejska zemlja i glina. Međutim, treset je u najširoj upotrebi zbog niske cene (Bachan et al., 2014). U pripremi čvrstih formulacija dosta se koristi tehnika liofilizacije koja omogućava visoku stopu preživljavanja mikroorganizama i dugotrajno čuvanje i bez nosača (Rojas-Sánchez et al., 2022; Szopa et al., 2022). U zaštiti ćelija kao krioprotektori koriste se dodaci kao što je manitol ili mikrokristalna celuloza (Rojas-Sánchez et al., 2022).

Proizvodnja čvrstih formulacija inokulanata dobijenih pomoću tehnika inkapsulacije dobija sve veći značaj. Bioinkapsulacija je proces imobilizacije mikrobnih ćelija zarobljavanjem u polimernom matriksu pri čemu se formiraju permeabilni nosači (Rathore et al., 2013; Bashan et al., 2014). Polimerni materijali stvaraju zaštitnu barijeru između inkapsuliranih ćelija i spoljašnje sredine, istovremeno omogućavajući razmenu metabolita i gasova, čime se čuva vijabilnost i stabilnost ćelija (Rojas-Sánchez et al., 2022). Inkapsulacija omogućava preživljavanje ćelija i štiti ih od mehaničkih oštećenja, kontaminacije tokom skladištenja i transporta i omogućava njihovo postepeno oslobađanje nakon dodavanja u zemljište (Saberī Riseh et al., 2021; Vassilev et al., 2020). Matriks-nosač se razgrađuje aktivnošću mikroorganizama, što omogućava oslobađanje inokulanta, povećava verovatnoću kolonizacije rizosfere i korena i generalno povećava njegovu efikasnost tokom dužeg perioda (Szopa et al., 2022). Zahvaljujući zaštiti od nepovoljnih uslova, inkapsulirane bakterije su dosta efikasnije u kontroli patogena i stimulaciji rasta biljaka od onih koje se slobodno nalaze u zemljištu (Egamberdieva et al., 2019).

Odabir polimera, kao nosača kod inkapsulacije ćelija, u velikoj meri utiče na svojstva inkapsulata. Prednost je na biorazgradivim polimerima prirodnog porekla, čija je upotreba ekološki prihvatljivija (Rathore et al., 2013; Vejan et al., 2019). Najviše korišćeni polimeri u inkapsulaciji bakterija za potrebe poljoprivrede su alginat i hitozan (Bashan et al., 2014; Rojas-Sánchez et al., 2022). Netoksičan, biokompatibilan i biorazgradiv, alginat je lako rastvorljiv i nisko viskozozan, lako formira gel pri čemu ne zahteva upotrebu toksičnih hemikalija niti visokih temperatura tokom procesa geliranja, što omogućava inkapsulaciju mikroorganizama bez većih gubitaka (Rojas-Sánchez et al., 2022).

Kapsule Ca-alginata imaju strukturu fleksibilne mreže koja sadrži visoki procenat vode (97-98%) (Schoebitz i Lopez Belchi, 2016; Rojas-Sánchez et al., 2022) i ukoliko se koristi samostalno, ne može da pruži dovoljnu stabilnost i zaštitu ćelijama tokom sušenja i formiranja finalnog oblika kapsule. Iz tog razloga se alginat kombinuje sa drugim organskim jedinjenjima koja deluju kao punioci, kao što je skrob, glicerol, hitin, obrano mleko ili huminske kiseline (Bachan et al., 2014; Szopa et al., 2022). Alginat se najčešće koristi u kombinaciji sa skrobom koji pruža zaštitu ćelijama dok istovremeno ne sprečava difuziju gasova i metabolita (Saberī Riseh et al., 2021). Matrica od 2% alginata, 1% skroba i 1% maltodekstrina omogućila je očuvanje vijabilnosti i biokontrolnu aktivnost inkapsuliranog *B. subtilis* protiv *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Estefania i Ligia, 2018). Sadržaj skroba je proporcionalan čvrstini alginatno skrobnih inkapsulata (Tal et al., 1999). Uz više skroba, inkapsulati su čvršći i manje porozni; međutim, ukoliko inkapsulisane ćelije imaju mogućnost razlaganja skroba, poroznost inkapsulata može da raste tokom skladištenja (Vassilev et al., 2020).

Za bioinkapsulaciju mogu se primenjivati različite tehnike, kao što su ekstruzija, sušenje raspršivanjem ili inkapsulacija na bazi emulzija. Odabir tehnike zavisi od primene kao i vrste mikroorganizama koji se koriste. Ekstruzionu tehniku je najstarija, najbolje istražena i najčešće korišćena za inkapsulaciju (Rathore et al., 2013).

Ekstruzionu tehniku podrazumeva mešanje ćelijske suspenzije sa rastvorom polimera koji ima sposobnost stvaranja gela (npr. natrijum alginat). Suspenzija se zatim potiskuje kroz mlaznicu ili diznu u rastvor za geliranje (koji sadrži Ca^{2+} jone) pri čemu dolazi do stvaranja kapsula koje zatvaraju ćelije unutar želatinaste matrice (Rathore et al., 2013; Rojas-Sánchez et al., 2022). Rastvor CaCl_2 je najčešće korišćen za geliranje, pri čemu su joni kalcijuma netoksični, predstavljaju nutrijente za biljke i ne štete imobilisanim bakterijama (Szopa et al., 2022). Dobijanje finijih čestica se postiže na različite načine kao što je pulsiranje mlaza, vibracija mlaznice, delovanjem električnog polja ili centrifugalne sile zavisno od ekstruzione tehnike (Martin et al., 2015; Saberī Riseh et al., 2021). Dobijene vlažne kapsule se prikupljaju, ispiraju i suše (Vejan et al., 2020). Sušenje se odvija na sobnoj ili umereno visokim temperaturama (30-45°C), a ponekad se koristi i liofilizacija (Szopa et al., 2022). Sušenje je kritičan korak za preživljavanje ćelija tokom inkapsulacije. Tokom sušenja, veliki broj ćelija uginu usled osmotskog stresa i plazmolize. Gubitak ćelija tokom sušenja zavisi od uslova sušenja, vrste mikroorganizama i aditiva koji se koriste tokom procesa. Npr. upotreba skroba u alginatnoj matrici

smanjuje sadržaj vode na 65%, što usporava sušenje i povećava stopu preživljavanja ćelija (Schoebitz i Lopez Belchi, 2016).

Ekstruzione tehnike ne zahtevaju upotrebu toksičnih rastvarača i omogućavaju velike prinose vijabilnih ćelija (Rathore et al., 2013). Međutim, uticaj ekstruzione inkapsulacije na preživljavanje zavisi od vrste mikroorganizma; zato je prilikom formulacije PGP inokulanta inkapsulacijom potrebno pratiti preživljavanje ćelija u toku vremena zajedno sa hemijskim i fizičkim odlikama, morfologijom i veličinom čestica (Vejan et al., 2019).

Dostupni literaturni podaci ukazuju na prednosti upotrebe inkapsuliranih inokulanata u uslovima stresa izazvanog povišenom koncentracijom soli u zemljištu. Bhise i Dange (2019) su poredili uticaj tečnog i inokulanta inkapsuliranog u alginatno-skrobnom matriksu baziranog na HT PGP *Pantoea agglomerans* KL na rast pirinča u uslovima povišene koncentracije soli. Dobijeni rezultati ukazuju na prednosti upotrebe inkapsuliranih inokuluma u odnosu na tečne u pogledu preživljavanja u zemljištu, kolonizacije korena i efekata na rast pirinča u uslovima stresa izazvanog povećanom salinizacijom. Inkapsulisanje u matriksu od 2% Na-alginata, 1% trehaloze i 1% kaolina omogućilo je preživljavanje i kontrolisano oslobađanje HT PGP *Bacillus pumillus* G5 koji je stimulisao rast ukrasne biljke *Pharbitis nil* u uslovima stresa izazvanog povišenom koncentracijom soli i sušom (Zhang et al., 2023). Inkapsulirani u Na alginatu, HT PGP *Paenibacillus polymyxa* MSR5, *Bacillus nakamurai* MSR1 i *Bacillus pacificus* MSR H3 su uspešno kolonizovali koren i stimulirali rast i prinos pšenice u uslovima povišenih koncentracija soli (Saad et al., 2016). Primena inkapsuliranih inokulanata dovela je do smanjenja sadržaja prolina u izdancima, povećanja sadržaja vode, aktivacije antioksidativnih enzima pšenice i olakšala efekte stresa solima kod pšenice (Saad et al., 2016). Inkapsuliran u matriksu od alginata, skroba i bentonita, HT PGP soj *Pseudomonas putida* Rs-198 stimulirao je rast pamuka u uslovima povećanog saliniteta u zemljištu (He et al., 2016).

Izučavanje biljno-mikrobnih interakcija u slanim staništima otvara mogućnost iskorišćavanja korisnih svojstava autohtonih HT PGP mikroorganizama adaptiranih na nepovoljne uslove. Ovi mikroorganizmi mogu doprineti rastu i razvoju biljaka olakšavajući efekte stresa kod useva čime se proširuju mogućnosti korišćenja zaslanjenih zemljišta u poljoprivredi. Za uspešnu primenu HT PGP bakterija u poljoprivrednoj proizvodnji potrebno je objediniti adekvatan pristup izolaciji, odabir sojeva sa poželjnim PGP svojstvima, kao i ispitivanje mogućnosti primene odgovarajućih tehnika inkapsulacije u proizvodnji inokulanta koji će osigurati preživljavanje i poboljšati efekte inokulacije u zaslanjenim zemljištima

3. CILJEVI RADA

Sekundarno zaslanjivanje zemljišta uzrokovano delovanjem klimatskih promena i prevelikim pritiskom agrotehničkih mera na zemljište postaje globalni problem. Iako se brojna istraživanja bave tolerancijom biljaka prema povišenim koncentracijama soli u zemljištu, još uvek nije u potpunosti rasvetljena uloga rizosfernog mikrobioma u adaptaciji biljaka na ovaj abiotički stres. Ekofiziološki pristup istraživanju omogućava uvid u složene mreže biljno-mikrobnih interakcija i jasno ukazuje da je mikrobna zajednica povezana sa biljkama ključni faktor za razumevanje adaptacije biljaka određenom staništu. Stoga je alternativna rešenja za probleme sa kojima se suočava biljna proizvodnja u uslovima biotičkog i abiotičkog stresa, potrebno tražiti u mikrobnim zajednicama koje su povezane sa biljkama adaptiranim na život u nepovoljnim uslovima staništa.

Ciljevi disertacije proizilaze iz osnovne hipoteze da se rizosfera biljaka iz prirodnih slatina može iskoristiti kao izvor halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HT PGP) koje imaju potencijal za primenu u poljoprivrednoj proizvodnji. Stoga je osnovni naučni cilj ovog istraživanja proučavanje diverziteta bakterijskih zajednica zemljišta, rizosfere i endorizosfere biljaka iz prirodne slatine. Kombinacija različitih metoda, molekularnih kao i metoda zasnovanih na gajenju mikroorganizama, može doprineti da se dobiju odgovori kako na fundamentalna pitanja o funkcionisanju biljno-mikrobnih zajednica u prirodnim slatinama, tako i ispituju mogućnosti praktične primene izolata u poljoprivrednom zemljištu. Prvi cilj disertacije je taksonomsko profilisanje bakterijskih zajednica primenom metabarkodiranja. Diverzitet bakterijskih zajednica biće određen za različite ekološke niše iste biljke kao i među različitim biljkama u istoj niši određenog staništa.

Pored istraživanja diverziteta, ispitivanja u okviru ove disertacije orijentisana su ka sagledavanju PGP potencijala bakterija poreklom iz prirodnih slatina u održivoj poljoprivrednoj proizvodnji. Drugi cilj disertacije je da se, polazeći od zaslanjenog zemljišta, rizosfere i endorizosfere biljaka iz prirodne slatine, formira kolekcija okarakterisanih i identifikovanih HT PGP izolata koji imaju potencijal primene u cilju ublažavanja efekata stresa prouzrokovanog solima na useve. S obzirom na značaj ispoljavanja svojstava stimulacije biljnog rasta pri različitim koncentracijama soli, ovaj aspekt je od posebnog značaja prilikom formiranja kolekcije. Imajući u vidu da su zaslanjena zemljišta heterogena prema koncentraciji soli u pojedinim mikrolokacijama, kao i da bakterijski sojevi ne ispoljavaju istu kombinaciju mehanizama stimulacije biljnog rasta, opsežna karakterizacija će omogućiti odabir dovoljnog broja sojeva koji pružaju mogućnosti za dizajniranje multifunkcionalnog biotehnološkog rešenja.

Klijanje i rani razvoj biljke predstavlja jednu od najosetljivijih faza rasta, na koju povišene koncentracije soli mogu imati višestruke negativne efekte. Tretman semena je ekonomična i za primenu jednostavna strategija koja pruža višestruke pozitivne efekte na klijavost i rani razvoj biljke. Stoga cilj naredne faze istraživanja obuhvata utvrđivanje efekata inokulacije odabranim HT PGP bakterijama na germinacione parametre i rani razvoj klijanaca odabranih useva.

Pored ispoljavanja mehanizama stimulacije biljnog rasta, za uspešnost primene HT PGP sojeva je značajna i adekvatna formulacija koja će obezbediti vijabilnost dovoljnom broju ćelija da nakon inokulacije ispolje svoj efekat na biljku. Sagledavajući važnost izbora formulacije inokulanta, za cilj disertacije je postavljeno i ispitivanje mogućnosti inkapsulacije odabranih bakterijskih sojeva, kao i ispitivanje uticaja procesa inkapsulacije na očuvanje vijabilnosti ćelija tokom dužeg vremena skladištenja, kako bi se dobili inkapsulati pogodni za primenu u poljoprivrednoj proizvodnji.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Biljni materijal i zemljište

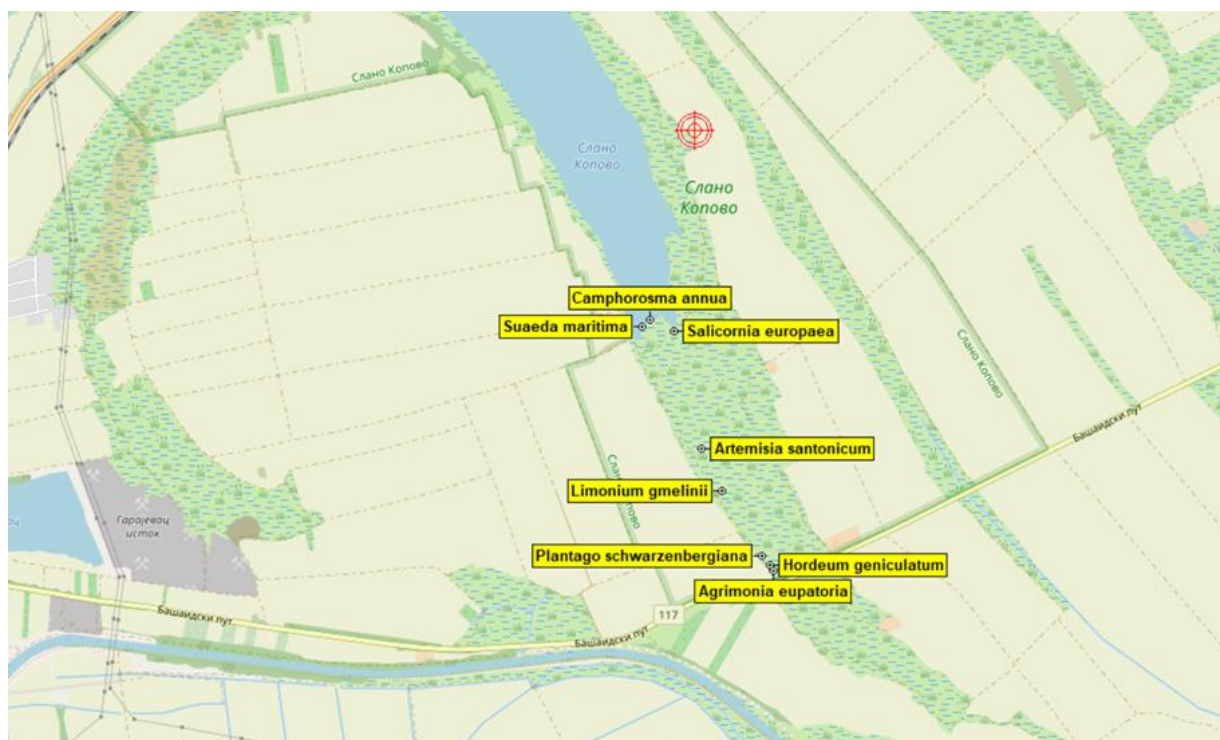
Biljni materijal i zemljište korišćeni za istraživanje su uzorkovani sa područja prirodne slatine u okviru Specijalnog rezervata prirode Slano Kopovo, Vojvodina, Srbija.

Izvršeno je uzorkovanje po tri primerka od sledećih biljnih vrsta: *Artemisia santonicum* L., *Limonium gmelinii* (Willd.) Kuntze, *Plantago schwarzenbergiana* Schur, *Agrimonia eupatoria* L., *Hordeum geniculatum* All. (sin *Hordeum hystrix* Roth), *Suaeda maritima* (L.) Dum., *Camphorosma annua* Pall., *Salicornia europaea* L. (Tabela 2; Slika 3).

Nakon uklanjanja površinskog dela zemljišta (0,5-1 cm), uzeti su uzorci biljaka zajedno sa korenom i okolnim blokom zemljišta sa dubine od oko 10 cm, prebaćeni u sterilne plastične kese za uzorkovanje i transportovani u laboratoriju Katedre za ekološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta u Beogradu. Determinacija biljaka urađena je na Katedri za morfologiju i sistematiku biljaka u Institutu za botaniku i botaničkoj bašti "Jevremovac", Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, korišćenjem ključeva za determinaciju biljaka. Vaučer primerci za svaku analiziranu vrstu deponovani su u Herbarijumu Instituta za botaniku Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu (BEOU). Vaučer brojevi prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2. Uzorci biljnog materijala

Biljna vrsta	Familija	Geografska lokacija		Vaučer broj (BEOU)
		N	E	
<i>Artemisia santonicum</i> L.	Asteraceae	45°36'24.81"	20°13'6.41"	17858
<i>Limonium gmelinii</i> (Willd.) Kuntze	Plumbaginaceae	45°36'22.88"	20°13'11.90"	17859
<i>Plantago schwarzenbergiana</i> Schur	Plantaginaceae	45°36'10.58"	20°13'22.80"	17860
<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	Rosaceae	45°36'7.71"	20°13'25.93"	17861
<i>Hordeum geniculatum</i> All. (sin <i>Hordeum hystrix</i> Roth)	Poaceae	45°36'8.95"	20°13'24.94"	17862
<i>Suaeda maritima</i> (L.) Dum.	Chenopodiaceae	45°36'53.90"	20°12'50.54"	17863
<i>Camphorosma annua</i> Pall.	Chenopodiaceae	45°36'55.24"	20°12'52.50"	17864
<i>Salicornia europaea</i> L.	Chenopodiaceae	45°36'56.42"	20°12'59.00"	17865



Slika 3: Lokaliteti uzorkovanja biljnog materijala (mapa napravljena pomoću softvera OziExplorer 3.95 4s).

Zemljište je uzorkovano na tri lokacije koje odgovaraju mestima uzorkovanja biljaka *A. santonicum* (Z1), *S. europaea* (Z2) i *H. geniculatum* (sinonim *H. hystrix*) (Z3). Uzorci su uzeti iz slobodnog dela zemljišta sa dubine do 30 cm i u sterilnim kesama za uzorkovanje transportovani u laboratoriju.

4.1.1. Priprema uzoraka

Priprema uzoraka zemljišta, rizosfere i endorizosfere je izvršena u roku od 12 h od uzorkovanja biljaka iz prirodnog staništa. Po tri primerka svake biljne vrste su korišćena za formiranje jedinstvenog uzorka.

Razdvajanje endorizosfere i rizosfere vršeno je prema modifikovanoj proceduri opisanoj u Schaleppi et al. (2014). Koren svake biljke je ručno odvojen od okolnog zemljišta i laganim trešenjem oslobođen od labavo pričvršćenih čestica zemljišta. Korenje, uključujući najudaljenije sitne delove i vrhove, je sakupljeno i isečeno sterilnim skalpelom na segmente dužine 3 cm, počevši 0,5 cm ispod osnove korena. Segmenti korena su ubačeni u Erlenmajerove boce sa 100 ml fosfatnog pufera (PBS) (NaCl 8,1 g; KCl 0,2 g; Na₂HPO₄ 0,6 g; KH₂PO₄ 0,2 g / 1 l) i isprani od zemljišta mešanjem na šejkeru 180 rpm/20 min (GFL 3005, Germany). Nakon početnog ispiranja, koren je odvojen, a dobijena suspenzija zemljišta prebačena u tube zapremine 50 ml i centrifugirana 4000 x g u trajanju od 20 min. Talog dobijen centrifugiranjem je označen kao rizosfera. Ispiranje korena je ponovljeno dva puta pod istim uslovima, nakon čega su osušeni na filter papiru. Površinska sterilizacija korena izvršena je potapanjem u 70% etanol 30 sekundi, zatim u 0,1% HgCl₂ 3 minuta nakon čega su obilno isprani sterilnom destilovanom vodom (Karličić, 2017).

Provera uspešnosti sterilizacije izvršena je postavljanjem korena na hranjivi agar (HA) (Torlak, Srbija) uz inkubaciju od 24 h na 30 °C (Binder, Nemačka). Sterilisani delovi korena su macerirani u aseptičnim uslovima u avanu sa tučkom uz dodatak fiziološkog rastvora (0,9% NaCl) i označeni kao endorizosfera biljke.

Ovako pripremljeni uzorci su korišćeni za izolaciju i formiranje kolekcije bakterija, kao i za analizu mikrobioma. Za potrebe analize mikrobioma, uzorci zemljišta, rizosfere i endorizosfere su sačuvani u DNA/RNA Shield rastvoru (Zymo Research, USA) u odnosu 1:10 (zemljište:rastvor, w/w).

Određena je aktivna kiselost uzorka zemljišta (pH u H₂O) (odnos zemljište:voda 1:2,5) potenciometrijski (Eutech 510, Thermo Scientific, Kanada).

4.2. 16 S rDNK analiza mikrobioma

Raznovidnost bakterijskih zajednica u uzorcima određena je komercijalnim sekvenciranjem 16S rDNA amplikona pomoću ZymoBIOMICS® Targeted Sequencing Service for Microbiome Analysis u Zymo Research (Irvin, Kalifornija, SAD) koristeći njihove standardne alate. Ukupna metagenomska DNK (mDNK) je izolovana korišćenjem ZymoBIOMICS® DNA Miniprep Kit (Zymo Research, Irvin, Kalifornija, SAD). Za pripremu biblioteke korišćen je *Quick-16S™* NGS Library Prep Kit (Zymo Research, Irvin, Kalifornija, SAD), dok su za umnožavanje DNK i sekvenciranje korišćeni prajmeri koje je dizajnirala kompanija Zymo Research. Finalna biblioteka je sekvencirana na Illumina® MiSeq™ sa V3 kitom (600 ciklusa) sa dodatkom >10% PhiX kao kontrola kvaliteta sekvenciranja. Nakon toga, jedinstvene sekvence amplikona su izvedene iz sirovih podataka (eng. *raw reads*) pomoću DADA2 alata (Callahan et al., 2016), koji je korišćen i za uklanjanje himernih sekvenci. Himerne sekvence i singltoni su filtrirani pre analize, dok su operativne taksonomske jedinice (OTU) grupisane na 94 i 97% sličnosti, što grubo odgovara nivou roda i vrste. Sekvence koje pripadaju hloroplastima i mitohondrijama su isključene iz analize. Taksonomska pripadnost je određena korišćenjem Uclust alata iz Qiime v.1.9.1 (Caporaso et al., 2010) koristeći interno dizajniranu bazu Zymo Research 16S rDNK sekvenci kao referentnu bazu podataka. Vizuelizacija sastava zajednice, alfa diverziteta i beta diverziteta je dobijena korišćenjem Qiime v.1.9.1. Ako je primenljivo, najzastupljeniji taksoni među različitim grupama su identifikovane pomoću LEfSe (Segata et al., 2011) koristeći podrazumevana podešavanja. Diverzitet bakterija unutar zajednica (alfa diverzitet) određen je analizom OTU (eng. *operational taxonomic unit*) i predstavljen sledećim indeksima diverziteta: Fisher alfa, Shannon, Simpson i recipročnim Simpsonovim indeksom. Bogatstvo vrsta predstavljeno je indeksima *Observed species* i Chao1 dok je filogenetska raznolikost u uzorcima predstavljena *Phylogenetic diversity PD whole tree* indeksom diverziteta. Diverzitet zajednica između uzoraka (beta diverzitet) na nivou roda određen je i vizuelizovan pomoću analize glavnih koordinata (eng. *Principal Coordinates Analysis*, PCoA). PCoA grafici su kreirani korišćenjem matrice parnih udaljenosti između uzoraka dobijenih pomoću Bray-Kertisove razlike (eng. *Bray-Curtis dissimilarity*).

4.3. Izolacija i formiranje kolekcije bakterija

Za izolaciju bakterija iz uzoraka zemljišta, rizosfere i endorizosfere primenjene su dve strategije. Prva je podrazumevala izolaciju halotolerantnih bakterija, dok je druga podrazumevala izolaciju bakterija koje proizvode enzim 1-aminociklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminazu.

4.3.1. Izolacija halotolerantnih bakterija

Za izolaciju halotolerantnih bakterija iz uzoraka korišćena je metoda razređenja u fiziološkom rastvoru i zasejavanja odgovarajućih razblaženja na hranljivi agar (HA) (Torlak, Srbija) sa dodatkom 5%, 10% i 15% (w/v) natrijum hlorida (HA-NaCl). U cilju izolacije endorizosfernih halotolerantnih bakterija, HA-NaCl je pre razlivanja obogaćen sa 1% ekstrakta odgovarajućeg korena dobijenog homogenizacijom maceriranog korena sa fiziološkim rastvorom i sterilizacijom kroz filter 0,2 µm. Podloge su zatim inkubirane na 30°C (Binder, Nemačka), do pojave kolonija. Za svaki uzorak, birane su morfološki različite kolonije i metodom iscrpljivanja dobijene su čiste kulture izolata. Čistoća kulture proveravana je bojenjem po Gramu i posmatranjem mikroskopskog preparata posle svakog

presejavanja (Nikon Eclipse 50i, Japan). Čiste kulture su čuvane na -80°C u 25% glicerolu (Thermo Fisher Scientific, SAD).

4.3.2. Izolacija ACC deaminaza produkujućih bakterija

Bakterije koje proizvode ACC deaminazu izolovane su prema protokolu opisanom u Penrose i Glick (2003). U cilju obogaćivanja populacije Gram negativnih bakterija i smanjenja brojnosti gljiva u uzorcima, 1 g uzorka je dodato u 50 ml hranljivog PAF medijuma i inkubirano mešanjem na šejkeru $28 \pm 2^{\circ}\text{C}/200\text{ rpm}$ tokom 24 h (Biosan ES-20, Letonija). Nakon inkubacije, 1 ml kulture je prebačen u 50 ml svežeg PAF medijuma i inkubirano pod istim uslovima. Nakon 24 h, 1 ml obogaćene kulture je ubačen u Erlenmajerove boce sa 50 ml Dworkin Foster (DF) minimalnog medijuma (Dworkin i Foster, 1958) sa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ kao izvorom azota i inkubirano dodatnih 24 h pod istim uslovima.

Sastav PAF medijuma:

Pepton	10 g
Kazein hidrolizat	10 g
MgSO_4	1,5 g
K_2HPO_4	1,5 g
Glicerol	10 ml
H_2O	1000 ml

Sastav DF minimalnog medijuma:

KH_2PO_4	4 g	$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	1 mg
Na_2HPO_4	6 g	H_3BO_3	10 μg
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 g	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	11,19 μg
Glukoza	2 g	$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	124,6 μg
Glukuronska kiselina	2 g	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	78,22 μg
Limunska kiselina	2g	MoO_3	10 μg
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2g	H_2O	1000 ml
		pH	7,2

Finalno, 1 ml kulture je prebačen u svežih 50 ml DF medijuma koji umesto $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, kao jedini izvor azota, sadrži 3 mM ACC. Prethodno je pripremljen stok rastvor 0,5 M ACC, sterilisan kroz bakteriološki filter promera 0,2 μm i zaleđen na -20°C . Budući da je ACC nestabilan u vodenom rastvoru, zaleđeni stok rastvor je otopljen na sobnoj temperaturi neposredno pred dodavanje u tečni DF medijum. Inokulisani DF medijum sa 3 mM ACC je inkubiran na $28 \pm 2^{\circ}\text{C}/200\text{ rpm}/24\text{ h}$ (Biosan ES-20, Letonija).

Nakon inkubacije, napravljena je serija razređenja finalne kulture i 0,2 ml je zasejano utrljavanjem na površinu čvrste DF podloge (1,8% agar) sa ACC kao izvorom azota. Otopljeni 0,5 M rastvor ACC je utrljavan sterilnim štapićem na površinu čvrstih DF podloga (60 μl za Petri šolje 9 cm Ø) i ostavljen da se potpuno osuši pre inokulacije.

Zasejane podloge su inkubirane na $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ i pojava kolonija je praćena svakodnevno tokom 72 h. Morfološki različite kolonije su odabrane i presejane na hranljivi agar. Dobijanje i čuvanje čistih kultura je vršeno na isti način kako je opisano u poglavlju 4.3.1.

4.4. Karakterizacija izolata

Dobijeni izolati su okarakterisani određivanjem morfoloških, ekoloških, PGP svojstava kao i testovima patogenosti izolovanih bakterija.

4.4.1. Morfološke odlike izolata

Morfološka karakterizacija izolata uključila je opisivanje makromorfoloških odlika (oblik, veličina, tekstura kolonija na HA podlozi, produkcija pigmenata) i mikromorfoloških odlika (oblik ćelija, bojenje po Gramu, prisustvo kapsula i spora, pokretljivost). Oblik ćelija, bojenje po Gramu, prisustvo kapsula i spora su određeni mikroskopski (Nikon Eclipse 50i, Japan).

Sposobnost izolata za "plivajuću" pokretljivost (*swimming motility test*) određena je prema protokolu opisanom u Remonsellez et al. (2019). Ispitivanje pokretljivosti izvršeno je na podlozi hranljivi bujon (HB) (Torlak, Srbija) sa 0,3% agara. Autoklavirana podloga je razlivena i sušena u laminaru 30 min, nakon čega je inokulisana sa 5 µl sveže bakterijske kulture na sredini ploče. Inokulisane ploče su inkubirane 24 h na 30 °C, nakon čega je izmeren prečnik kolonija (mm). Test je izveden u tri ponavljanja.

Oblik, veličina i tekstura kolonija određeni su nakon 48-72 h inkubacije izolata pri 30 °C na HA podlozi. U slučaju pigmentisanih kolonija izvršeno je dodatno praćenje produkcije pigmenata spektrofotometrijski (HALO DB-20S, Dynamica, Italija), prema modifikovanom protokolu datom u Rezaeeyan et al. (2017). Bakterije koje proizvode pigmente su gajene na HA, tokom 5 dana na 30°C. Nakon inkubacije, u Eppendorf tube (2 ml) je odmereno 40 mg sveže ćelijske mase u tri ponavljanja. Ćelije su isprane sa 1 ml fiziološkog rastvora i centrifugirane na 4000 x g tokom 15 min (Mini Spin, Eppendorf, Nemačka). Bakterijske ćelije su zatim resuspendovane u 2 ml metanola i inkubirane u vodenom kupatilu (Memmert, Nemačka) na 60 °C tokom 15 minuta. Centrifugiranjem na 4000 x g tokom 15 minuta, oboren je obezbojen ćelijski talog. Obojeni supernatant je profiltriran kroz filter papir nakon čega je merenjem apsorbance na talasnoj dužini 450 nm određen ukupan sadržaj karotenoida (HALO DB-20S, Dynamica, Italija).

4.4.2. Ekološke odlike izolata

U okviru karakterizacije izolata na osnovu odnosa prema ekološkim faktorima, ispitan je uticaj različitih koncentracija NaCl, temperature i pH na rast izolata iz formirane kolekcije.

Odnos izolata prema soli ispitan je na HA sa dodatkom različitih koncentracija NaCl (0, 3, 5, 7, 10, 12, 15, 18, 20, and 25%). Prekonoćne kulture su zasejane na površinu čvrstih podloga i inkubirane na 30 °C tokom 48-72 h. Pojava kolonija predstavlja potvrdu tolerancije izolata prema određenoj koncentraciji NaCl u podlozi.

Uticaj temperature određen je praćenjem rasta izolata na HA tokom inkubacije na različitim temperaturama (4, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 i 55 °C). Pojava kolonija nakon 48 h inkubacije na odgovarajućoj temperaturi je smatrana za pozitivan rezultat.

Odnos izolata prema pH vrednosti praćen je u HB (Torlak, Srbija) kome je, dodavanjem 1M HCl ili 1M NaOH, pH vrednost podešena na vrednosti 5, 6, 7, 8, 9, 10. Zamućenje podloge nakon 72 h inkubacije na 30 °C tumačeno je kao pozitivan rezultat i potvrda rasta je izvršena zasejavanjem tečnih kultura na površinu HA i inkubacijom 24 h na 30 °C.

4.4.3. Ispitivanje svojstava stimulacije biljnog rasta

Sposobnost bakterija da stimulativno deluju na rast i razvoj biljaka ispitana je kroz sledeće testove: produkcija indol sirćetne kiseline (IAA), produkcija amonijaka, siderofora, egzopolisaharida (EPS), sposobnost formiranja biofilmova, kao i sposobnost solubilizacije P, K i Zn.

4.4.3.1 Produkcija indol sirćetne kiseline (IAA)

Za ispitivanje sposobnosti izolata da produkuju indol sirćetnu kiselinu (IAA) korišćena je kolorimetrijska metoda prema Patten i Glick (2002). Prekonoćne kulture bakterija su zasejane u 5 ml M9 podloge i inkubirane na 30 °C/24 h/150 rpm. Zatim je 0,5 ml kulture prebačeno u 9 ml svežeg M9 medijuma sa dodatkom 100 µg/ml l-triptofana (Sigma Aldrich, SAD) i inkubirano na 30 °C/150 rpm (Biosan ES-20, Letonija). Nakon 72 h inkubacije, 2 ml bakterijske suspenzije je odvojeno i centrifugirano 6000 x g/15 min (Mini Spin, Eppendorf, Nemačka). Supernatant je prebačen u epruvetu gde je pomešan sa Salkowski reagensom u odnosu 1:2, homogenizovan vorteksovanjem i inkubiran 25 min u mraku na sobnoj temperaturi. Pojava ružičaste boje nakon inkubacije, označava pozitivnu reakciju. Kvantifikacija produkovanog IAA (µg/ml) vršena je spektrofotometrijski (T70 UV/VIS Spectrometer, PG, Velika Britanija) merenjem apsorbance na 540 nm i poređenjem sa vrednostima iz standardne krive IAA.

Standardna kriva IAA je napravljena pomoću sintetičke IAA (Sigma Aldrich, SAD). Rastvaranjem 10 mg IAA u 10 ml acetona, napravljen je početni rastvor od koga je dalje pripremljena serija razblaženja u M9 medijumu finalnih koncentracija 5, 10, 20, 50 i 100 µg/ml. Po 1 ml rastvora poznatih koncentracija je mešano sa 2 ml Salkowski reagensa, inkubirano 25 min u mraku na sobnoj temperaturi, nakon čega je očitavana apsorbance na 540 nm (T70 UV/VIS Spectrometer, PG, Velika Britanija).

Sastav M9 medijuma:

M9 soli	200 ml
1M MgSO ₄	2 ml
20% glukoza	20 ml
1M CaCl ₂	0,1 ml
H ₂ O	1000 ml

Sastav M9 soli:

Na ₂ HPO ₄ x 7H ₂ O	64 g
KH ₂ PO ₄	15 g
NaCl	2,5 g
NH ₄ Cl	5 g
H ₂ O	1000 ml

Salkowski reagens je pripremljen mešanjem koncentrovane (95-98%) H₂SO₄ sa 7,5 ml 0,5 M rastvora FeCl₃x6H₂O i 250 ml destilovane vode.

Rastvor L-triptofana (Sigma Aldrich, SAD) koncentracije 1 mg/ml pripremljen je u destilovanoj vodi, sterilisan kroz filter promera 0,2 µm (Sarstedt, Nemačka) i dodat u M9 podlogu u koncentraciji od 100 µg/ml.

4.4.3.2. Produkcija amonijaka (NH₃)

Testirani izolati su gajeni u 5 ml peptonske vode (Torlak, Srbija) 72 h/30 °C /200 rpm (Biosan ES20, Letonija). Nakon inkubacije, po 0,5 ml Neslerovog reagensa (Alfapanonija, Srbija) je dodato u epruvete. Promena boje od žute do braon je potvrda sposobnosti izolata da produkuje NH₃ (Cappuccino i Sherman, 2005).

4.4.3.3. Produkcija siderofora

Za ispitivanje sposobnosti izolata da produkuju siderofore korišćena je modifikovana Chrome Azurol S (CAS) metoda prema Lakshaman et al. (2015). Sveže bakterijske kulture su zasejane na površinu CAS agara i inkubirane na 30 °C tokom 5 dana. Pojava žuto-narandžastih zona oko bakterijskih kolonija nakon inkubacije predstavlja potvrdu produkcije siderofora.

Priprema CAS-agara:

1. Rastvor: 60,5 mg hrom azurol S (CAS, Fluka) boje je rastvoreno u 50 ml destilovane vode
2. Rastvor: 0,0027g $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ u 10 ml 10 mM HCl
3. Rastvor: 72,9 mg heksadeciltrimetilamonijum-a (HDTMA, Sigma) je rastvoreno u 40 ml destilovane vode.

Mešanjem rastvora (1) sa rastvorom (2) dobijen je rastvor indigo plave boje koji je uz lagano mešanje dodat autoklaviranom i rashlađenom rastvoru (3).

Finalni rastvor boje (1+2+3) zapremine 100 ml dodat je u 900 ml sterilnog LA medijuma čija je pH pre autoklaviranja podešena na 6,8.

Luria Bertani agar (LA) medijum:

Trypton	10 g
Kvašćev ekstrakt	5 g
NaCl	10 g
H ₂ O	1000 ml
Agar	15 g

4.4.3.4. Produkcija egzopolisaharida (EPS)

Sposobnost produkcije EPS testirana je prema proceduri opisanoj u Paulo et al. (2012). Na površinu čvrste podloge za produkciju EPS (Guimarães et al., 1999) postavljeni su sterilni filter diskovi (Ø 5 mm) i inokulisani sa 5 µl bakterijske suspenzije gustine 10^7 CFU/ml. Podloge su inkubirane 48 h na 30 °C. Pojava sluzavih kolonija oko diskova označava produkciju EPS, što se potvrđuje stvaranjem taloga nakon unošenja kolonija u 2 ml 96% etanola.

Medijum za produkciju EPS:

Saharoza	50 g
Kvašćev ekstrakt	20 g
MgSO ₄	20 g
K ₂ HPO ₄	20 g
NaCl	0,01 g
FeSO ₄	0,01 g
MnSO ₄	0,01 g
CaCl ₂	0,02 g
Agar	16 g
H ₂ O	1000 ml

4.4.3.5. Produkcija biofilma

Sposobnost produkcije biofilмова praćena je pomoću kolorimetrijskog metoda sa Kristal violetom u mikrotitarskim pločama sa 96 otvora i ravnim dnom prema modifikovanom protokolu Stepanović et al. (2007) i Vujović (2016):

1. Bakterije su gajene u 5 ml HB tokom 24 h/30 °C.
2. U bunariće mikrotitarske ploče uneto je 200 µl bakterijske kulture i inkubirano 24 h/30 °C.
3. Nakon inkubacije, sadržaj iz bunarića je prosut, a otvori isprani dva puta sa po 250 µl PBS radi uklanjanja preostalih nepričvršćenih ćelija.
4. Nakon ispiranja, formirani biofilmovi su sušeni na vazduhu i fiksirani pomoću 250 µl metanola tokom 15 min i osušeni na vazduhu.
5. Biofilmovi su obojeni pomoću 200 µl 0,4% kristal-violeta tokom 15 min.
6. Boja je postepeno ispirana vodom sa česme kako se biofilm ne bi ošteti.
7. Resuspenzija boje u biofilmu je izvršena dodavanjem 250 µl 33% sićetne kiseline u bunariće tokom 20 min.
8. Apsorbanca je merena na čitaču mikrotitar ploča na talasnoj dužini 630 nm (TECAN, Sunrise).
9. Sterilni HB medijum je predstavljao negativnu kontrolu (blank).
10. Svi eksperimenti su rađeni u osam ponavljanja, a rezultati tumačeni na osnovu srednjih vrednosti očitanih apsorbanci.

Za interpretaciju rezultata neophodno je izračunati OD_c vrednost (Stepanović et al, 2007):

OD_c = srednja vrednost OD negativne kontrole + (3xSD negativne kontrole)

Poređenjem srednje vrednosti dobijenih OD i OD_c, izolati su svrstani u sledeće kategorije:

OD (izolata) ≤ OD_c = biofilm-neprodukujući izolat (0)

OD_c ≤ OD (izolata) ≤ 2 OD_c = slabo biofilm-produkujući izolat (+ ili 1)

2OD_c ≤ OD (izolata) ≤ 4OD_c = srednje biofilm-produkujući izolat (++ ili 2)

4OD_c ≤ OD (izolata) = visoko biofilm-produkujući izolat (+++ ili 3).

4.4.3.6. Sposobnost solubilizacije fosfata (P), kalijuma (K) i cinka (Zn)

Testovi solubilizacije su izvedeni zasejavanjem svežih bakterijskih kultura na površinu čvrstih podloga specifičnih za test u tri ponavljanja.

Sposobnost solubilizacije neorganskih fosfata testirana je na NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate) podlozi sa Ca₃(PO₄)₂, prema Nautiyal (1999). Inkubacija je trajala 14 dana/30 °C.

Za određivanje solubilizacije neorganskih izvora cinka korišćena je Tris-mineralna podloga sa dodatkom 1% ZnO (Gandhi i Muralidharan, 2016) koja je nakon inokulacije inkubirana 72 h/30 °C.

Modifikovani Aleksandrov medijum koji kao indikator sadrži brom timol plavo i KAlSi₃O₈ kao izvor kalijuma (Galenika, Srbija) korišćen je za ispitivanje izolata da solubilizuju kalijum (Rajawat et al., 2016). Inkubacija je trajala 72 h/30 °C.

Pojava svetlih zona oko kolonija nakon inkubacije na NBRIP i Tris mineralnom medijumu i žutih zona na Aleksandrovom medijumu ukazuju na potencijal izolata da solubilizuju testirana neorganska jedinjenja koji se izražava preko indeksa solubilizacije (SI indeks) (Bashir et al., 2017).

$$SI = (\text{prečnik kolonije} + \text{prečnik prosvetljene zone}) / \text{prečnik kolonije} \times 100$$

NBRIP medijum:		Tris minimalni medijum		Modifikovan Aleksandrov medijum:	
Glukoza	10 g	Dekstroza	10 g	Glukoza	5 g
Ca ₃ (PO ₄)	5 g	(NH ₄)SO ₄	1 g	MgSO ₄	0,5 g
MgCl ₂ *6H ₂ O	5 g	KCl	0,2 g	FeCl ₃	0,006 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g	K ₂ HPO ₄	0,1 g	Ca ₃ (PO ₄) ₂	2 g
MgSO ₄ *7H ₂ O	0,25 g	MgSO ₄	0,2 g	CaCO ₃	0,1 g
KCl	0,2 g	ZnO	10 g	KAlSi ₃ O ₈	3 g
Agar	20 g	Agar	15 g	H ₂ O	1000 ml
H ₂ O	1000 ml	H ₂ O	1000 ml	Agar	20
pH	7	pH	7	pH	7,5

Aleksandrov medijumu se pre autoklaviranja dodaje indikator brom timol plavo (2,5 ml/100 ml podloge). Rastvor indikatora se dobija rastvaranjem 5g brom timol u 1l 70% etanola.

4.4.3.7. Produkcija ACC deaminaze

Izolati dobijeni po proceduri za izolaciju ACC deaminaza produkujućih bakterija opisanoj u 4.3.2., kao i izolati dobijeni primenom principa halotolerancije sa sposobnošću rasta na DF podlozi u kojoj je ACC jedini izvor azota, su podvrgnuti kolorimetrijskom ninhidrinskom testu u mikrotitarskim pločama sa ciljem potvrde sposobnosti produkcije ACC deaminaze (Li et al., 2011).

Priprema:

Izolati su gajeni u 5 ml LB podloge 24 h na 28 °C /200 rpm (Biosan ES 20, Letonija). Nakon inkubacije, 2 ml dobijene kulture je centrifugirano na 8000 x g /5 min (Mini Spin Eppendorf, Nemačka) i ćelije su isprane pomoću sterilnog DF medijuma dva puta. Isprane ćelije su resuspendovane u 2 ml DF medijuma obogaćenog sa 3 mmol/l ACC-a (Sigma-Aldrich, SAD) u plastičnim tubama za centrifugiranje i inkubirane 28 °C /200 rpm (Biosan ES- 20, Letonija) još 24 h. Neinokulisani DF-ACC medijum (2 ml) je inkubiran paralelno kao kontrola.

Ninhidrinski test:

Po 1 ml dobijene bakterijske kulture je centrifugirano na 8000 x g /5 min, nakon čega je 0,1 ml dobijenog supernatanta razblaženo dodavanjem 0,9 ml DF medijuma (10x). Po 60 µl razblaženog supernatanta je prebačeno u bunariće PCR mikrotitarskih ploča (96 otvora) i pomešano sa 120 µl ninhidrin reagensa, nakon čega su ploče zatvorene samolepljivom zaštitnom folijom (Eppendorf) i inkubirane 30 min u vodenom kupatilu (Mettler, Nemačka) na temperaturi ključanja. Neinokulisani DF-ACC medijum (3 mmol/l ACC) predstavljao je pozitivnu kontrolu dok je neinokulisani DF medijum predstavljao negativnu kontrolu. Kontrole i tretmani su izvedeni u tri ponavljanja.

Pojava Ruhemanove ljubičaste boje je pozitivna reakcija na prisustvo ACC. Promena intenziteta boje u bunarićima u odnosu na kontrolni DF-ACC medijum je znak smanjenja početne količine ACC usled bakterijske potrošnje. Kvantifikacija potrošnje ACC izvršena je prebacivanjem 100 µl reakcionog rastvora u nove mikrotitarske ploče sa 96 bunarića ravnog dna, merenjem apsorbance na 570 nm (TECAN, Sunrise) i poređenjem sa vrednostima standardne krive ACC (0,005-0,5 mmol/l).

Priprema standardne krive: Razblaživanjem početnog DF-ACC medijuma (početna koncentracija 3 mmol/l ACC) pomoću DF medijuma napravljena je serija radnih rastvora koncentracija 0,005, 0,01, 0,015, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30, 0,40 i 0,50 mmol/l. Po 60 µl radnih rastvora ACC mešano je sa 120 µl ninhidrinskog reagensa u PCR mikrotitarskim pločama, zagrevano u vodenom kupatilu 30 min na temperaturi ključanja. Nakon inkubacije, reakcioni rastvori su prebačeni

u mikrotitarske ploče sa ravnim dnom i očitana je apsorbance na 570 nm (TECAN, Sunrise). Dobijene vrednosti apsorbance su korišćene za konstruisanje standardne krive ACC.

Priprema ninhidrinskog reagensa: 500 mg ninhidrina i 15 mg askorbinske kiseline (Sigma Aldrich) je rastvoreno u 60 ml etilen glikola i čuvano na -20 °C. Pre upotrebe, rastvoru je dodato 60 ml 0,1 M citratnog pufera (pH 6) (MOL, Srbija).

4.4.4. Testovi patogenosti

U cilju karakterizacije patogenog potencijala izolata iz kolekcije, ispitana je njihova hemolitička i dezoksiribonukleazna (DNKazna) aktivnost.

Hemolitička sposobnost izolata testirana je zasejavanjem sveže kulture na površinu Kolumbija krvnog agara sa 5% ovčije krvi (ProReady, Promedia, Srbija) i inkubacijom na 37 °C tokom 48 h (Galligan, 2013). Pozitivna hemolitička aktivnost utvrđuje se pojavom prosvetljenih zona oko kolonija na Kolumbija krvnom agaru.

Sposobnost produkcije DNKaze ispitana je zasejavanjem na DNaza agar (HiMedia, Indija) i inkubacijom na 37 °C tokom 48 h (Jeffries et al., 1957). Nakon inkubacije, površina agara je prelivena 1M HCl (Centrohem, Srbija). Pojava svetlih zona oko kolonija je pokazuje sposobnost izolata da produkuje DNKazu i razlaže DNK u podlozi.

4.5. Ispitivanje uticaja NaCl na ispoljavanje svojstava stimulacije biljnog rasta, pokretljivost i produkciju pigmenata

Sa ciljem da se proveriti uticaj soli na ispoljavanje svojstava biljnog rasta, svi testovi karakterizacije PGP svojstava su ponovljeni uz dodatak 3% i 7% NaCl u podlogama.

Pored svojstava stimulacije biljnog rasta navedenih u 4.4.3, pokretljivost izolata i produkcija pigmenata su takođe testirane u prisustvu 3% i 7% NaCl u podlogama.

4.6. Molekularna identifikacija izolata

Odabrani halotolerantni i ACC deaminaza produkujući izolati su molekularno identifikovani sekvencioniranjem dela gena za 16s rRNK i poređenjem dobijenih sekvenci sa sekvencama dostupnim u Gen Bank bazi podataka (NCBI).

Izolacija hromozomalne DNK i molekularna identifikacija zemljišnih, rizosfernih i endofitnih izolata (osim endofita sukulentnih biljaka) izvršena je na Katedri za ekološku mikrobiologiju Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Molekularna identifikacija endofita poreklom iz sukulentnih biljaka izvršena je na Institutu za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo (IMGGI), Univerziteta u Beogradu. Sekvence 16S rDNK fragmenata sojeva deponovane su u NCBI GenBank bazi podataka (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) pod pristupnim brojevima (Tabela 27).

Priprema bakterija za izolaciju DNK

Čiste bakterijske kulture su gajene u HB na 30 °C tokom 24-48 h. U sterilne eppendorf tube (1,5 ml) odmereno je 100 µg ćelija i dodato 300 µl fiziološkog rastvora za ispiranje. Ispiranje fiziološkim rastvorom je ponovljeno dva puta, uz obaranje ćelija centrifugiranjem na 7000 x g (Mini spin Eppendorf, Nemačka) tokom 5 min. Posle finalnog ispiranja i odlivanja supernatanta, ćelije su resuspendovane u 100 µl RNaze-free vode (Molecular Biology Grade Water, Eppendorf).

Izolacija hromozomalne DNK odabranih izolata

Hromozomalna DNK je izolovana korišćenjem Zymo Research Soil Microbe DNA Miniprep Kit-a prema uputstvima proizvođača (Zymo Research, USA).

Ćelije pripremljene za ekstrakciju DNK su prebačene u ZR Wasing Bead™ Lysis tube i pomešane sa 750 µl rastvora za liziranje ćelija. Tubice su postavljene u Disruptor Genie™ (Scientific industries, SAD), mešane na maksimalnoj brzini 5 min i centrifugirane na 10000 x g /1 min. U pripremljenu kolekcionu tubu sa Zymo Spin™ IV Spin Filter-om je prebačeno 400 µl supernatanta i centrifugirano na 7000 x g /1 min. Zymo Spin™ IV Spin Filter je odbačen a u kolekcionu tubu je dodato 1200 µl Soil DNA Binding Buffer-a. Sledeći korak uključivao je prebacivanje 800 µl smeše u Zymo Spin™ IIC kolonu sa kolekcionom tubom i centrifugiranje na 10000 x g/1 min, nakon čega je tečnost iz kolekcione tube odbačena i postupak je ponovljen. Zymo Spin™ IIC kolona je postavljena u novu kolekcionu tubu i direktno na filter kolone (na kome se nalazi DNK) dodato je 200 µl DNA Pre-Wash Buffer-a i centrifugirano na 10000 x g/1 min. Na filter kolone je zatim dodato 500 µl Soil DNA Wash Buffer-a i centrifugirano na 10000 x g/1 min. Nakon ispiranja, Zym Spin™ IIC kolona sa DNK je prebačena u sterilnu ependorf tubu (1,5ml), direktno na filter je dodato 100 µl DNA Elution Buffer-a i centrifugirano je na 10000 x g/30s. Finalni korak je uključivao prebacivanje eluirane DNK u pripremljenu Zymo Spin™ IV HCR Spin filter u novoj ependorf tubi (1,5 ml) i centrifugiranje na 8 000 x g/ 1 min. Izolovana DNK je kvantifikovana merenjem apsorbance na 260 nm (NanoDrop™ Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, SAD). Izolovana DNK je čuvana u zamrzivaču na -20°C.

4.6.1. Molekularna identifikacija odabranih endofita sukulenitnih biljaka

Reakcija lančane polimerizacije DNK (PCR)

Geni za 16S rDNK ispitivanih sojeva umnoženi su PCR-om pomoću prajmera prikazanih u tabeli 3 korišćenjem genomske DNK kao matrice.

Tabela 3. Parovi prajmera korišćeni u molekularnoj identifikaciji izolata

Naziv	Sekvenca	Referenca/izvor
27f	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	(Lane, 1991)
1492r	CGGCTACCTTGTTACGACTT	(Lane, 1991)

PCR smeša (50 µl) za umnožavanje 16S rDNK endofita sadržala je: 100 ng matrice DNK, 0,2 mM svakog dNTP, 1x Taq Poly pufer B, 5% DMSO, 2,5 mM MgCl₂, 1,5 U FastGene Taq polimeraze (Nippon Genetics) i 100 pmol svakog prajmera. Za sva umnožavanja korišćeni su PCR aparati GeneAmp PCR System 2700 i 2720 Thermal Cycler, proizvođača Applied Biosystems (Foster City, CA, SAD). Kao negativna kontrola korišćena je PCR smeša koja je umesto DNK sadržala RNase free vodu. Uslovi PCR reakcija su dati u Tabeli 4.

Tabela 4. Korišćeni PCR programi za umnožavanje 16S rDNK

Faza	Uslovi
Inicijalna denaturacija	3 min, 95°C
Denaturacija	30 s, 95°C
Hibridizacija	30 s, 50°C
Elongacija	1min 30 s, 72°C

Elektroforeza u agaroznom gelu

PCR produkti za identifikaciju endofita analizirani su horizontalnom elektroforezom u nedenuirajućim uslovima na 0,8% agaroznom gelu (Sambrook, 1989). Kao elektroforetski pufer korišćen je TBE (89 mM Tris, 89 mM borna kiselina, 2 mM EDTA, pH 8,3). Etidijum bromid je dodavan u gel u finalnoj koncentraciji od 0,5 µg/ml. Pufer za uzorak sastavljen je od indikatorskih boja (0,04% bromfenol plavog, 0,04% ksilencijanola) i 6,7% saharoze. Elektroforetsko razdvajanje vršeno je pri konstantnom naponu električnog polja od 0,5 do 5 V po dužnom centimetru gela.

Veličina DNK fragmenata je određivana poređenjem njihove elektroforetske mobilnosti sa standardima molekulskih masa (1 kb standard) (GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder, Fermentas, Vilnius, Litvanija).

Razdvajanje uzoraka praćeno je kretanjem fronta indikatorskih boja, a detekcija uzoraka na gelu postizana je njihovim osvetljavanjem pod UV svetlom (BioDoc Analyze, Biometra, Goettingen, Nemačka). Proizvodi PCR reakcije su zatim prečišćavani korišćenjem kita i prečišćeni fragmenti 16S rDNK su zatim korišćeni kao matrica za određivanje primarne strukture DNK.

Određivanje primarne strukture DNK (sekvenciranje)

Nakon umnožavanja PCR-om Geni za 16S rDNK ispitivanih sojeva sojeva su sekvencirani pomoću istih prajmera, u oba smera po tri puta.

Sekvenciranje po Sanger-u (Sanger, 1977) odrađeno je na IMGGI, Univerziteta u Beogradu. Sekvenciranje je rađeno pomoću BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kita (Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD) korišćenjem PCR aparata (GeneAmp PCR System 2700 ili 2720 Thermal Cycler, Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD). Reakciona smeša sadržala je 16-32 ng DNK matrice, 3,2 pmol prajmera, 3 µl Ready Reaction Mix-a, 5% DMSO i dejonizovanu vodu do finalne zapremine od 8 µl. Sekvenciranje se odvijalo u sledećim uslovima: denaturacija 1 min na 96 °C, praćena sa 25 ciklusa sa inicijalnom denaturacijom 10 sek/96 °C, hibridizacijom 10 sek /50 °C i elongacijom na 60 °C tokom 4 min.

Reakcione smeše su prečišćavane od nevezanih obeleženih nukleotida etanol/natrijum acetatnom precipitacijom. 40 µl rastvora A (1,2 ml 3M CH₃COONa, pH 5,2; 25 ml 96% etanola (v/v); 5,8 ml destilovane vode) dodavano je u reakcionu smešu. DNK je obarana 10 min, 15700 x g, RT (mikrofuga 5415D, Eppendorf, Hamburg, Nemačka). Talog je zatim pran dva puta sa po 200 µl 70% (v/v) etanola. Talozi su zatim sušeni 3 min pod vakuumom (Eppendorf Concentrator 5301, Eppendorf, Hamburg, Nemačka) i resuspendovani u 25 µl formamida (Hi-Di Formamide, Applied Bio-systems, Foster City, CA, SAD). Ovako pripremljeni uzorci nanošeni su na čitač (ABI Prism 3130 Genetic Analyzer, Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD). Sekvence dobijene na čitaču su obrađivane programom SeqAnalizer u okviru softverskog paketa samog čitača.

Bioinformatička obrada sekvenci i taksonomska identifikacija sojeva

Sekvence su obrađivane u programu ChromasPro (Technelysium Pty, Helensvale, Australija) koji korespondira sa programskim paketom za poravnavanje (*alignement*) sekvenci ClustalW (Thompson et al., 2002). Sekvence su sklapane (*assembly*) uz pomoć programskog paketa Lasergene SeqMan (DNASTAR, Madison, WI, SAD). Dobijene sekvence su poređene sa deponovanim sekvencama u bazama podataka NCBI korišćenjem BLAST programa (Altschul et al. 1997). Dobijene sekvence 16S rDNK gena izolata korišćene su za pronalaženje sličnih sekvenci u okviru Ribosomal Database Project-II Release 11.5 (RDP; <http://rdp.cme.msu.edu>; (Cole et al., 2009)).

4.6.2. Molekularna identifikacija zemljišnih, rizosfernih i endofitnih izolata (osim endofita sukulenata)

Reakcija lančane polimerizacije DNK (PCR)

Amplifikacija varijabilnih regiona gena za 16S rRNK je izvršena pomoću PCR (lančana reakcija polimeraze) metode koristeći prajmere date u Tabeli 5.

Tabela 5. Parovi prajmera korišćeni u molekularnoj identifikaciji zemljišnih, rizosfernih i endofitnih izolata

Naziv	Sekvenca	Referenca/izvor
UNI16SF	GAGAGTTTGATCCTGGC	(Jovčić et al., 2009)
UNI16SR	AGGAGGTGATCCAGCCG	(Jovčić et al., 2009)

PCR reakcija za umnožavanje 16S rDNK rizosfernih i zemljišnih bakterija izvedena je na termosajkleru (Kiratec, Australia). Reakciona smeša sadržala je: hromozomsku DNK (5 µl), 5 µl reakcioni pufer (10x), 1 µl MgCl₂ (25 mM), 1 µl dNTP (svaki 200 µM), 1 µl svakog prajmera (svaki po 2,5 µM); 0,2 µl Taq polimeraza (1U/ µl) (Kapa Biosystems, Inc., Boston, MA, USA), i RNase free voda do finalne zapremine 50 µl.

Kao negativna kontrola korišćena je PCR smeša koja je umesto DNK sadržala RNase free vodu. Uslovi PCR reakcija su dati u Tabeli 6.

Tabela 6. Korišćeni PCR programi za umnožavanje 16S rDNK

Faza	Uslovi
Inicijalna denaturacija	5 min, 94 °C
Denaturacija	30 s, 94 °C
Hibridizacija	30 s, 55 °C
Elongacija	60 s, 72 °C
Finalna elongacija	7 min, 72 °C

Elektroforeza u agaroznom gelu

Vizuelizacija umnoženih DNK fragmenata za identifikaciju izolata vršena je horizontalnom elektroforezom (Advance Mupid-One, Japan) u nedenaturišućim uslovima na 1%-nom agaroznom gelu pripremljenom rastvaranjem agaroze u 1x TBE puferu (Tris-Borat-EDTA buffer) (Fermentas, Litvanija). Za bojenje gela korišćena je Midori Green Advance boja (10 µl) (Nippon Genetics Europe GmbH), dok je PCR produkt pre unošenja u bunarić pomešan sa 2 µl Midori Green boje (Nippon Genetics Europe GmbH). Elektroforeza se odvijala na konstantnom naponu električnog polja 80 V u trajanju od 45 min. Određivanje dužine DNK fragmenata vršeno je poređenjem elektroforetske mobilnosti sa standardima (DNA ladder) (Nippon Genetics Europe GmbH). Nakon elektroforeze, razdvojeni fragmenti DNK na gelu su posmatrani u komori UV transiluminatora (Nippon Genetics Europe GmbH).

Određivanje primarne strukture DNK (sekvenciranje)

Umnoženi DNK fragmenti su prečišćeni pomoću kit-a za prečišćavanje PCR produkata (QIAquick PCR Purification KIT/250 (QIAGEN GmbH, Hilden, Nemačka) i sekvencionirani u oba smera primenom ABI 3730XL Sequencer (Macrogen, Inc., Seul, Koreja) koristeći identične prajmere kao i tokom amplifikacije. Sekvenciranje uzoraka vršeno je u centru za sekvenciranje Microgen sequencing service, Holandija.

Bioinformatička obrada sekvenci i taksonomska identifikacija sojeva

Poravnanje (*alignment*) i sklapanje (*assembling*) sekvenci izvršeno je pomoću Clustal W 2.0 algoritam (Larkin et al., 2007) i MEGA 5 Softver (Tamura et al., 2011). Molekularna identifikacija bakterijskih izolata izvršena je poređenjem dobijenih sekvenci sa sekvencama dostupnim u GenBank bazi podataka (<http://blast.GenBank.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), pomoću BLAST programa (Altschul et al., 1997).

4.7. Ispitivanje uticaja bakterijske inokulacije na parametre germinacije odabranih biljnih vrsta u uslovima različite koncentracije NaCl

U okviru ovog dela istraživanja ispitan je uticaj inokulacije semena odabranim HT PGP sojevima na rast i rani razvoj klijanaca tri useva.

4.7.1. Priprema i inokulacija semena

Za praćenje efekta inokulacije HT PGP bakterijama na rane faze razvoja biljke odabrani su nepatogeni sojevi koji su tokom testova ispoljili višestruka svojstva stimulacije biljnog rasta, bez i sa dodatim NaCl u podlogama. U *in vitro* testovima, ispitan je uticaj ovih bakterija na germinaciju i rani rast klijanaca tri biljne vrste u uslovima različite koncentracije soli. Parametri germinacije inokulisanih semena poređeni su sa parametrima neinokulisanih semena koja su predstavljala kontrolu.

Za testove germinacije korišćena su semena sledećih biljnih vrsta:

Ječam (*Hordeum vulgare* L.) Prestige, Axereal

Pšenica (*Triticum vulgare* L.) Gran Velasco, Poljoprivredni fakultet, Katedra za ekološku mikrobiologiju

Suncokret (*Helianthus annuus* L.) Experto, Singenta

Seme ječma i pšenice je sterilisano 70% etanolom 2 min, isprano destilovanom vodom i potopljeno u 2% rastvor NaOCl u trajanju od 15 min uz mešanje na 180 rpm (GFL 3005, Nemačka). Seme je isprano pet puta destilovanom vodom i prosušeno u laminaru pre tretmana.

Seme suncokreta je sterilisano na sledeći način: 5% NaOCl 10 min, 5% KMnO₄ 10 min, 5% H₂O₂ 10 min, mešanjem na 180 rpm (GFL 3005, Nemačka). Seme je isprano pet puta sterilnom destilovanom vodom i prosušeno u aseptičnim uslovima u laminaru.

Provera sterilnosti izvršena je postavljanjem pet slučajno odabranih sterilisanih semena na HA podlogu uz inkubaciju 24 h/30 °C.

Suspenzija bakterija za inokulaciju pripremljena je u sterilnoj vodovodskoj vodi pomoću svežih kultura gajenih na čvrstoj HA podlozi 24 h/30 °C. Gustina bakterijske suspenzije podešena je na 4 MFU (*McFarland units*) (Den-1B, Biosan, Litvanija) što odgovara brojnosti od 10⁷ CFU/ml. Semena su potopljena u odgovarajuću bakterijsku suspenziju i inokulisana mešanjem na šejkeru 180 rpm/30°C/1h. Bakterijska suspenzija je odlivena, a inokulisana semena su ostavljena 40 min da se prosuše u laminaru pre postavljanja testa klijavosti.

Semena koja su predstavljala kontrolni tretman su tretirana na isti način, s tim što je umesto bakterijske suspenzije korišćena sterilna voda.

4.7.2. Germinacijski testovi

Germinacioni testovi na filter papiru su rađeni prema modifikovanim protokolima koje je propisala ISTA (*International Seed Testing Association*, 2014), pri čemu su korišćena homogena semena bez vidljivih oštećenja.

Svi tretmani (semena inokulisana bakterijama i kontrolna - neinokulisana semena) sadržali su po 900 semena koja su paralelno naklijavana u uslovima tri različite koncentracije NaCl (0, 100 mM i 200 mM NaCl), tako da je za svaku koncentraciju NaCl testirana klijavost 300 semena (podeljenih u tri ponavljanja po 100).

Semena su postavljena u sterilne staklene Petri kutije na dva sloja filter papira (Whatman No 1). Filter papir je navlažen dodavanjem sterilne vodovodske vode, 100 mM i 200 mM rastvora NaCl za postizanje željenih uslova naklijavanja. Petri posude su držane u mraku na sobnoj temperaturi 24 h, nakon čega su iznete na dnevno svetlo i naklijavane u ambijentalnim uslovima održavajući optimalnu količinu vlage za klijanje, dodavanjem rastvora shodno tretmanu. Proklijalim semenom se smatralo seme sa pojavom klice dužine 2 mm. Broj proklijalih semena je beležen svaki dan tokom sedam dana za pšenicu i ječam i osam dana za suncokret. Poslednjeg dana inkubacije, iz svake Petri kutije (predstavlja jedno ponavljanje) odabrano je 30 reprezentativnih klijanaca kojima je izmerena dužina (koren+nadzemni deo) (mm) i masa (g). Nakon sušenja klijanaca na 60 °C /24 h u sušnici (Binder, Nemačka) izmerena je suva masa (g).

Prikupljeni podaci su korišćeni za određivanje parametara germinacije za svaki tretman: procenat germinacije (GP), germinacijski indeks (GI), prosečno vreme germinacije (MGT), vigor I (VI) i II (VII).

Procenat germinacije (GP) predstavlja broj proklijalih u odnosu na ukupan broj semena (ISTA, 2014):
$$GP (\%) = \frac{\text{broj proklijalih semena}}{\text{ukupan broj semena}} \times 100$$

Germinacijski indeks (GI) predstavljen je odnosom proklijalih zrna po danu (Gt) i ukupnog broja dana germinacije (Dt) (Ansari i Ksiksi 2016): $GI = \frac{\sum Gt}{\sum Dt}$

Prosečno vreme germinacije (MGT) predstavljeno je odnosom proklijalih semena po danu (nD) i ukupnog broja proklijalih semena (n) (Iqbal et al. 2016): $MGT = \frac{\sum (nD)}{n}$

Vrednosti Vigor I se dobijaju kao proizvod procenta germinacije (GP) i dužine klijanaca ($V I = \% GP \times \text{dužina klijanaca}$) odnosno procenta germinacije (GP) i suve mase u slučaju Vigor II ($V II = \% GP \times \text{suva masa klijanaca}$) (Iqbal et al., 2016).

4.8. Inkapsulacija odabranih halotolerantnih bakterija

4.8.1. Priprema bakterija za inkapsulaciju

Sveže bakterijske kulture su zasejane u tripton soja bujonu (TSB) (Torlak, Srbija) (4 x 100 ml za svaku bakteriju) i inkubirane 30 °C/130 rpm (Biosan ES – 20, Letonija) tokom 48 h. Nakon inkubacije, 100 ml tečne kulture je prebačeno u 500 ml sveže TSB podloge i inkubirano dodatnih 48h (GFL 3005, Nemačka). Nakon inkubacije, odvojeno je po 20 ml tečnih kultura za početno određivanje brojnosti, dok je ostatak korišćen za inkapsulaciju (oko 2 l tečne kulture po bakteriji).

4.8.2. Procedura inkapsulacije

Na-alginat (Carl Roth, Karlsruhe, Nemačka) je rastvoren (3% w/v) u destilovanoj vodi. Kao rastvor za geliranje je korišćen 3% (w/v) rastvor kalcijum hlorida (Carl Roth, Karlsruhe, Nemačka). U podlogu sa ćelijama je dodato 10% (w/v) skroba (Jabuka d.o.o., Pančevo, Srbija) uz mešanje na magnetnoj mešalici do potpune disperzije skroba. Nakon toga je u suspenziju ćelija i skroba dodat rastvor Na-alginata (suspenzija:Na-alginat=2:1). Dalja procedura je obuhvatala mešanje na magnetnoj mešalici (oko 15 min) nakon čega je odmah izvršena inkapsulacija.

Inkapsulacija ćelija u nosaču na bazi Ca-alginata vršena je pomoću sistema za inkapsulaciju (Slika 4).



Slika 4. Sistem za inkapsulaciju: 1) suspenzija ćelija u nosaču; 2) peristaltička pumpa; 3) dizna za inkapsulaciju; 4) rastvor za geliranje (foto S. Lević).

Suspenzija ćelija u nosaču je uz pomoć peristaltičke pumpe dovođena do dizne za inkapsulaciju. Dizna za inkapsulaciju je napravljena od plastike i sa donje strane ima osam otvora prečnika 3 mm od mesinga kroz koje je suspenzija ukapavana u rastvor za geliranje. Protok rastvora za inkapsulaciju (60 ml/min) je regulisan pomoću peristaltičke pumpe MasterFlex® model No. 7523-27 (Cole-Parmer, Barrington, SAD).

Nakon ukapavanja u rastvor za geliranje, dolazi do izmene jona, pri čemu se Na^+ joni iz Na-alginata zamenjuju sa Ca^{2+} . Na ovaj način se formira u vodi nerastvorni Ca-alginat (Donati i Paoletti, 2009). Procedura geliranja se odvija postepeno tj. od površine kapi koja je dospela u rastvor za geliranje, pri čemu se izmena nastavlja ka centru kapi difuzijom rastvora za geliranje. Vreme geliranja zavisi od veličine čestica, koncentracije nosača i rastvora za geliranje. U ovom radu je primenjeno geliranje u trajanju od jednog sata, uz povremeno mešanje čestica. Nakon perioda geliranja, čestice su odvajane filtracijom (na filter papiru) iz rastvora za geliranje, ispirane destilovanom vodom (potapane oko 30 min, dve izmene vode za ispiranje) u istoj zapremini kao i rastvor za geliranje.

Dobijene čestice su dalje odvajene od vode filtracijom pomoću filter papira i dalje sušene prema proceduri opisanoj ispod. Uzorci vlažnih inkapsulata su za potrebe analiza čuvani u destilovanoj vodi na 4 °C.

4.8.3. Sušenje inkapsulata

Sušenje inkapsulata je obavljeno na dva načina:

1. Sušenje u sušnici na temperaturi od 35 °C tokom najmanje 72h, bez prinudne cirkulacije vazduha u sušnici. Za potrebe ovog načina sušenja, sveže pripremljeni inkapsulati su nakon pranja i ceđenja viška vode, raspoređeni na tacne za sušenje u sloju ne većem od 1-1,5 cm;
2. Sušenje postupkom liofilizacije je takođe rađeno sa svežim inkapsulatima, s tim što su inkapsulati raspoređeni u staklene Petri šolje u sloju visine do 1 cm a zatim su zamrznuti na približno -80 °C tokom 24 h. Nakon toga, zamrznuti uzorci su sušeni u liofilizatoru Alpha 1-4 LSC plus (Christ, Nemačka) pod sledećim uslovima: 10 h na -20 °C i 0,1 mbar, 5 h na -10 °C i 0,1m bar, 5 h na 0 °C i 0,1 mbar, 4 h na 35 °C i 0,1 mbar.

4.8.4. Čuvanje inkapsulata

Osušeni uzorci inkapsulata su čuvani na sobnoj temperaturi i u frižideru, u hermetički zatvorenoj (vakuumiranoj) ambalaži. Ovaj odabir načina čuvanja je izvršen u cilju ispitivanja uticaja postupaka čuvanja inkapsulata na broj živih ćelija.

4.8.5. Svetlosna mikroskopija

Analiza morfoloških karakteristika dobijenih inkapsulata vršena je pomoću Stereomicroscope Nikon SMZ18 (Japan). Kao podloga za snimanje uzeta je staklena pločica sa utisnutom razmerom od 2 mm.

4.8.6. Analiza veličine inkapsulata

Veličina inkapsulata je određena korišćenjem Computer vision system-a (Tomasević et al., 2019) i programa ImageJ. Computer vision system je korišćen za dobijanje fotografija inkapsulata, dok je pomoću programa ImageJ određena pojedinačna veličina inkapsulata. Za analizu veličine inkapsulata uzeto je po 30 inkapsulata i određena je njihova veličina (po najdužoj osi). Veličina inkapsulata (u mm) je prikazana kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija. Za ovu analizu korišćen je program PAST (Hammer et al., 2001).

4.8.7. Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM)

Detaljnija analiza morfologije uzoraka je vršena korišćenjem skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM) na uređaju JEOL JSM-6390LV (Japan), uz prethodno nanošenje zlata na površinu uzoraka pomoću uređaja BALTEC SCD 005. Ovom analizom obuhvaćeni su samo suvi uzorci.

4.8.8. Merenje aktivnosti vode (a_w vrednost) inkapsulata

Merenje a_w vrednost suvog inkapsulata je vršeno pomoću uređaja LabSwift- a_w (Novasina AG, Švajcarska). Uređaj je pre merenja kalibrisan pomoću odgovarajućih standarda.

4.8.9. Određivanje broja ćelija u inkapsulatima

Brojnost bakterija je proverena nakon sušenja inkapsulata, sedmi dan od inkapsulacije i kasnije na svaka tri meseca tokom godinu dana. Inkapsulati su najpre usitnjeni u avanu sa tučkom, nakon čega je 1 g materijala preneto u 20 ml 1% (w/v) Na-citrata i rastvoreno mešanjem na vorteksu (oko 1 h).

Brojnost bakterija je određena pripremom serije razblaženja u fiziološkom rastvoru (1 ml rastvorenog inkapsulata:9 ml fiziološkog rastvora) i zasejavanjem 0,5 ml suspenzije u TSA (Torlak, Srbija) u tri ponavljanja uz inkubaciju na 30 °C °C/72 h. Brojnost bakterija je izražena kao CFU/1 g suvog inkapsulata.

4.9. Metode statističke obrade podataka

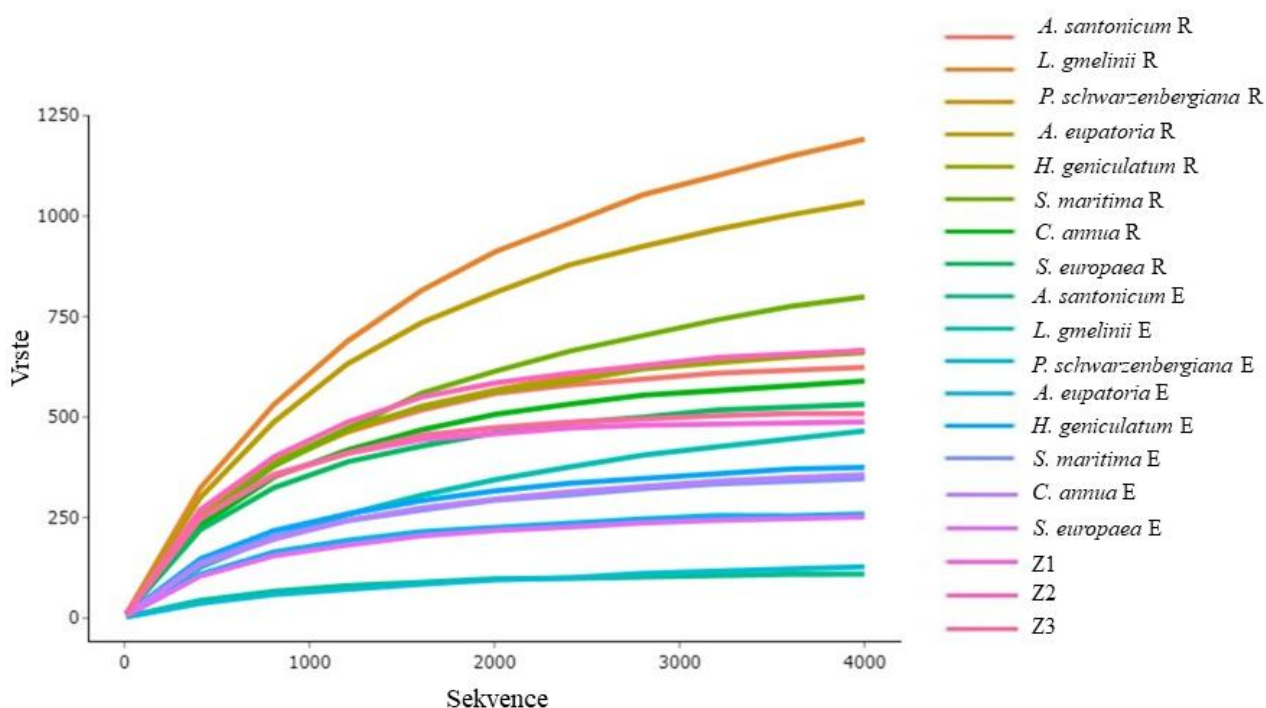
Za utvrđivanje statističke značajnosti razlika u produkciji pigmenata odabranih izolata, korišćen je Kruskal-Wallis i post hoc test Dunn-Bonferroni. Jednofaktorska analiza varijanse (One way ANOVA) je sprovedena u cilju testiranja jednakosti aritmetičkih sredina ispitivanih grupa u testovima klijavosti. Za naknadna poređenja rezultata korišćen je Dankanov post hoc test. Za ispitivanje statističke značajnosti uticaja različitih temperatura čuvanja na brojnost inkapsulisanih bakterija tokom vremena korišćen je t test. U svim testiranjima korišćen je 5%-ni nivo značajnosti ($p < 0,05$). Statistička obrada podataka obavljena je u softveru SPSS 26.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL).

5. REZULTATI

5.1. Diverzitet bakterijskih zajednica u zaslanjenom zemljištu

Diverzitet bakterijskih zajednica u uzorcima rizosfere, endorizosfere i zemljišta određen je sekvenciranjem DNK amplikona koji pokrivaju V3 i V4 hipervarijabilne regione 16S rRNK gena na Illumina® MiSeq™ platformi.

Bogatstvo vrsta ili ukupan broj bakterijskih vrsta prisutan u mikrobiomu (eng. *richness*) predstavljeno je indeksima *Observed species* i Chao1. Pored bogatstva vrsta, korišćeni su Fisher alfa, Shannon, Simpson i recipročni Simpson-ov indeksi diverziteta da opišu meru zastupljenosti različitih bakterijskih vrsta unutar uzorka (koliko su vrste ravnomerno raspoređene u uzorku, eng. *eveness*). Filogenetska raznolikost u uzorcima predstavljena je *PD whole tree* indeksom diverziteta. Diverzitet zajednica između uzoraka (beta diverzitet) na nivou roda određen je i vizuelizovan pomoću PCoA analize glavnih koordinata.



Slika 5: Kriva rarefrakcije alfa diverziteta za dobijene vrste u ispitivanim uzorcima (*Observed species* matrica). R - rizosfera; E - endorizosfera; Z - zemljište (Z1 mesto uzorkovanja *A. santonicum*; Z2 mesto uzorkovanja sukulenčnih biljaka i Z3 mesto uzorkovanja *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*)).

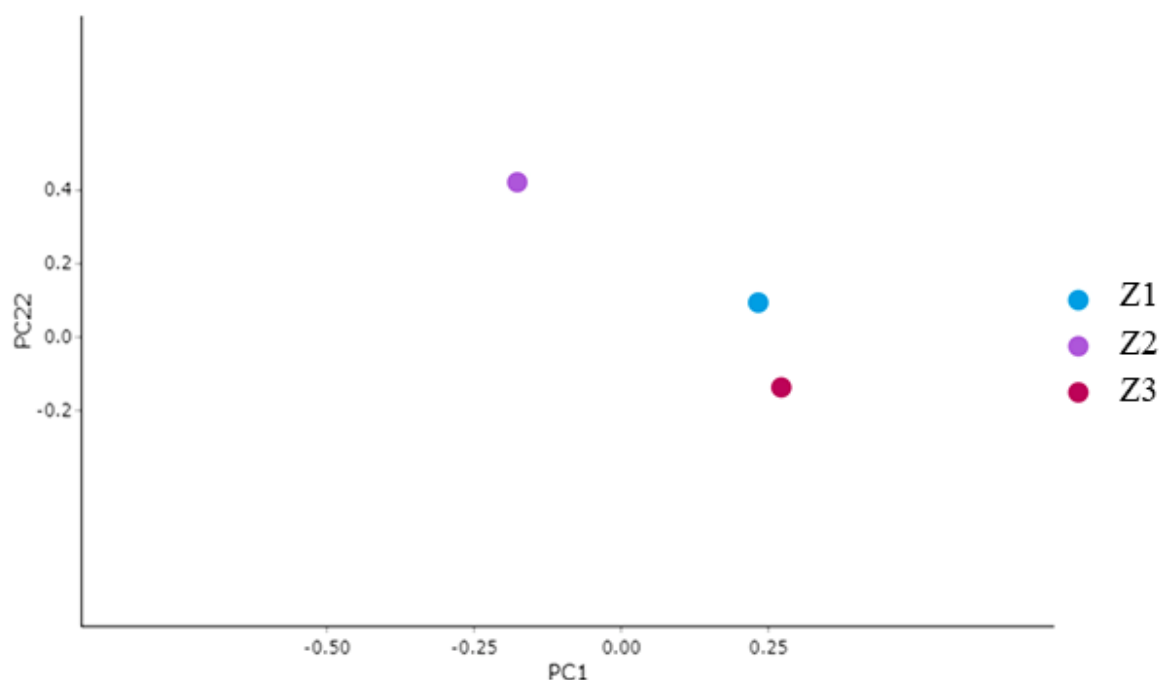
Rarefrakciona kriva je nakon početnog porasta kod svih uzoraka dostigla plato (Slika 5), što ukazuje da je dubina sekvencioniranja bila dovoljna da obuhvati taksonomski diverzitet u uzorcima. Kod uzoraka endorizosfere i zemljišta rarefrakciona kriva brzo dostiže plato što u kontekstu odabrane matrice (*Observed species*) ukazuje na manji broj vrsta u odnosu na rizosferne uzorke kod kojih se plato postiže kasnije usled većeg bogatstva vrsta.

5.1.1. Diverzitet zemljišnih bakterija

Najveće bogatstvo vrsta na osnovu oba korišćena indeksa alfa diverziteta (*Observed species* i Chao 1) detektovano je u uzorku zemljišta Z2 (Tabela 7), sa koga su uzorkovane sukulente biljke *S. maritima*. Isti uzorak zemljišta ima najveće vrednosti svih ostalih indeksa alfa diverziteta koji govore o distribuciji vrsta, homogenosti i filogenetskom profilu zajednice. Najniže vrednosti svih posmatranih parametara alfa diverziteta su zabeležene u uzorku zemljišta Z1, uzetom sa mesta na kome su uzorkovane *A. santonicum*.

Tabela 7: Indeksi alfa diverziteta bakterijskih zajednica zemljišta

Uzorak	Observed species	Chao1	Fisher alfa	PD whole tree	Shannon	Simpson	Simpson reciprocal
Z1	488,30	491,24	145,89	45,52	8,55	0,996	276,43
Z2	664,80	698,40	227,51	56,52	8,83	0,997	294,02
Z3	508,90	514,53	154,64	48,62	8,50	0,996	237,16

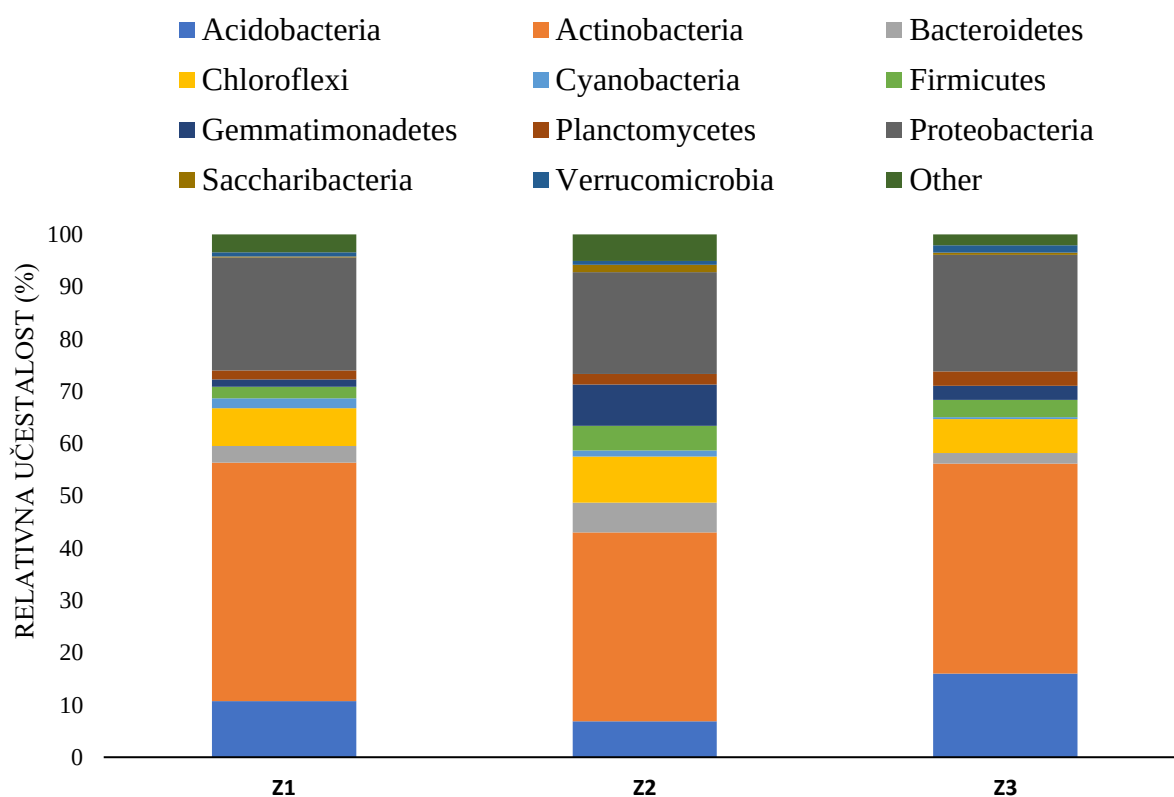


Slika 6: PCoA dijagram beta diverziteta bakterijskih zajednica u uzorcima zemljišta: Z1 (mesto uzorkovanja *A. santonicum*), Z2 (mesto uzorkovanja sukulenih biljaka) i Z3 (mesto uzorkovanja *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*)). Svaka tačka na slici predstavlja mikrobiološki profil zajednice na nivou roda. Uzorci sličnijeg profila zajednice su bliže pozicionirani jedan drugom.

Analiza beta diverziteta pokazuje da su bakterijske zajednice u uzorcima zemljišta međusobno različite, pri čemu se zemljište sa koga su uzorkovane sukulente (Z2) posebno izdvaja (Slika 6). Bakterijske zajednice u zemljištu gde su uzorkovane *A. santonicum* (Z1) i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (Z3) su bliže pozicionirane što ukazuje na veću međusobnu sličnost.

5.1.1.1. Taksonomski sastav zemljišnih bakterijskih zajednica

U uzorcima zemljišta zabeleženo je ukupno 17 razdela bakterija (Prilog 9.1, Tabela P1) uključujući jedan NA (neidentifikovan) razdeo. U zemljištu uzorkovanom u neposrednoj blizini sukulenitnih biljaka (Z2) zabeleženo je 16 razdela dok je u ostala dva uzorka zemljišta prisutno po 14 razdela bakterija. Dominantni razdeo u svim uzorcima je Actinobacteria, koje praćene Proteobacteria okvirno čine 55,6% (Z2), 62,4% (Z3) i 67,2% (Z1) mikrobioma zemljišta. Treći istaknuti razdeo u uzorcima zemljišta je Acidobacteria sa značajnim udelom od 16% u zemljištu na kome raste *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (Z3) zatim 10,7% u zemljištu na kome raste *A. santonicum* (Z1) i najnižom učestalosti u uzorku zemljišta naseljenog sukulenta 6,9% (Z2). Predstavnici razdela Chloroflexi imaju značajnu učestalost u uzorcima zemljišta, koja prevazilazi udeo Firmicutes (Slika 7). Ostali istaknuti razdeli sa zastupljenošću od >1% u zemljištu su Bacteroidetes i Gemmatimonadetes. Najveći broj subdominantnih razdela (razdela sa relativnom zastupljenošću < 1%) je u uzorku zemljišta na kome su rasle sukulente biljke Z2.



Slika 7. Relativna učestalost najistaknutijih bakterijskih razdela u uzorcima zemljišta Z1 (mesto uzorkovanja *A. santonicum*), Z2 (mesto uzorkovanja sukulenitnih biljaka) i Z3 (mesto uzorkovanja *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*)) (>1% u najmanje jednom uzorku).

Dominantne klase razdela Actinobacteria u uzorcima Z1 i Z3 su Actinobacteria (14,5 i 21,32%) i Thermoleophilia (16,92 i 13,11% redom) (Prilog 9.1, Tabela P1). Dominantne klase Actinobacteria u zemljištu na kome su rasle sukulente (Z2) su Acidimicrobia i Nitriliruptoria. Među proteobakterijama, u svim analiziranim uzorcima zemljišta dominiraju Alphaproteobacteria (11-15,92%). U okviru razdela Firmicutes najzastupljenija je klasa Bacilli dok je klasa Clostridia zastupljena u uzorcima Z2 i Z3 (Prilog 9.1, Tabela P1). Ostale istaknute klase su Acidobacteria (13,4% u Z3), Gemmatimonadetes i Cytophagia (7,9% i 4,6 % u Z2).

Tabela 8: Relativna učestalost (%) bakterijskih familija u zemljišnim mikrobiomima (>1% u najmanje jednom uzorku). (/) retke (<0,1%) ili nedetektovane familije. (NA)-neidentifikovane familije (dopunjeno sa prvom višom identifikovanom taksonomskom kategorijom). Povećanje u relativnoj učestalosti pojedinačnih familija je predstavljeno gradijentom od bele ka zelenoj boji pri čemu su najtamnijim nijansama zelene istaknute najviše vrednosti.

Razdeo	Familija	Z1	Z2	Z3
Acidobacteria	NA (Acidobacteria)	9,71	3,20	13,11
	NA (Holophagae)	1,00	3,20	2,60
Actinobacteria	Acidimicrobiaceae	3,20	2,00	1,50
	NA (Acidimicrobiales)	3,80	10,50	1,70
	Mycobacteriaceae	0,50	0,10	1,40
	Geodermatophilaceae	0,70	0,30	1,80
	Intrasporangiaceae	0,90	1,60	0,60
	Microbacteriaceae	1,40	0,30	0,50
	Micromonosporaceae	1,20	0,60	2,90
	Nocardiodaceae	3,00	1,40	3,70
	Propionibacteriaceae	1,60	0,50	0,30
	Pseudonocardaceae	1,70	0,50	3,20
	Streptomyetaceae	1,10	0,80	1,40
	NA (Actinobacteria)	3,50	0,40	0,80
	Euzebyaceae	0,60	3,90	0,10
	Nitriliruptoraceae	0,20	7,20	/
	Rubrobacteriaceae	2,30	0,70	1,50
	Gaiellaceae	3,30	0,20	0,90
	NA (Gaiellales)	6,01	0,40	1,50
	NA (Solirubrobacterales)	5,81	1,40	6,11
	Solirubrobacteraceae	1,60	/	3,60
Bacteroidetes	Cytophagaceae	1,50	1,30	0,70
	Flammeovirgaceae	/	1,30	/
	Chitinophagaceae	0,70	0,30	1,00
Chloroflexi	Anaerolineaceae	0,10	2,70	0,70
	NA (Chloroflexi)	4,60	2,90	3,40
	NA (Thermomicrobia)	2,10	1,10	1,00
Cyanobacteria	FamilyI	1,80	1,20	0,30
Firmicutes	Bacillaceae	1,40	2,30	1,80
Gemmatimonadetes	Gemmatimonadaceae	0,80	0,80	2,40
	NA(Gemmatimonadetes)	0,60	7,10	0,40
Planctomycetes	Planctomycetaceae	1,40	1,60	2,20
Proteobacteria	Bradyrhizobiaceae	1,00	0,60	1,30
	Hyphomicrobiaceae	0,90	0,40	1,30
	Methylobacteriaceae	1,50	0,30	1,30
	Rhodobiaceae	1,50	1,00	0,60
	Xanthobacteraceae	1,20	/	0,90
	Rhodobacteraceae	0,70	2,30	0,10
	NA(Rhodospirillales)	1,70	1,70	1,40
	Rhodospirillaceae	1,00	1,40	1,10
	NA(Sphingomonadales)	1,30	/	2,20
	Sphingomonadaceae	0,90	0,50	2,80
	Comamonadaceae	0,90	0,50	1,50
	NA (Xanthomonadales)	1,20	1,40	0,70
	Saccharibacteria	0,20	1,40	0,40
	NA(Saccharibacteria)	0,20	1,40	0,40

Najveće bogatstvo bakterijskih familija zabeleženo je u uzorku Z2 (>120) a najmanje u uzorku Z1 (99) (Prilog 9.1, Tabela P3). Međutim, ukoliko se kao kriterijum uzme relativna učestalost, najveći broj familija >1% detektovan je u uzorku Z1 (30) a najmanji u Z2 (24) (Tabela 8). Neidentifikovana familija razdela Acidobacteria, NA (Acidobacteria) ima veliki udeo u uzorcima Z1 i Z3 (9,7% i 13,11%) (Tabela 8). Od familija razdela Actinobacteria Nocardiodaceae je istaknuta u sva tri uzorka,

Micromonosporaceae, Pseudonocardiaceae i Streptomycetaceae u uzorcima Z1 i Z3 dok je u uzorku Z2 njihov udeo zanemarljiv. U uzorku Z2, neidentifikovana familija NA (Acidomicrobiales) je dominantna sa 10,5% učestalosti praćena Nitriliruptoraceae i Euzebyaceae (7,2 i 3,9% redom) i NA (Gemmatimonadetes) sa 7,1%. Zemljište Z1 se izdvaja značajnim udelom neidentifikovanih familija (Tabela 8).

Tabela 9: Relativna učestalost (%) bakterijskih rodova u zemljišnim mikrobiomima (>1% u najmanje jednom uzorku). (/) retki (<0,1%) ili nedetektovani rodovi. (NA)-neidentifikovani rodovi dopunjeni prvom višom identifikovanom taksonomskom kategorijom. Povećanje u relativnoj učestalosti pojedinačnih rodova je predstavljeno gradijentom od bele ka zelenoj boji pri čemu su najtamnijim nijansama zelene istaknute najviše vrednosti.

Razdeo/Familija	Rod	Z1	Z2	Z3
Acidobacteria/(NA)	Blastocatella	1,40	0,40	2,10
	Bryobacter	0,90	0,10	1,40
	NA (Acidobacteria)	7,21	2,80	9,41
	NA (Holophagae)	1,00	3,20	2,60
Acidimicrobiaceae	Illumatobacter	0,80	1,60	0,40
	NA (Acidimicrobiaceae)	2,40	0,40	1,10
Actinobacteria/ NA	NA (Acidimicrobiales)	3,80	10,40	1,60
Mycobacteriaceae	Mycobacterium	0,50	0,10	1,40
Geodermatophilaceae	Blastococcus	0,40	0,10	1,60
Micromonosporaceae	Actinoplanes	0,30	0,10	1,70
Nocardiodaceae	Nocardioides	2,20	1,30	2,50
Propionibacteriaceae	Microlunatus	1,00	/	0,20
Pseudonocardiaceae	Pseudonocardia	1,10	0,20	2,20
Streptomycetaceae	Streptomyces	1,10	0,80	1,40
Actinobacteria/NA	NA (Actinobacteria)	3,50	0,40	0,80
Euzebyaceae	Euzebya	0,60	3,90	0,10
Nitriliruptoraceae	Nitriliruptor	0,20	7,20	/
Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	2,30	0,70	1,50
Gaiellaceae	Gaiella	3,30	0,20	0,90
	NA (Gaiellales)	6,01	0,40	1,50
	NA (Solirubrobacterales)	5,71	1,40	5,81
Solirubrobacteraceae	Solirubrobacter	1,60	/	3,60
	Anaerolinea	/	1,20	/
	NA (Anaerolineaceae)	0,10	1,50	0,70
Chloroflexi/NA	NA (Chloroflexi)	4,60	2,90	3,40
	NA (Thermomicrobia)	2,10	1,10	1,00
Bacillaceae	Bacillus	1,40	1,30	1,80
Gemmatimonadaceae	NA (Gemmatimonadaceae)	0,60	0,40	1,50
Gemmatimonadetes/NA	NA (Gemmatimonadetes)	0,60	7,10	0,40
Planctomycetaceae	NA (Planctomycetaceae)	0,70	1,00	1,50
Bradyrhizobiaceae	Afipia-Bradyrhizobium	0,70	/	1,10
Rhodobiaceae	NA (Rhodobacteriaceae)	1,40	0,40	0,60
Xanthobacteraceae	Variibacter	1,00	/	0,60
Rhodobacteriaceae	NA (Rhodobacteraceae)	0,50	1,50	0,10
Proteobacteria//NA	NA (Rhodospirillales)	1,20	1,60	0,80
Rhodospirillaceae	Skermanella	0,70	0,30	1,10
Proteobacteria/NA	NA (Sphingomonadales)	1,30	/	2,20
Sphingomonadaceae	Sphingomonas	0,70	0,30	2,80
Proteobacteria/NA	NA (Xanthomonadales)	0,50	1,40	0,10
Saccharibacteria /NA	NA (Saccharibacteria)	0,20	1,40	0,30

Veći broj rodova sa relativnom zastupljenošću >1% je u uzorcima Z3 (25) i Z1 (22) dok je u uzorku Z2 zabeleženo 19. U sva tri uzorka zemljišta veliki udeo zauzimaju neidentifikovani rodovi razdela Acidobacteria NA (Acidobacteria) i NA (Holophagae), zajedno sa rodom *Blastocatella* familije Acidobacteria u uzorcima Z1 i Z3 (Tabela 9). U svim uzorcima zemljišta, ističe se *Nocardioide* kao i neidentifikovani rod razdela Actinobacteria NA (Acidimicrobiales) koji je u uzorku Z2 zastupljen sa 10,4%. Zastupljeniji rodovi aktinobakterija u zemljištu na kome je uzorkovana *A. santonicum* (Z1) su: NA (Gaiellales) i NA (Solirubrobacterales), *Gaiella* i NA (Actinobacteria) (Tabela 9). Dominantni rodovi aktinobakterija u zemljištu sa koga su uzorkovane sukulente su *Nitriliruptor* i *Euzebya* (≈10% mikrobioma), dok su u uzorku zemljišta na kome je rastao *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) istaknuti NA (Solirubrobacterales), *Solirubrobacter* (ukupno ≈9% mikrobioma) i *Sphingomonas* (2.8%). Ostali rodovi sa značajnim udelom u zemljištu su: NA (Chloroflexi) (2,9-4,6%), NA (Gemmatimonadetes) (7% u Z2) i *Sphingomonas* u uzorku (2,8% u Z3). Predstavnici roda *Bacillus* su zastupljeni u svim uzorcima zemljišta sa udelom od 1,3-1,8% (Tabela 9).

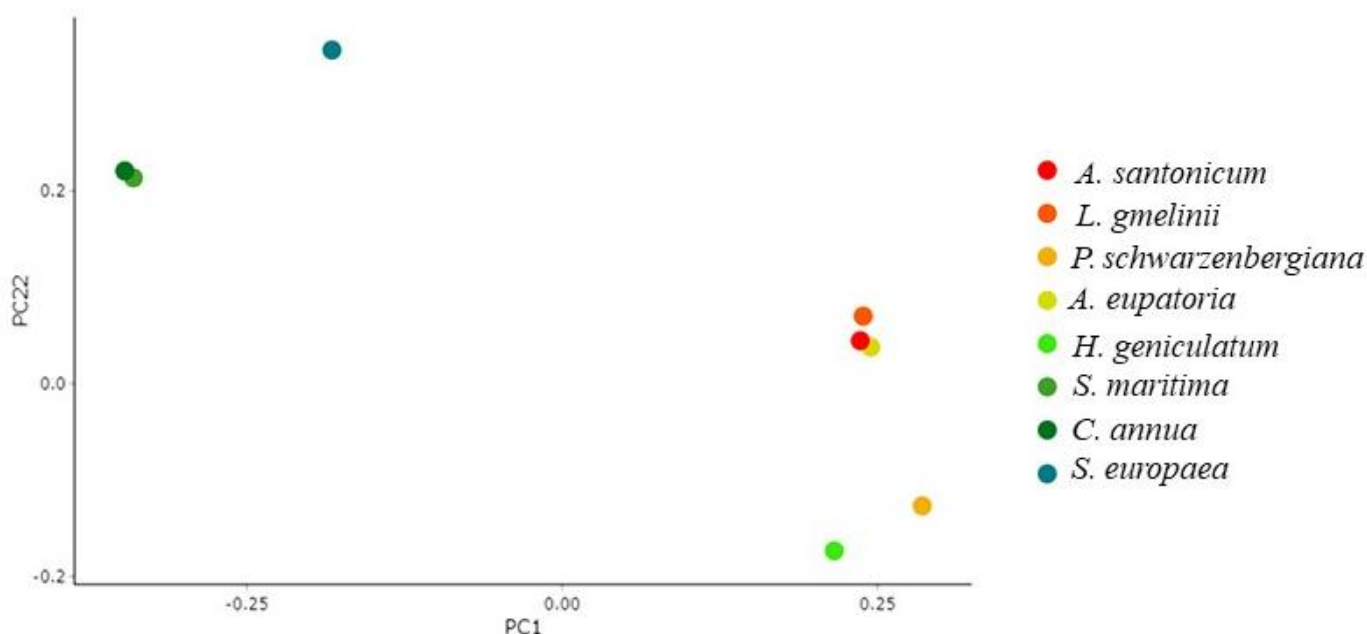
U uzorcima zemljišta, detektovan je najmanji broj sekvenci koje odgovaraju nivou vrste od kojih su *Ilumatobacter* sp4235 i NA *Streptomyces* prisutne u sva tri uzorka (Prilog 9.1, Tabela P4). Najveći broj vrsta je neidentifikovan, sa određenom taksonomskom pozicijom samo do nivoa familije ili reda. Za devet vrsta je određena bliža taksonomska pripadnost: *Microclunatus* sp 7741 (1% u Z1), *Ilumatobacter* sp 4235 (1,1% u Z2), *Nitriliruptor alcaliphilus* (1,5% u Z2), *Nitriliruptor* sp 10652 (1,1 % u Z2), *Blastococcus* sp 6057 (1,1 % u Z3), *Streptomyces* NA (1,4% u Z3), *Rubrobacter* sp 10748 (1% u Z3), *Afipia Bradyrhizobium* NA (1,1% u Z3). *Blastocatella* sp 3047 (1,1% u Z3) (Prilog 9.1, Tabela P4).

5.1.2. Diverzitet rizosfernih bakterija

Najveće bogatstvo vrsta (*Observed species* i Chao 1 indeks) zabeleženo je u rizosferi *L. gmelinii* i *A. eupatoria* a najmanje u rizosferi *C. annua* i *S. europaea*. Zajednice rizosfere *L. gmelinii* i *A. eupatoria* ističu se po filogenetskoj raznovrsnosti (PD whole tree), kao i po svim indeksima diverziteta koji uključuju i distribuciju ne samo bogatstvo vrsta (Shannon, Simpson, recipročni Simpson-ov i Fisher alfa). Među sukulentskim biljkama, u rizosferi *S. maritima* zabeleženo je najveće bogatstvo vrsta kao i svi ostali indeksi diverziteta. Rizosfera *S. europaea* pokazuje najmanje bogatstvo vrsta kao i najniže indekse diverziteta među svim uzorcima (Tabela 10).

Tabela 10: Indeksi alfa diverziteta bakterijskih zajednica rizosfere analiziranih biljaka

Uzorak	Observed species	Chao1	PD whole tree	Fisher alfa	Shannon	Simpson	Simpson reciprocal
<i>A. santonicum</i>	623,80	642,33	54,44	207,18	8,65	0,995	206,30
<i>L. gmelinii</i>	1191,80	1407,29	76,53	574,42	9,72	0,998	566,78
<i>P. schwarzenbergiana</i>	666,10	699,73	54,45	228,16	8,57	0,994	168,24
<i>A. eupatoria</i>	1035,10	1193,76	59,01	452,89	9,45	0,998	450,20
<i>H. geniculatum</i>	660,20	699,63	48,41	225,18	8,62	0,995	186,27
<i>S. maritima</i>	798,60	979,96	57,91	299,92	8,52	0,994	159,81
<i>C. annua</i>	589,70	622,93	52,36	190,92	8,34	0,994	160,52
<i>S. europaea</i>	531,60	555,58	48,44	164,52	8,19	0,994	158,89



Slika 8: PCoA dijagram beta diverziteta rizosfernih bakterijskih zajednica. Svaka tačka na slici predstavlja mikrobiološki profil zajednice na nivou roda. Uzorci sličnijeg profila zajednice su bliže pozicionirani jedan drugom.

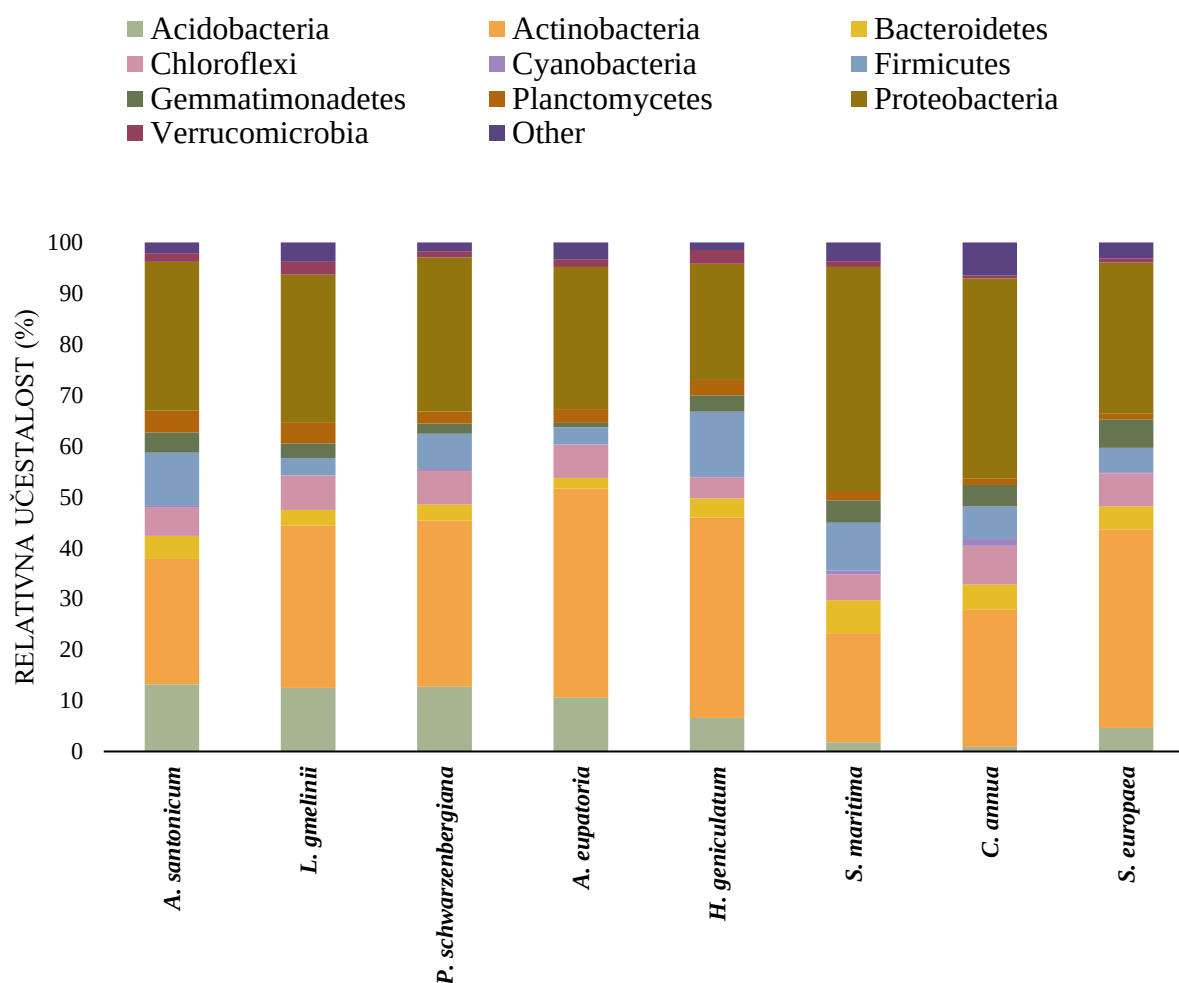
PCoA analiza beta diverziteta rizosfere pokazuje da su mikrobiomi *C. annua* i *S. maritima* blisko pozicionirani što ukazuje na sličnost celokupne zajednice (Slika 8). Mikrobiom *S. europaea* je najudaljeniji od ostalih, kako sukulenitnih tako i svih ostalih biljaka. Blisko su pozicionirane zajednice rizosfere biljaka *A. santonicum*, *L. gmelinii* i *A. eupatoria*. Rezultati PCoA analize pokazuje da se rizosferne zajednice *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i *P. schwarzenbergiana* razlikuju kako međusobno tako i od rizosfernih zajednica ostalih biljaka.

5.1.2.1. Taksonomski sastav rizosfernih bakterijskih zajednica

U uzorcima rizosfere analiziranih biljaka zabeleženo je ukupno 22 bakterijska razdela uključujući jedan NA (<1%) (Prilog 9.1, Tabela P5). Najveći broj razdela zabeležen je u rizosferi *L. gmelinii* (18) i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (17). Dominantni razdeli u rizosferi su Proteobacteria i Actinobacteria koje zajedno čine od 54% mikrobioma kod *A. santonicum* do ≈70% kod *A. eupatoria* (Slika 9). Actinobacteria su najzastupljenije u rizosferi *A. eupatoria* (41,14%) i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (39,34%) dok su u rizosferi sukulenitnih *S. maritima* i *C. annua* najslabije zastupljene (21,42% i 26,93%). Rizosfera sukulenitne *S. europaea* se razlikuje od ostalih po velikom udelu Actinobacteria (38,94%). Proteobacteria su dominantni razdeli u rizosferi sukulenitnih *S. maritima* i *C. annua* (44% i 39,24%) dok najmanji udeo imaju kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) sa 22,8% (Prilog 9.1, Tabela P5). Acidobacteria i Firmicutes su razdeli koji se ističu po svom udelu u rizosferi. Acidobacteria imaju značajan udeo u rizosfernoj zajednici *A. santonicum* (13,15%), *L. gmelinii* i *P. schwarzenbergiana* (≈12%), *A. eupatoria* (10,5%) i nižu učestalost kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (6,61%). Učestalost Acidobacteria u rizosferi sukulenitnih biljaka je niska, osim kod *S. europaea* gde iznosi 4,6%.

Udeo razdela Firmicutes u rizosfernim zajednicama varira (Slika 9). Najveća relativna učestalost zabeležena je u rizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (12,8%) i *A. santonicum* (10,34%) dok su

najmanje zastupljene u uzorcima rizosfere *L. gmelinii* i *A. eupatoria* ($\approx 3\%$). Ostali istaknuti rizosferni razdeli su: Bacteroidetes (najzastupljeniji kod sukulentnih biljaka 5-6,5%), Chloroflexi (4-7,6%), Planctomycetes (zastupljeniji kod nesukulentnih biljaka 2,3-4,3%). Predstavници Gemmatimonadetes su detektovani u svim uzorcima rizosfere (sa istaknutijim udelom u rizosferi sukulenata, 4,2-5,6% kod *S. europaea*) kao i Verrucomicrobia (maksimalno 2,7% kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*)). Razdeo Cyanobacteria ima zanemarljiv udeo u svim uzorcima, izuzev u rizosferi *C. annua* gde je zastupljen $>1\%$. Razdeli Chlamydiae, Fibrobacteres, Fibrobacteres, Hydrogenodetes, Nitrospirae i Saccaribacteria su prisutni kao subdominantni razdeli ($<1\%$) u svim ili u većini uzoraka (Prilog 9.1, Tabela P5). Najveći broj subdominantnih razdela zabeležen je kod *L. gmelinii* (devet), *A. eupatoria* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (osam), dok je razdeo Deinococcus-Thermus detektovan isključivo u rizosferi sukulentnih biljaka (Prilog 9.1, Tabela P5).



Slika 9. Relativna učestalost najistaknutijih bakterijskih razdela u uzorcima rizosfere analiziranih biljaka ($>1\%$ u najmanje jednom uzorku)

Dominantne klase Proteobacteria u svim uzorcima rizosfere su Alphaproteobacteria i Gammaproteobacteria (Prilog 9.1, Tabela P5). Predstavnici Alphaproterobacteria imaju značajan udeo u zajednicama rizosfere svih uzorka, od $\approx 14\%$ kod *A. eupatoria* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) do 18,47% kod *A. santonicum*. Učestalost Gammaproteobacteria najniža je u rizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (2,5%) dok su kod sukulentne *S. maritima* dominantna klasa sa udelom od 20%. Istaknut udeo Betaproteobacteria i Deltaproteobacteria je u uzorku *C. annua* (10,41% i 5%). Iz razdela Actinobacteria, najzastupljenija je klasa Actinobacteria koja čini više od 20% rizosfernih

mikrobioma *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i *P. schwarzenbergiana* (Prilog 9.1, Tabela P5). Klasa Thermoleophilia ističe se u uzorcima rizosfere nesukulentnih biljaka, dok je Nitriliruptoria značajnije zastupljena u uzorcima rizosfere sukulentnih biljaka (15,5% *C. annua*). Od razdela Acidobacteria, klasa Acidobacteria ima značajan udeo u rizosferi nesukulentnih biljaka (11,8% *A. santonicum*) dok su Acidimicrobia dominantno zastupljene kod *S. europaea* (11,4%). U okviru razdela Firmicutes, Bacilli ima značajan udeo u svim uzorcima rizosfere, sa dominacijom kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (12%) i *A. santonicum* (9,5%), dok je Clostridia zastupljena sa >1% u uzorcima rizosfere sukulentnih biljaka i *P. schwarzenbergiana* (Prilog 9.1, Tabela P5).

Tabela 11: Relativna učestalost (%) bakterijskih familija u rizosfernim mikrobiomima (>1% u najmanje jednom uzorku). (/) retke (<0,1%) ili nedetektovane familije. (NA) - neidentifikovane familije (dopunjeno sa prvom višom identifikovanom taksonomskom kategorijom). Povećanje u relativnoj učestalosti pojedinačnih familija je predstavljeno gradijentom od bele ka zelenoj boji, pri čemu su najtamnijim nijansama zelene istaknute najviše vrednosti.

Razdeo	Familija	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwarzenbergiana</i>	<i>A. eupatori</i>	<i>H. genicula</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
Acidobacteria	NA (Acidobacteria)	11,85	10,91	11,14	9,71	5,51	1,40	0,70	3,90
	NA (Holophagae)	1,20	1,50	1,61	0,80	0,60	0,40	0,20	0,70
Actinobacteria	Acidimicrobiaceae	0,60	1,80	0,80	2,40	0,70	2,10	1,70	1,00
	NA (Acidimicrobiales)	1,51	4,00	1,31	3,40	0,60	4,70	3,70	10,21
	Frankiaceae	/	/	/	/	1,10	/	/	/
	Intrasporangiaceae	0,20	0,30	1,00	0,50	1,20	0,70	1,70	1,10
	Microbacteriaceae	0,60	0,50	1,20	1,90	0,80	0,10	0,10	0,40
	Micrococcaceae	2,61	1,60	6,02	0,90	2,30	0,10	0,30	1,60
	Micromonosporaceae	1,10	1,00	1,10	0,60	0,60	0,20	0,30	0,60
	Nocardiodaceae	2,91	2,50	4,92	3,80	5,91	0,50	0,20	4,90
	Propionibacteriaceae	1,00	1,20	0,70	1,00	0,30	1,40	0,50	1,30
	Pseudonocardaceae	1,41	1,50	1,61	1,00	4,10	0,10	/	0,30
	Streptomycetaceae	1,51	1,20	1,91	1,90	5,31	0,40	0,20	1,30
	NA (Actinobacteria)	1,00	1,70	0,60	3,20	0,10	0,50	0,10	0,20
	Euzebyaceae	0,60	0,50	0,30	/	/	2,10	2,90	4,10
	Nitriliruptoraceae	/	0,20	/	/	/	6,11	12,61	3,90
	Rubrobacteriaceae	2,71	3,70	1,81	1,20	0,40	/	/	1,00
	Gaiellaceae	0,70	1,00	0,60	3,60	0,50	/	/	/
	NA (Gaiellales)	0,50	1,20	0,90	5,61	2,20	0,10	0,10	0,20
	NA (Solirubrobacterales)	1,51	3,90	2,41	5,51	6,01	0,50	0,40	1,70
	Patulibacteraceae	/	0,10	0,20	0,10	1,10	/	0,10	0,10
	Solirubrobacteraceae	1,00	1,40	1,81	1,50	2,20	/	/	/
Bacteroidetes	Cytophagaceae	1,61	0,90	1,31	0,80	0,50	0,60	0,50	0,70
	Flammeovirgaceae	0,10	0,30	/	/	/	0,60	0,80	1,30
	NA (Cytophagia)	/	/	/	/	/	1,20	0,60	/
	Flavobacteriaceae	0,20	0,30	0,30	0,20	0,10	1,00	1,00	0,90
	Chitinophagaceae	2,21	1,10	1,41	0,80	2,60	0,30	0,10	0,10
Chloroflexi	Anaerolineaceae	0,50	0,60	0,80	0,20	0,10	1,00	3,00	1,80
	Caldilineaceae	0,50	0,40	0,30	0,10	0,20	0,60	1,10	0,70
	NA (Chloroflexi)	2,11	3,40	3,82	4,40	1,80	2,30	1,20	1,60
	NA (Thermomicrobia)	2,21	1,90	0,80	1,70	1,50	0,20	0,20	1,60
	Sphaerobacteraceae	/	/	/	/	0,10	0,70	1,20	0,10
Firmicutes	Bacillaceae	9,34	2,80	4,82	2,60	4,90	4,50	2,60	2,40
	Planococcaceae	0,10	/	0,10	0,20	6,91	0,20	0,30	0,30
	Clostridiaceae	0,10	0,10	0,30	0,10	0,10	3,30	0,10	0,70
	NA (Clostridiales)	0,20	/	0,30	/	0,20	0,40	1,30	0,20
Gemmatimonadetes	Gemmatimonadaceae	1,61	1,60	1,41	0,70	2,60	/	/	0,60

Planctomycetes Proteobacteria	NA (Gemmatimonadetes)	2,21	1,30	0,60	0,20	0,60	4,40	4,20	5,01
	Planctomycetaceae	3,61	3,00	2,01	2,10	2,60	1,50	1,20	1,10
	Bradyrhizobiaceae	0,40	0,40	0,50	0,60	1,20	0,30	0,40	0,10
	Hyphomicrobiaceae	0,50	0,90	1,61	1,20	1,20	3,50	1,60	0,80
	Methylobacteriaceae	0,90	1,20	0,90	1,10	0,80	0,20	0,20	/
	NA (Rhizobiales)	1,31	2,10	0,90	1,50	0,60	1,90	2,30	1,80
	Phyllobacteriaceae	0,30	0,60	0,40	1,20	1,20	1,70	1,20	0,50
	Rhizobiaceae	0,50	0,40	2,31	1,30	0,90	0,50	0,60	0,10
	Rhodobiaceae	0,50	0,90	0,60	1,80	/	1,40	1,40	1,30
	Xanthobacteraceae	0,60	1,00	0,60	1,30	0,80	0,10	0,10	/
	Rhodobacteraceae	0,70	0,70	0,30	0,30	0,10	2,50	3,50	4,10
	NA (Rhodospirillales)	4,32	3,90	1,81	1,30	0,90	1,10	1,10	3,50
	Rhodospirillaceae	1,71	1,30	1,31	0,50	0,60	0,90	2,00	1,20
	Erythrobacteraceae	1,00	0,30	1,20	0,10	1,20	1,90	0,70	1,70
	NA (Sphingomonadales)	0,90	1,10	0,60	0,20	0,30	0,10	/	0,20
	Sphingomonadaceae	3,61	2,20	3,41	1,60	4,00	0,80	0,30	1,20
	Comamonadaceae	1,31	0,80	1,51	0,90	1,50	0,40	1,20	0,20
	NA (Betaproteobacteria)	0,70	1,00	0,30	1,10	0,90	/	/	0,20
	Rhodocyclaceae	0,20	/	/	0,20	0,20	2,60	9,11	0,50
	Aeromonadaceae	/	/	/	/	/	1,50	0,10	/
	Ectothiorhodospiraceae	0,10	/	/	/	/	0,20	1,00	0,20
	Enterobacteriaceae	0,60	1,50	6,12	2,50	0,30	/	/	/
	NA (Gammaproteobacteria)	0,50	0,20	/	/	/	1,20	0,70	0,40
	Halomonadaceae	/	0,40	/	/	/	10,31	1,30	5,61
	Oceanospirillaceae	0,30	/	/	/	/	1,40	1,00	/
	Pseudomonadaceae	0,20	0,60	0,70	1,10	0,40	1,50	0,70	0,40
	NA (Xanthomonadales)	1,31	1,60	0,40	1,10	0,30	1,00	1,20	1,30
	Xanthomonadaceae	0,60	0,50	0,90	0,80	1,30	1,10	0,80	0,40
Verrucomicrobia	NA (Chthoniobacterales)	0,20	0,40	0,30	0,20	1,60	/	/	/

Najveće bogatstvo familija (kriterijum je ukupan broj detektovanih familija, bez obzira na % relativne učestalosti zabeležen je kod sukulenatnih *S. maritima* i *C. annua* (>120) dok je najmanji u uzorcima *P. schwarzenbergiana* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) (108) (Prilog 9.1, Tabela P7). Zabeleženo je 48 zajedničkih familija u svim uzorcima rizosfere bez obzira na relativnu učestalost. Ukoliko se uzme u obzir relativna učestalost, najveći broj familija > 1% detektovan je u rizosferi *L. gmelinii* (33) i *A. eupatoria* (31) a najmanji u uzorku *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) (26) (Tabela 11). Familije koje imaju najveći udeo u rizosferi analiziranih biljaka su: NA (Acidobacteria) (>10% u mikrobiomu *A. santonicum*, *P. schwarzenbergiana* i *L. gmelinii*), NA (Acidimicrobiales) (10,2% *S. europaea*), Planococceae (6,9% *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*)), Rhodocyclaceae (9,1% *C. annua*), Enterobacteriaceae (*P. schwarzenbergiana* 6,12%). U uzorcima sukulenatnih biljaka istaknute su sledeće familije: Euzebyaceae, Nitriliruptoraceae (12,6% kod *C. annua*), NA (Gemmatimonadetes) (4,2-5%), Rhodobactriaceae (2,5-4,1%), Rhodocyclaceae (9,1% kod *C. annua*). Halomonadaceae su izražena familija u rizosferi sukulenata (10,3% *S. maritima*, 1,3 *C. annua* i 5,6% *S. europaea*) kao i Oceanospirillaceae (1,4% *S. maritima* i 1% *C. annua*).

Najistaknutije familije u rizosferi *A. santonicum*, su NA (Acidobacteria) (11,8%) i Bacillaceae (9,3%) (Tabela 11). Pored NA (Acidobacteria), u rizosferi *L. gmelinii* ostale istaknute familije su relativno ravnomerno zastupljene (2,5-3,9%). Značajan udeo u rizosferi *P. schwarzenbergiana* imaju familije razdela Acidobacteria (NA (Acidobacteria) i Actinobacteria (Micrococcaceae, Nocardiodaceae i Streptomycetaceae). Pored *P. schwarzenbergiana* gde su zastupljeni sa 6,1%, predstavnici Enterobacteriaceae imaju visok udeo još u rizosferi *A. eupatoria* (2,5%) i *L. gmelinii* (1,5%) dok je u ostalim uzorcima njihov udeo zanemarljiv ili nisu detektovani (Tabela 11). U rizosferi *A. eupatoria* ističu se familije razdela Actinobacteria: Nocardiodaceae (3,8%), NA (Actinobacteria) (4,9%), Rubrobacteriaceae (1,2%), Gaiellaceae (3,6%) kao i dve neidentifikovane familije (NA (Gaiellales) i NA (Solirubrobacteraceae) sa udelom >5%.

Predstavnici familije Streptomycetaceae su najzastupljenije u rizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) (5,3%) koja se od ostalih uzoraka razlikuje i po visokom udelu familija NA (Solirubrobacterales) (6%), Planococcaceae (6,9%) i Sphingomonadaceae (4%). Dominantna familija u rizosferi *S. maritima* je Halomonadaceae (10,3%) koja ima istaknuti udeo i kod *S. europaea* (5,6%). Među sukulentnim biljkama, rizosfera *S. maritima* je bogata sporogenim predstavnicima familija Bacillaceae i Clostridiaceae (4,5% i 3,3%). Posle Nitriliruptoraceae, najistaknutije familije u rizosferi *C. annua*, su: Anaerolineaceae razdela Chloroflexi (3%), Rhodobacteraceae (3,5%) i Rhodocyclaceae (9,1%) klase Betaproteobacteria. Rizosferu *S. europaea* odlikuje značajan udeo familija Nocardioideae, Euzebyaceae i Rhodobacteriaceae ($\approx 4\%$) kao i NA (Gemmatimonadetes) (5%) (Tabela 11).

Najveći broj rodova sa zastupljenošću ($>1\%$) detektovano je u rizosferi *L. gmelinii* (26) i *S. europaea* (25), dok je najmanji broj u rizosferi *C. annua* (17) i *P. schwarzenbergiana* (19) (Tabela 12). Detektovana su ukupno 24 roda prisutna u svim uzorcima rizosfere, bez obzira na relativnu učestalost. Rizosfera sukulentata se razlikuje, kako međusobno, tako i od ostalih biljaka po bogatstvu rodova i njihovoj zastupljenosti. Rodovi *Echicola*, NA (Cytophaga), *Nitrolacea*, *Paracoccus*, *Hydrogenophaga*, *Oceanisphaera* i *Nitrincola* su prisutni isključivo u rizosfernim mikrobiomima sukulentnih biljaka (Tabela 12) dok su *Euzebya*, *Nitriliruptor*, *Pelagibacterium*, *Azoarcus* i *Halomonas* prisutni u jednom ili svim uzorcima sukulentata a u ostalim uzorcima su odsutni i/ili prisutni u zanemarljivom procentu.

Rodovi razdela Acidobacteria, NA (Acidobacteria) i NA (Holophagae) imaju značajan udeo u rizosferi nesukulentnih biljaka *L. gmelinii* i *P. schwarzenbergiana* ($>10\%$), *A. santonicum* i *A. eupatoria* ($\approx 9\%$).

Istaknuti rodovi razdela Actinobacteria prisutni sa velikim udelom i/ili velikim brojem vrsta su: NA (Acidomicrobiales) ($>10\%$ *S. europaea* i 4 vrste), *Agromyces* sa vrstom *A. ramosus* (1,2% *A. eupatoria*), *Arthrobacter-Pseudoarthrobacter* (dve vrste sa udelom $\approx 5\%$ kod *P. schwarzenbergiana*) i *Kocuria* sa vrstom *K. polaris* (1% u rizosferi *S. maritima* i *C. annua*). Rod *Nocardioideae* se ističe visokom zastupljenošću (4,4% *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) i 4,9% *S. europaea*) i četiri vrste, od kojih je *N. alpinus* detektovana u rizosferi svih nesukulentnih biljaka, a *Nocardioideae* sp 7665 i sp 7689 samo u mikrobiomima sukulentata (Prilog 9.1, Tabela P8). Rod *Streptomyces* je istaknut u rizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) (5,3%) dok je kod ostalih rizosfernih mikrobioma zastupljen sa udelom 1,2-1,9% (Tabela 11). Rodovi familije Nitriliruptoria, *Euzebya* i *Nitriliruptor*, imaju značajan udeo u rizosferi sukulentnih biljaka. *Euzebya* je prisutna sa dve vrste i *Nitriliruptor* sa četiri vrste od kojih je *N. alcaliphilus* zastupljena sa $>1\%$ u sva tri mikrobioma sukulentata (Prilog 9.1, Tabela P8). Ostali istaknuti rodovi Actinobacteria: *Rubrobacter*, *Solirubrobacter*, *Gaiella* su detektovani u rizosferi nesukulentnih biljaka i čine oko 6% rizosfere *L. gmelinii* i *A. santonicum*. NA (Galiellales) i NA (Solirubrobacterales) su detektovani u rizosferi svih biljaka sa dominacijom kod *A. eupatoria* gde čine $>10\%$ mikrobioma (Tabela 12).

Rodovi razdela Firmicutes: *Bacillus*, *Sporosarcina* i *Clostridium* se ističu procentualnim udelom i brojem istaknutih vrsta u rizosferi (Tabela 12; Prilog 9.1, Tabela P8). Rod *Bacillus* je najzastupljeniji kod *A. santonicum* (9%) dok su kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*), *P. schwarzenbergiana* i *S. maritima* zastupljeni sa oko 4%. *Sporosarcina* sa vrstom *S. contaminans* ima veliki udeo u rizosferi *H. geniculatum* (5,9%).

Predstavnici *Sphingomonas* (Alfaproteobacteria) su prisutni u svim uzorcima rizosfere, dominantno kod *A. santonicum* (3,5%) i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (3,9%) (Tabela 12).

Tabela 12: Relativna učestalost (%) bakterijskih rodova u rizosfernim mikrobiomima ($>1\%$ u najmanje jednom uzorku). (/) retki ($<0,1\%$) ili nedetektovani rodovi. (NA) - neidentifikovani rodovi (dopunjeno sa prvom višom identifikovanom taksonomskom

kategorijom). Povećanje u relativnoj učestalosti pojedinačnih familija je predstavljeno gradijentom od bele ka zelenoj boji, pri čemu su najtamnijim nijansama zelene istaknute najviše vrednosti.

Razdeo/Familija	Rod	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwarzenbergii</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
Acidobacteria	Blastocatella	1,91	0,90	0,80	0,30	0,80	/	/	0,10
	Bryobacter	1,10	0,50	1,10	0,20	0,80	/	/	0,30
	NA (Acidobacteria)	8,73	9,41	9,04	8,81	3,20	1,30	0,70	3,50
	NA (Holophagae)	0,70	1,50	1,61	0,70	0,60	0,40	0,20	0,70
Acidimicrobiaceae	NA (Acidimicrobiaceae)	0,20	1,30	0,40	2,00	0,70	1,90	1,10	0,20
Actinobacteria	NA (Acidimicrobiales)	1,51	3,90	1,31	3,30	0,50	4,50	3,40	10,01
Frankiaceae	Jatrophihabitans	/	/	/	/	1,10	/	/	/
Microbacteriaceae	Agromyces	0,30	0,40	0,50	1,40	/	/	/	0,40
Micrococcaceae	Arthrobacter-Pseudarthrobacter	1,20	0,90	5,02	0,40	1,20	/	/	/
Micrococcaceae	Kocuria	0,20	/	0,10	/	/	/	0,10	1,00
Promicromonosporaceae	Isopterocola	/	0,20	/	0,10	/	0,20	/	2,70
Micromonosporaceae	Actinoplanes	1,10	0,50	0,50	/	0,20	/	/	/
Nocardioideae	Nocardioideae	2,41	1,90	3,51	3,20	4,40	0,40	0,20	4,90
Propionibacteriaceae	NA (Propionibacteriaceae)	0,60	0,80	0,50	0,30	/	1,40	0,50	1,20
Pseudonocardiaceae	Pseudonocardia	0,80	1,10	1,31	0,70	3,20	/	/	0,10
Streptomyetaceae	Streptomyces	1,51	1,20	1,91	1,90	5,31	0,40	0,20	1,30
Actinobacteria	NA (Actinobacteria)	1,00	1,70	0,60	3,20	0,10	0,50	0,10	0,20
Euzebyaceae	Euzebya	0,60	0,50	0,30	/	/	2,10	2,90	4,10
Nitriliruptoraceae	Nitriliruptor	/	0,20	/	/	/	6,11	12,61	3,90
Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	2,71	3,70	1,81	1,20	0,40	/	/	1,00
Gaiellaceae	Gaiella	0,70	1,00	0,60	3,60	0,50	/	/	/
Actinobacteria	NA (Gaiellales)	0,50	1,20	0,90	5,61	2,20	0,10	0,10	0,20
Actinobacteria	NA (Solirubrobacterales)	1,51	3,90	2,41	5,41	5,91	0,50	0,40	1,70
Patulibacteraceae	Patulibacter	/	0,10	0,20	0,10	1,10	/	0,10	0,10
Solirubrobacteraceae	Solirubrobacter	1,00	1,40	1,81	1,50	2,20	/	/	/
Cyclobacteriaceae	Echinicola	/	/	/	/	/	1,30	0,20	0,10
Bacteroidetea	NA (Cytophagia)	/	/	/	/	/	1,20	0,60	/
Anaerolineaceae	NA (Anaerolineaceae)	0,50	0,60	0,70	0,20	0,10	0,80	2,30	1,40
Caldilineaceae	NA (Caldilineaceae)	0,50	0,30	0,30	0,10	0,20	0,60	1,10	0,70
Chloroflexi	NA (Chloroflexi)	2,11	3,40	3,82	4,40	1,70	2,30	1,20	1,60
Chloroflexi	NA (Thermomicrobia)	2,21	1,90	0,80	1,70	1,50	0,20	0,20	1,60
Sphaerobacteraceae	Nitrolancea	/	/	/	/	/	0,40	1,00	/
Bacillaceae	Bacillus	9,14	2,80	4,72	2,60	4,90	4,00	2,00	1,10
Planococcaceae	Sporosarcina	/	/	0,10	0,10	5,91	0,10	/	/
Clostridiaceae	Clostridium	0,10	0,10	0,30	0,10	0,10	3,30	0,10	0,70
Gemmatimonadaceae	Gemmatimonas	0,40	0,30	0,40	0,20	1,10	/	/	/
Gemmatimonadaceae	NA (Gemmatimonadaceae)	1,20	1,30	1,00	0,50	1,50	/	/	0,50
Gemmatimonadetes	NA (Gemmatimonadetes)	2,21	1,30	0,60	0,20	0,60	4,40	4,20	5,01
Planctomycetaceae	NA (Planctomycetaceae)	2,51	1,90	1,91	1,30	1,50	0,90	0,70	0,60
Hyphomicrobiaceae	Devosia	0,30	0,20	0,80	0,10	0,70	1,00	0,70	0,80
	Pelagibacterium	/	/	/	/	0,10	2,10	0,70	/
Proteobacteria	NA (Rhizobiales)	1,10	1,60	0,60	1,30	0,20	1,90	2,30	1,80
Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	0,20	0,50	0,30	0,40	1,10	0,20	0,10	0,30
Rhizobiaceae	Rhizobium	0,30	0,20	1,71	0,90	0,60	0,50	0,60	/

Rhodobiaceae	Afifella	0,10	0,10	/	/	/	0,10	0,10	1,00
Rhodobiaceae	NA (Rhodobiaceae)	0,50	0,80	0,60	1,80	/	0,60	0,70	0,30
Xanthobacteraceae	Variibacter	0,40	0,80	0,50	1,00	0,60	0,10	0,10	/
Rhodobacteraceae	Labrenzia	/	0,10	/	/	/	/	/	1,90
	NA (Rhodobacteraceae)	0,30	0,40	0,20	/	0,10	0,70	1,50	1,00
Rhodobacteraceae	Paracoccus	/	/	/	/	/	0,90	1,10	0,40
Proteobacteria	NA (Rhodospirillales)	3,92	3,20	1,41	0,60	0,60	0,80	0,30	3,30
Rhodospirillaceae	Defluviicoccus	0,90	0,20	0,40	0,10	/	0,10	0,80	1,00
Erythrobacteraceae	Altererythrobacter	0,30	0,10	0,40	0,10	0,10	1,20	0,20	0,20
	Erythrobacter	0,10	/	/	/	/	/	0,10	1,00
Proteobacteria	NA (Sphingomonadales)	0,90	1,10	0,60	0,20	0,30	0,10	/	0,20
Sphingomonadaceae	Sphingomonas	3,51	2,00	2,51	1,20	3,90	0,40	0,20	0,60
Comamonadaceae	Hydrogenophaga	/	/	/	/	/	0,30	1,10	0,10
Proteobacteria	NA (Betaproteobacteria)	0,70	1,00	0,30	1,10	0,90	/	/	0,20
Rhodocyclaceae	Azoarcus	0,20	/	/	/	/	2,60	8,61	0,50
Aeromonadaceae	Oceanisphaera	/	/	/	/	/	1,50	0,10	/
Enterobacteriaceae	Enterobacter	0,50	1,10	5,82	1,60	0,30	/	/	/
Halomonadaceae	Halomonas	/	0,40	/	/	/	10,31	1,30	5,61
Oceanospirillaceae	Nitricola	/	/	/	/	/	1,00	0,90	/
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	0,20	0,60	0,70	1,10	0,40	1,50	0,70	0,40
Proteobacteria	NA (Xanthomonadales)	0,60	1,20	0,20	0,60	0,10	1,00	1,20	1,30
Verucomicrobia	NA (Chthoniobacterales)	0,20	0,40	0,30	0,20	1,60	/	/	/

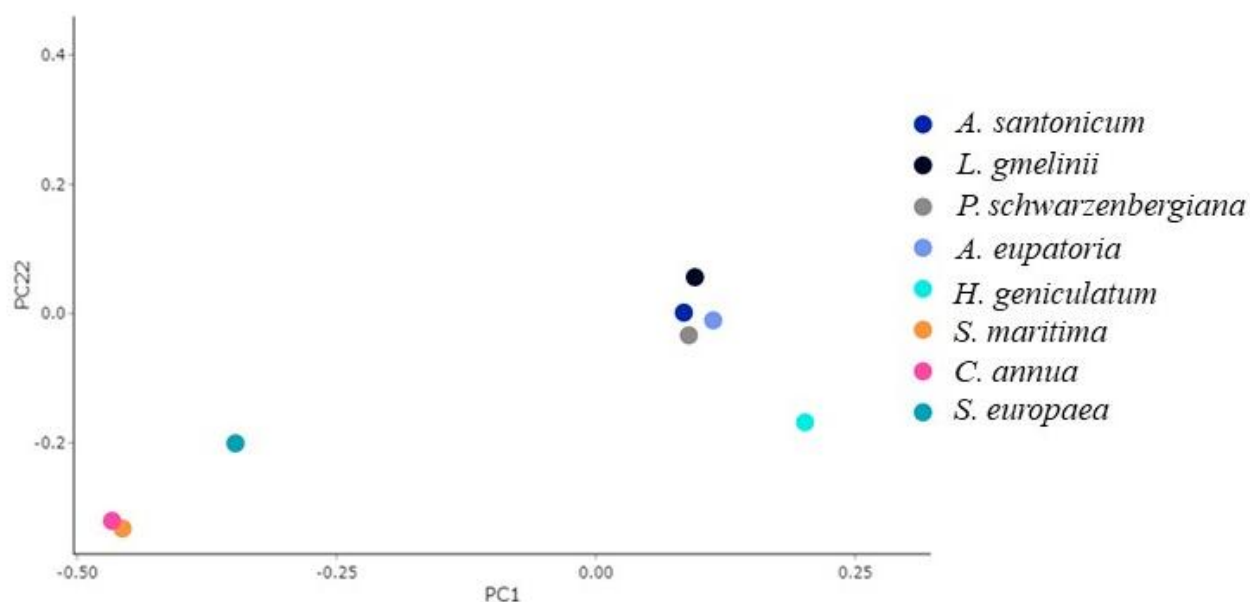
U rizosferi sukulentnih biljaka po učestalosti izdvajaju se rodovi: *Azoarcus*, *Afifella*, *Echinicola* (sve sukulente), *Oceanisphaera* (prisutna kod *S. maritima* i *C. annua*), *Nitricola* (prisutni kod *C. annua* i *S. maritima*) i *Labrenzia* (kod *S. maritima*). *Halomonas* je istaknuti rod u rizosferi sukulenata sa četiri vrste od kojih se izdvajaju: *H. chromatireducens* i *Halomonas* sp. 61418 (1,3% i 6,4% kod *S. maritima*) i *H. nitritophilus* (3,2% kod *S. europaea*). Predstavnici *Pseudomonas* su detektovani u svim rizosfernim mikrobiomima, sa značajnim udelom kod *A. eupatoria* i *S. maritima*, pri čemu nisu zabeležene vrste sa učestalošću iznad 1% (Prilog 9.1, Tabela P8).

5.1.3. Diverzitet endorizosfernih bakterija

Svi indeksi alfa diverziteta u uzorcima endorizosfere su niži u poređenju sa rizosferom. *Observed species*, osnovni indeks za opisivanje bogatstva vrsta u zajednici, zajedno sa Chao 1 indeksom ima najviše vrednosti u uzorcima endorizosfere *L. gmelinii* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (Tabela 13). Najniže vrednosti pomenutih indeksa su zabeležene kod *A. santonicum* i *P. schwarzenbergiana* gde je detektovan najmanji broj vrsta. Endorizosferni mikrobiom *L. gmelinii* ima i najvišu vrednost PD *whole tree* indeksa koji opisuje filogenetsku raznolikost zajednice. Najniže vrednosti PD *whole tree* indeksa izmerene su kod *A. santonicum*, *P. schwarzenbergiana* i *A. eupatoria*. Mikrobiomi *P. schwarzenbergiana* i *A. santonicum* imaju najniže indekse diverziteta (Fisher alfa, Shannon, Simpson i recipročni Simpson-ov) koji pored bogatstva vrsta uzimaju u obzir i njihovu distribuciju. Najviše vrednosti Shannon, Simpson i recipročnog Simpson indeksa su izmerene u endorizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*).

Tabela 13: Indeksi alfa diverziteta bakterijskih zajednica endorizosfere analiziranih biljaka

Uzorak	Observed species	PD_whole		Fisher alfa	Shannon	Simpson	
		Chao1	tree			Simpson	Reciprocal
<i>A. santonicum</i>	109,30	113,07	26,86	20,76	1,90	0,39	1,63
<i>L. gmelinii</i>	465,40	595,72	67,89	136,42	5,31	0,86	7,31
<i>P. schwarzenbergiana</i>	127,50	152,78	25,51	25,12	1,70	0,33	1,50
<i>A. eupatoria</i>	258,70	267,71	26,16	61,82	4,82	0,81	5,34
<i>H. geniculatum</i>	374,80	401,53	38,12	101,27	6,67	0,97	33,67
<i>S. maritima</i>	346,60	369,60	40,79	91,11	6,23	0,94	15,71
<i>C. annua</i>	356,60	396,29	39,15	94,67	6,10	0,93	14,91
<i>S. europaea</i>	251,50	267,75	35,81	59,58	4,69	0,79	4,68

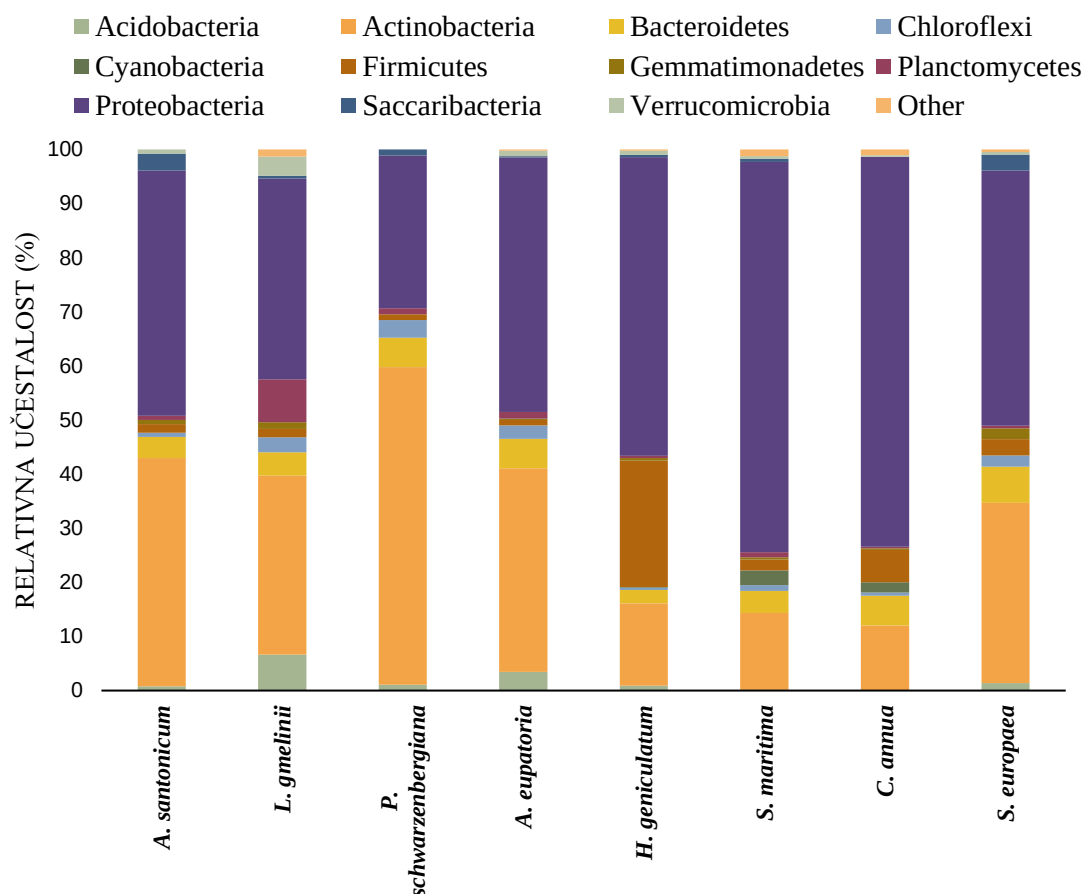


Slika 10: PCoA dijagram beta diverziteta endofitnih bakterijskih zajednica. Svaka tačka na slici predstavlja mikrobiološki profil zajednice na nivou roda. Uzorci sličnijeg profila zajednice su bliže pozicionirani jedan drugom.

PCoA analiza beta diverziteta (Slika 10) je pokazala da su mikrobiomi endorizosfere sukulentnih *S. maritima*, *C. annua* i *S. europaea* bliže postavljene (grupisane) i izdvojene od ostalih, nesukulentnih biljaka. Grupisanje *S. maritima* i *C. annua* ukazuje na sličan profil zajednice i zajedničke rodove. PCoA analiza je pokazala da se zajednica sukulentne *S. europaea* razlikuje od sukulentnih, kao i od svih ostalih biljaka. U odnosu na sukulentne biljke, uzorci *A. santonicum*, *P. schwarzenbergiana* i *A. eupatoria* su blisko pozicionirani i njima je najbliži uzorak *L. gmelinii*. Udaljenost uzorka *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) od svih ostalih ukazuje na različit profil bakterijske zajednice.

5.1.3.1. Taksonomski sastav endorizosfernih bakterijskih zajednica

U endorizosferi analiziranih biljaka detektovani su predstavnici 15 bakterijskih razdela (Prilog 9.1, Tabela P9). Dominantni razdeli u uzorcima endorizosfere su Proteobacteria i Actinobacteria koji zajedno okvirno čine od 70% mikrobioma kod *L. gmelinii* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) do 94,5% kod *A. santonicum* (Slika 11). Proteobacteria imaju najmanji udeo kod *P. schwarzenbergiana* (28,26%) dok u endorizosferi sukulenitnih *S. maritima* i *C. annua* predstavljaju dominantne razdele (72%). Predstavnici Actinobacteria su najzastupljeniji endofitni razdeo kod *P. schwarzenbergiana* (58,7%). Actinobacteria imaju visok udeo u endorizosferi *A. santonicum* (42,19%), *A. eupatoria* (37,62%), *L. gmelinii* i *S. europaea* 33%, dok su kod *C. annua*, *S. maritima* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) slabije zastupljene (12-15%) (Slika 11). Uz predstavnike Proteobacteria, Firmicutes (23,4%) su dominantan razdeo kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) dok u drugim uzorcima imaju manju učestalost (Prilog 9.1, Tabela P9). Od ostalih razdela ističu se Bacteroidetes i Chloroflexi koji su detektovani u svim uzorcima, najviše kod *P. schwarzenbergiana* (3,2%). Acidobacteria se ističu kod *L. gmelinii* (6,6%) i *A. eupatoria* (3,47%), Planctomycetes i Verrucomicrobia kod *L. gmelinii* (7,89 i 3,56%, redom), dok su Saccaribacteria prisutne kod *A. santonicum* (3,13%) i *S. europaea* ($\approx 3\%$) (Slika 11). Cyanobacteria su detektovane samo kod sukulenitnih *S. maritima* i *C. annua*. Razdeli kao što su Chlamydiae, Chlorobi, Deinococcus-Termus i Fibrobacteres su prisutni u pojedinim uzorcima i sa niskom relativnom zastupljenošću (0,1-0,2%). Najveći diverzitet subdominantnih razdela ($<1\%$) zabeležen je kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i *S. maritima* (7) (Prilog 9.1, Tabela P9).



Slika 11. Relativna učestalost najistaknutijih bakterijskih razdela u uzorcima endorizosfere ($>1\%$ u najmanje jednom uzorku).

Detaljan prikaz i učestalost detektovanih klasa u uzorcima endorizosfere dat je u Tabeli P9 u Prilogu 9.1. Među najzastupljenijim klasama bile su proteobakterije Alpha-, Beta-, Gamma- i Deltaproteobacteria zajedno sa klasama razdela Actinobacteria: Actinobacteria, Acidimicrobiia,

Thermoleophilia i Nitriliruptoria (Prilog 9.1, Tabela P9). Predstavnici klase Cytophagia su zastupljeni u svim mikrobiomima (0,1-4,95%). Najveći deo predstavnika razdela Firmicutes, pripada klasi Bacilli, dok je klasa Clostridia zastupljena sa >1% samo u uzorku *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*).

Najveće bogatstvo familija (kriterijum je ukupan broj detektovanih familija, bez obzira na % relativne učestalosti) zabeležen je kod sukulentnih *S. maritima* (85), *C. annua* (78) i *S. europaea* (76) dok je najmanji broj familija detektovan u uzorcima *P. schwarzenbergiana* (39) i *A. santonicum* (49) (Prilog 9.1, Tabela P11). Familije prisutne u svim analiziranim uzorcima endorizosfere su: Micromonosporaceae, Nocardioidaceae, Streptomycetaceae, Cytophagaceae, Bacillaceae, Planctomycetaceae, Hyphomicrobiaceae, Rhizobiaceae, Rhodospirillaceae, Erythrobacteraceae, Sphingomonadaceae, Comamonadaceae, NA (Xanthomonadales) i NA (Acidimicrobiales). Familije sa najvećom zabeleženom relativnom zastupljenošću su: Enterobacteriaceae (31,6% kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*)), Micromonosporaceae (18,48% kod *P. schwarzenbergiana*) i Bacillaceae (19,50% kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*)). Najzastupljenija familija u mikrobiomima sukulentnih *S. maritima* i *C. annua* je Pseudomonadaceae (16,64% i 12,02%, redom) zajedno sa Rhodocyclaceae (6,96% i 19,29%, redom).

Tabela 14: Relativna učestalost (%) bakterijskih familija u endorizosfernim mikrobiomima (>1% u najmanje jednom uzorku). (/) retke (<0,1%) ili nedetektovane familije. (NA) - neidentifikovane familije (dopunjeno sa prvom višom identifikovanom taksonomskom kategorijom). Povećanje u relativnoj učestalosti pojedinačnih familija je predstavljeno gradijentom od bele ka zelenoj boji pri čemu su najtamnijim nijansama zelene istaknute najviše vrednosti.

Razdeo	Familija	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwarzenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
Acidobacteria	NA (Acidobacteria)	0,78	5,34	1,09	2,97	0,7	0,15	/	0,92
	NA (Holophagae)	/	1,27	/	0,25	0,1	/	/	0,46
	Acidimicrobiaceae	1,56	1,27	/	2,72	0,2	1,21	0,74	0,92
	Iamiaceae	2,34	0,76	/	0,5	/	0,45	0,15	0,23
	NA (Acidimicrobiales)	1,56	6,36	1,09	0,99	0,2	1,82	0,74	2,76
	Mycobacteriaceae	5,47	0,25	2,17	1,49	0,6	/	/	0,23
Actinobacteria	Cryptosporangiaceae	/	/	1,09	2,72	/	/	/	/
	Geodermatophilaceae	2,34	/	0	4,46	/	/	/	/
	NA (Frankiales)	/	/	0	1,73	/	/	/	/
	Glycomycetaceae	/	/	0	0	/	/	/	1,15
	Kineosporiaceae	3,13	0,25	7,61	1,49	0,1	/	0,45	0,46
	Cellulomonadaceae	1,56	/	/	/	0,1	1,82	1,78	/
	Intrasporangiaceae	/	/	/	/	0,2	1,06	1,04	0,23
	Jonesiaceae	/	/	/	/	/	2,57	3,26	/
	Microbacteriaceae	1,56	/	2,17	2,23	0,9	0,15	0,3	0,46
	Micrococcaceae	0,78	0,25	/	/	0,9	/	0,3	1,84
	Promicromonosporaceae	4,69	0,25	1,09	0,5	/	/	/	8,05
	Micromonosporaceae	6,25	7,12	18,48	4,7	0,5	0,3	0,45	0,69

Bacteroidetes	Nocardioideaceae	3,13	2,04	5,43	3,22	1,9	0,3	0,15	3,22
	Propionibacteriaceae	0,78	0,76	1,09	/	/	/	/	/
	Pseudonocardiaceae	2,34	1,02	2,17	1,98	1,9	/	/	0,23
	Streptomycetaceae	3,91	1,53	8,7	3,71	2,4	0,15	0,15	4,83
	Thermomonosporaceae	/	0,25	1,09	0,5	0,3	/	/	0,23
	Euzebyaceae	0,78	0,51	/	/	/	1,21	0,59	3,68
	Nitriliruptoraceae	/	0,25	/	/	/	1,66	1,34	1,15
	Rubrobacteriaceae	/	0,51	1,09	/	0,1	/	/	0,92
	NA (Solirubrobacterales)	/	6,87	2,17	1,73	2,5	0,3	0,15	0,69
	Patulibacteraceae	/	/	1,09	0,25	0,7	0,15	/	/
	Solirubrobacteraceae	/	1,53	2,17	0,74	1,1	/	/	/
	Cytophagaceae	3,13	1,78	3,26	4,95	0,1	0,61	1,48	0,46
	Flammeovirgaceae	/	1,27	/	/	/	0,76	0,74	1,61
	NA (Cytophagales)	/	/	/	/	/	1,06	1,04	0,92
	Flavobacteriaceae	/	0,51	/	0,25	0,8	0,45	0,89	3,22
	Chitinophagaceae	0,78	0,76	2,17	0,5	0,4	0,15	/	/
	Sphingobacteriaceae	/	/	/		1,2	/	/	/
	Anaerolineaceae	/	0,76	1,09	0,74	/	0,76	0,45	0,46
	Roseiflexaceae	/	0,51	1,09	0,5	0,1	/	/	/
	Cyanobacteria	FamilyI (Cyanobacteria)	/	/	/	/	2,72	1,93	/
	Bacillaceae	1,56	1,53	1,09	0,74	19,5	0,61	0,45	1,84
	Family XII (Bacillales)	/	/	/	/	/	0,15	3,41	0,23
	Firmicutes	Planococcaceae	/	/	/	/	2,6	1,19	0,46
	NA(Phycisphaerae)	/	2,04	/	0,25	0,1	/	/	/
	Planctomycetes	Planctomycetaceae	0,78	5,6	1,09	0,99	0,3	0,91	0,3
		Caulobacteraceae	0,78	0,25	2,17	2,97	0,5	1,21	1,04
		Bradyrhizobiaceae	2,34	0,76	2,17	2,48	0,9	0,45	0,15
		Hyphomicrobiaceae	2,34	3,82	2,17	4,7	0,6	4,54	2,52
		Methylobacteriaceae	2,34	0,76	1,09	/	0,2	0,15	0,15
		NA (Rhizobiale)	0,78	2,04	/	1,49	0,4	0,15	0,3
		Phyllobacteriaceae	/	1,53	/	0,99	0,8	1,97	1,34
	Proteobacteria	Rhizobiaceae	3,91	0,25	3,26	4,21	1,2	4,39	4,9
		Rhodobiaceae	0,78	2,54	/	0,5	/	0,76	0,45
		Xanthobacteraceae	0,78	2,8	/	1,24	0,2	/	/
		Rhodobacteraceae	/	0,51	/	/	0,1	4,08	5,34
		NA (Rhodospirillales)	/	2,04	/	0,74	0,1	/	/
		Rhodospirillaceae	0,78	3,82	1,09	4,46	0,3	1,66	1,63
		Erythrobacteraceae	2,34	0,51	1,09	0,25	0,4	4,84	2,97
		Sphingomonadaceae	3,91	0,76	1,09	3,47	2,1	1,36	0,59
		Comamonadaceae	3,91	0,76	3,26	3,22	1,0	1,66	5,34
		Oxalobacteraceae	0,78	/	1,09	0,25	1,7	0,15	/
		Rhodocyclaceae	/	/	/	/	0,2	6,96	19,29
		Haliangiaceae	/	0,25	1,09	0,74	/	/	0,15
		NA (Myxococcales)	0,78	1,27	1,09	1,98	/	0,15	0,15
		Sandaracinaceae	7,81	1,27	1,09	0,25	/	0,61	0,45
		Aeromonadaceae	/	/	/	/	/	4,39	1,78
		Cellvibrionaceae	/	/	/	/	/	0,3	1,04
		Chromatiaceae	/	/	/	/	/	2,57	0,45

	Enterobacteriaceae	1,56	0,25	4,35	1,24	31,6	0,76	0,15	/
	Halomonadaceae	/	0,25	/	/	/	1,97	1,78	7,82
	Moraxellaceae	/	/	/	/	0,5	2,27	0,15	1,61
	Pseudomonadaceae	1,56	/	/	0,25	6,7	16,64	12,02	5,98
	NA (Xanthomonadales)	3,13	5,09	1,09	5,69	0,2	0,15	0,15	0,92
	Nevskiaceae	/	/	/	3,22	/	/	/	/
	Xanthomonadaceae	2,34	1,02	/	0,5	4,2	4,99	3,41	2,53
Saccaribacteria	NA (Saccharibacteria)	3,13	0,51	1,09	0,25	0,4	0,61	/	2,99
Verrucomicrobia	NA (Chthoniobacterales)	/	1,27	/	0,25	0,7	/	/	/

Najistaknutije familije u mikrobiomu *A. santonicum* su Sandarinaceae (7,81%) i Micromonosporaceae (6,25%) koja je istovremeno najzastupljenija familija endorizosfere *P. schwarzenbergiana* (Tabela 14). U mikrobiomu *P. schwarzenbergiana* detektovan je najmanji broj familija, od kojih su sve zastupljene preko 1%. *L. gmelinii* odlikuje najveći broj NA familija sa visokim udelom u mikrobiomu korena (Tabela 14). U mikrobiomu *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) je detektovan najveći broj familija (75), pri čemu je 12 zastupljeno sa više od 1%, a među kojima Enterobacteriaceae i Bacillaceae zajedno čine više od 50% bakterijske zajednice korena.

Najzastupljenija familija endofitne zajednice *S. maritima* je Pseudomonadaceae (16,64%) zajedno sa Rhodocyclaceae (6,96%). Među familijama sa relativnom zastupljenošću 4-5% su Hyphomicrobiaceae, Rhizobiaceae, Rhodobacteraceae, Erythrobacteraceae, Aeromonadaceae, i Xanthomonadaceae. Kod *C. annua* i *S. maritima* najzastupljeniji su predstavnici familija Rhodocyclaceae (19,29%) i Pseudomonadaceae (12,02%) čineći zajedno preko 30% familija prisutnih u mikrobiomu. Ostale familije zastupljene od 3% do preko 5% u mikrobiomu *C. annua* su: Jonesiaceae, Bacillales family XII, Rhizobiaceae, Rhodobacteraceae, Erythrobacteraceae, Comamonadaceae i Xanthomonadaceae. U mikrobiomu *S. europaea* nema pojedinačnih visoko zastupljenih familija. Ističu se četiri sa zastupljenošću između 6-8% (Promicromonosporaceae, Rhodobacteraceae, Halomonadaceae i Pseudomonadaceae) zajedno sa Nocardiodaceae (3,22%), Streptomycetaceae (4,83%), Euzebyaceae (3,68%), Flavobacteriaceae (3,22%), i Erythrobacteraceae (3,45%) (Tabela 14).

Tabela 15: Relativna učestalost (%) bakterijskih rodova u endorizosfernim mikrobiomima (>1% u najmanje jednom uzorku). (/) retki (<0,1%) ili nedetektovani rodovi. (NA)-neidentifikovani rodovi (dopunjeno sa prvom višom identifikovanom taksonomskom kategorijom). Povećanje u relativnoj učestalosti pojedinačnih familija je predstavljeno gradijentom od bele ka zelenoj boji pri čemu su najtamnijim nijansama zelene istaknute najviše vrednosti.

Razdeo /Familija	Rod	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwarzenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
Acidobacteria/ NA	NA (Acidobacteria)	0,78	5,09	1,09	2,97	0,20	/	/	0,69
	NA (Holophagae)	/	1,27	/	0,25	/	/	/	0,46
Acidimicrobiaceae	Illumatobacter	1,56	0,25	/	0,25	0,00	0,45	0,30	0,69
	NA (Acidimicrobiaceae)	/	1,02	/	2,48	0,20	0,91	0,45	0,23
Iamiaceae	Iamia	2,34	0,76	/	0,50	/	0,45	0,15	0,23
Actinobacteria	NA(Acidimicrobiales)	0,78	6,11	1,09	0,99	0,20	1,66	0,59	2,76
Mycobacteriaceae	Mycobacterium	5,47	0,25	2,17	1,49	0,60	/	/	0,23
Cryptosporangiaceae	Cryptosporangium	/	/	1,09	2,72	/	/	/	/
Geodermatophilaceae	Blastococcus	/	/	/	4,46	/	/	/	/
	Geodermatophilus	1,56	/	/	/	/	/	/	/
Actinobacteria	NA (Frankiales)	/	/	/	1,73	/	0,15	/	/

Glycomycetaceae	Glycomyces	/	/	/	/	/	/	/	1,15
Kineosporiaceae	Kineosporia	2,34	/	6,52	1,24	0,10	/	/	/
	NA (Kineosporiaceae)	/	/	1,09	0,25	/	/	0,45	/
Cellulomonadaceae	Actinotalea	/	/	/	/	/	1,21	0,59	/
	Cellulomonas	1,56	/	/	/	0,10	0,61	1,19	/
Jonesiaceae	Jonesia	/	/	/	/	/	2,57	3,26	/
Microbacteriaceae	Agrococcus-Chryseoglobus	/	/	1,09	/	/	/	/	/
	Chryseoglobus	/	/	1,09	0,99	/	/	/	/
Promicromonosporaceae	Isoptricola	/	/	/	/	/	/	/	5,52
	Promicromonospora	4,69	/	1,09	0,50	/	/	/	2,53
Micromonosporaceae	Actinoplanes	4,69	3,31	18,48	1,49	0,50	0,15	0,15	/
	Longispora	/	3,56	/	/	/	0,15	0,15	/
	Micromonospora	/	/	/	2,23	/	/	/	/
Nocardiodaceae	Aeromicrobium	/	/	1,09	0,25	0,10	/	/	/
	NA (Nocardiodaceae)	/	/	1,09	/	0,10	/	/	/
	Nocardioides	3,13	2,04	3,26	3,22	1,40	0,15	0,15	3,22
Propionibacteriaceae	Friedmanniella	0,78	/	1,09	/	/	/	/	/
Pseudonocardiaceae	Lechevalieria-Lentzea	/	/	1,09	/	/	/	/	/
	Pseudonocardia	1,56	0,76	1,09	1,49	1,30	/	/	/
Streptomycetaceae	Streptomyces	3,91	1,53	8,70	3,71	2,40	0,15	0,15	4,83
Thermomonosporaceae	Actinocorallia	/	/	1,09	0,50	/	/	/	/
Euzebyaceae	Euzebya	0,78	0,51	/	/	/	1,21	0,59	3,68
Nitriliruptoraceae	Nitriliruptor	/	0,25	/	/	/	1,66	1,34	1,15
Rubrobacteriaceae	Rubrobacter	/	0,51	1,09	/	0,10	/	/	0,92
Actinobacteria	NA (Solirubrobacterales)	/	6,87	2,17	1,73	2,50	0,30	0,15	0,69
Patulibacteraceae	Patulibacter	/	/	1,09	0,25	0,70	0,15	/	/
Solirubrobacteraceae	Solirubrobacter	/	1,53	2,17	0,74	1,10	/	/	/
Cytophagaceae	Chryseolinea	/	0,25	/	2,48	/	/	/	/
Bacteroidetes	NA (Cytophagaceae)	2,34	1,53	1,09	1,73	0,10	0,15	0,15	/
Cytophagaceae	Ohtaekwangia	/	/	1,09	0,25	/	0,15	0,15	/
Bacteroidetes	NA (Cytophagales)	/	/	/	/	/	1,06	1,04	0,92
Bacteroidetes	NA (Flavobacteriaceae)	/	/	/	/	/	/	/	1,84
Chitinophagaceae	Niastella	0,78	0,51	2,17	0,25	/	/	/	/
Anaerolineaceae	NA (Anaerolineaceae)	/	0,76	1,09	0,74	/	0,61	0,45	0,23
Roseiflexaceae	Roseiflexus	/	0,51	1,09	0,50	0,10	/	/	/
Family I	Leptolyngbya	/	/	/	/	/	1,66	0,74	/
Bacillaceae	Bacillus	1,56	1,53	1,09	0,74	19,50	0,61	0,45	0,46
Family XII	Exiguobacterium	/	/	/	/	/	0,15	3,41	0,23
Planococcaceae	Sporosarcina	/	/	/	/	2,10	/	/	/
Gemmatimonadetes	NA (Gemmatimonadetes)	0,78	0,51	/	/	/	0,30	0,15	1,84
Planctomycetes	NA (Phycisphaerae)	/	2,04	/	0,25	0,10	/	/	/
Planctomycetaceae	NA (Planctomycetaceae)	/	3,05	1,09	0,74	0,10	0,61	0,15	0,46
Caulobacteraceae	Caulobacter	/	/	1,09	0,74	0,40	/	/	/
	Phenyllobacterium	0,78	0,25	/	2,23	/	0,15	0,30	/
Bradyrhizobiaceae	Afipia-Bradyrhizobium	1,56	0,51	2,17	2,23	0,30	/	/	/
Hyphomicrobiaceae	Devosia	1,56	0,51	1,09	0,50	0,50	1,21	0,89	1,15
	Pelagibacterium	/	0,25	/	/	/	2,57	1,34	/
	Rhodomicrobium	0,78	2,04	/	2,72	/	/	/	/
Methylobacteriaceae	Methylobacterium	2,34	/	1,09	/	0,20	/	/	/
Proteobacteria	NA (Rhizobiales)	0,78	1,78	/	1,49	0,20	0,15	0,15	0,46
Phyllobacteriaceae	Mesorhizobium	/	1,02	/	0,25	0,70	0,30	0,15	0,92
Rhizobiaceae	Neorhizobium	0,78	/	1,09	0,25	0,30	/	/	/
	Rhizobium	1,56	/	2,17	2,72	0,70	4,39	4,90	1,15
	Shinella	/	/	1,09	0,99	0,10	/	/	/
Rhodobiaceae	NA (Rhodobiaceae)	0,78	2,54	/	0,50	/	0,30	0,30	0,23
Xanthobacteraceae	Variibacter	0,78	2,54	/	0,99	0,10	/	/	/
Rhodobacteraceae	Labrenzia	/	0,51	/	/	/	/	/	2,99
Rhodobacteraceae	Paracoccus	/	/	/	/	/	2,57	3,86	2,07
Proteobacteria	NA (Rhodospirillales)	/	1,78	/	/	/	/	/	1,38
Rhodospirillaceae	Dongia	/	/	/	3,71	/	/	/	/
	NA (Rhodospirillaceae)	/	1,02	/	0,74	/	0,76	/	/
	Pelagibius	/	2,29	/	/	/	0,15	0,15	0,92
Erythrobacteraceae	Altererythrobacter	2,34	0,25	/	/	/	3,33	1,63	1,15
	Erythrobacter	/	/	/	/	/	/	/	1,38
	Porphyrobacter	/	/	/	/	/	1,21	1,19	/
Sphingomonadaceae	Novosphingobium	/	/	/	1,24	/	0,45	0,30	0,23
	Sphingomonas	3,13	0,76	1,09	2,23	2,00	0,45	0,15	0,23
Comamonadaceae	Hydrogenophaga	/	/	/	/	/	1,21	4,75	0,69
	Leptothrix	1,56	0,25	1,09	1,73	0,10	0,15	0,15	/
	NA (Comamonadaceae)	0,78	0,25	1,09	0,50	/	/	/	/
	Variovorax	0,78	/	1,09	0,74	0,20	/	/	/
Oxalobacteraceae	Massilia	0,78	/	1,09	0,25	0,70	/	/	0,23
Rhodocyclaceae	Azoarcus	/	/	/	/	/	6,05	17,66	2,07
Haliangiaceae	Haliangium	/	0,25	1,09	0,74	/	/	0,15	/
Proteobacteria	NA (Myxococcales)	0,78	1,27	1,09	1,98	/	0,15	0,15	0,46

Sandarinaceae	NA (Sandaracinaceae)	7,81	1,27	1,09	0,25	/	0,61	0,45	0,46
Aeromonadaceae	Oceanisphaera	/	/	/	/	/	4,24	1,78	/
Chromatiaceae	Rheinheimera	/	/	/	/	/	2,57	0,45	0,69
Enterobacteriaceae	Enterobacter	/	0,25	3,26	0,99	18,40	0,61	/	/
	Enterobacter-Kosakonia	/	/	/	/	5,40	0,15	/	/
	Enterobacter-Salmonella	0,78	/	/	/	1,70	/	/	/
	Klebsiella	/	/	/	/	1,40	/	/	/
	Klebsiella-Salmonella	/	/	/	/	2,50	/	/	/
	Pantoea	0,78	/	1,09	0,25	0,50	/	/	/
Halomonadaceae	Halomonas	/	0,25	/	/	/	1,97	1,78	7,82
Moraxellaceae	Acinetobacter	/	/	/	/	0,50	2,27	0,15	/
	NA (Moraxellaceae)	/	/	/	/	/	/	/	1,38
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	1,56	/	/	0,25	6,70	16,64	12,02	5,98
Proteobacteria	Acidibacter	/	0,25	/	1,24	0,10	/	/	/
Proteobacteria	NA (Xanthomonadales)	0,78	2,54	/	0,50	/	0,15	0,15	0,69
Proteobacteria	Steroidobacter	2,34	2,04	1,09	3,96	0,10	/	/	/
Nevskiaceae	Hydrocarboniphaga	/	/	/	3,22	/	/	/	/
Xanthomonadaceae	Arenimonas	/	/	/	/	/	0,61	1,04	0,46
	Luteimonas	/	0,25	/	/	/	2,12	1,04	1,38
	Pseudofulvimonas	/	/	/	/	/	1,51	0,30	/
	Pseudoxanthomonas	1,56	/	/	0,25	/	/	/	/
	Stenotrophomonas	/	/	/	/	2,80	/	/	/
Saccaribacteria	NA (Saccharibacteria)	3,13	0,51	1,09	0,25	0,30	0,61	/	2,99
Verrucomicrobia	NA (Chthoniobacterales)	/	1,27	/	0,25	0,70	/	/	/

U uzorcima endorizosfere detektovano je ukupno 414 OTU koje odgovaraju novou roda, dok su najzastupljeniji rodovi (>1% u najmanje jednom mikrobiomu) prikazani u Tabeli 15. Najveći broj rodova sa >1% učestalosti registrovano je u uzorku *P. schwarzenbergiana* (48), a najmanje u uzorcima *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (15) i *C. annua* (17).

U svim uzorcima endorizosfere su pronađeni sledeći rodovi: *Nocardioides*, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Devosia*, *Sphingomonas* i NA (Acidimicrobiales). *Pseudonocardia*, *Afipia-Bradyrhizobium* i *Steroidobacter* nisu zabeleženi u mikrobiomima sukulentnih biljaka dok su kod svih ostalih biljaka prisutni. Devetnaest rodova (17%) je detektovano isključivo u endorizosfernim mikrobiomima sukulentnih biljaka od kojih su: NA (Cytophagales), *Exiguobacterium*, *Paracoccus*, *Hydrogenophaga*, *Azoarcus*, *Rheinheimera* i *Arenimonas* zajednički za sve tri sukulentne biljke. Među sukulentnim biljkama, u korenu *S. maritima* i *C. annua* je zastupljeno 15 zajedničkih rodova dok se mikrobiom *S. europaea* izdvaja sa osam rodova koji nisu pronađeni kod ostale dve (Tabela 15).

Rodovi Actinobacteria koji se ističu po procentualnoj učestalosti i/ili broju vrsta su: *Mycobacterium* (5,47% i tri vrste kod *A. santonicum*), *Blastococcus* sa vrstom *B. saxobsidens* (4,46% *A. eupatoria*), *Kineosporia* sa *Kineosporia* sp6208 (2,34% *A. santonicum*, 6,52 % *P. schwarzenbergiana* i 1,24% *A. eupatoria*) i *Promicromonospora* sa vrstom *Promicromonospora* sp7297 (4,69% *A. santonicum*) (Prilog 9.1, Tabela P12).

Rod *Actinoplanes* čini veliku udeo u mikrobiomu *P. schwarzenbergiana* (18,48%), *A. santonicum* (4,69%) i *L. gmelinii* (3,31%), dok u korenu ostalih biljaka nije značajno zastupljen. Vrste sa značajnim udelom su *Actinoplanes nipponensis* (3,91% kod *A. santonicum* i 6,52 % kod *P. schwarzenbergiana*) kao i *Actinoplanes* sp7394 (6,52% kod *P. schwarzenbergiana*). Rod *Streptomyces* je prisutan u svim uzorcima, ali sa različitim udelom i brojem vrsta. Identičan i istovremeno najveći udeo od 4,83% ima u mikrobiomu *P. schwarzenbergiana* sa jednom i mikrobiomu *S. europaea* sa tri vrste.

Udeo i broj detektovanih vrsta roda *Bacillus* varira među uzorcima. U mikrobiomu korena *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) *Bacillus* je dominantan rod sa udelom od 19,50% i sedam detektovanih vrsta. Istaknute vrste roda su *Bacillus aryabhattai-flexus-megaterium* (1,56% *A. santonicum* i *H. geniculatum* 3,9%), *Bacillus cereus-pseudomycoides-toyonensis* (2,30% *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*)) i *Bacillus flexus-megaterium* (10,40% *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i 1,09% *P. schwarzenbergiana*) (Prilog 9.1, Tabela P12). Endorizosfera *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i *P. schwarzenbergiana* se ističe po izrazitom udelu roda *Enterobacter* (18,4% i 3,6% redom).

Azotofiksatori roda *Devosia* (Rhizobiales) su prisutni u svim uzorcima endorizosfere (0,5-1,56 %) kao i predstavnici roda *Rhizobium* (sem kod *L. gmelinii*). Osim vrste *R. leguminosarum* koja je detektovana kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i sukulentnih *S. maritima* i *C. annua*, nema zajedničkih vrsta roda *Rhizobium* između sukulentnih i nesukulentnih biljaka. Predstavnici *Acinetobacter* su detektovani u endorizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (dve vrste), *S. maritima* (tri) i *C. annua* (jedna).

Istaknuti rodovi po učestalosti i broju detektovanih vrsta u mikrobiomu sukulentnih biljaka su *Azoarcus*, *Pseudomonas* i *Halomonas* (Tabela 15). *Azoarcus* je sa 17,66% i osam vrsta najistaknutiji rod u bakterijskoj zajednici korena *C. annua*, dok je u mikrobiomu *S. maritima* *Pseudomonas* najzastupljeniji rod sa 16,64% i 11 različitih vrsta (Tabela 15; Prilog 9.1, Tabela P12). Vrsta sa visokim stepenom sličnosti sa *P. pseudoalcaligenes* ističe se u mikrobiomu *S. maritima* sa 5,45% i 6,82% kod *C. annua*. Što se predstavnika roda *Halomonas* tiče, istaknute vrste u mikrobiomu *S. europaea* su *Halomonas desiderata-nitritophilus* (1,84%) i *Halomonas nitritophilus* (5,06%), dok kod *C. annua* dominira vrsta *H. songnenensis* (1,04%).

S. maritima i *C. annua* dele prisustvo nekoliko zajedničkih vrsta: *Hydrogenophaga bisanensis-pseudoflava*, *Altererythrobacter* sp. 47512-sp. 47559, *Paracoccus tibetensis*, *Jonesia denitrificans-quinghaiensis*, *Pelagibacterium* sp. 43642, dve vrste roda *Rhizobium* (*Rhizobium leguminosarum* i *Rhizobium rosettiformans-vitis*), *Luteimonas aestuarii*, i *Oceanisphaera* sp. 56188, sa zastupljenošću 1-4% sa izuzetkom *Oceanisphaera* sp. 56188 (4,24% kod *S. maritima*) (Prilog 9.1, Tabela P12). Istaknute vrste kod *S. europaea* su: *Isoptericola halotolerans* (5,52%) i *Promicromonospora* sp. 7297 (2,53%) koje pripadaju klasi Actinobacteria kao i *Labrenzia alba* (2,99%) i *Nitriliruptoria Euzebya* sp. 10628 (2,76%) koje pripadaju klasi Alphaproteobacteria. Mikrobiom korena *S. maritima* sadrži 2,57% *Rheinheimera aquimaris* (klasa Gammaproteobacteria) dok *C. annua* mikrobiom čini 2,52% *Exiguobacterium aurantiacum-mexicanum* (klasa Bacilli) (Prilog 9.1, Tabela P12).

5.2. Kolekcija bakterija

Za izolaciju i formiranje kolekcije bakterija tradicionalnim pristupom kultivacije, odabrana su dva kriterijuma - halotolerancija i produkcija enzima ACC deaminaze. Primenom obe metode izolovano je i morfološki okarakterisano ukupno 87 bakterijskih izolata.

5.2.1. Kolekcija bakterija izolovanih po principu halotolerancije - HAL kolekcija

Na podlozi sa dodatkom NaCl, dobijeno je ukupno 72 izolata. Mikromorfološke i makromorfološke odlike čistih bakterijskih kultura su predstavljene u Tabeli 16.

Iz uzoraka zemljišta je dobijeno 18 izolata. Najveći broj zemljišnih izolata su Gram pozitivne bakterije (Gp) (88,8%) dok su samo dva izolata Gram negativne (Gn), pokretne, štapićaste bakterije. Najveći broj Gp bakterija su nepokretne koke (66,6%) dok su četiri izolata štapićaste, sporogene i pokretne bakterije. Nijedan izolat iz zemljišta ne produkuje pigmente.

Iz uzoraka rizosfere dobijeno je devet halotolerantnih izolata, od kojih je po jedan iz rizosfere *A. santonicum*, *P. schwarzenbergiana*, *S. maritima* i *S. europaea*, dva iz rizosfere *L. gmelinii*, a tri izolata iz rizosfere *C. annua*. Rizosferni izolati su Gn štapići, sa izuzetkom izolata 3.1., Gp kokobacila. Sve bakterije izolovane iz rizosfere su pokretne, asporogene i više od polovine izolata se odlikuje kolonijama žute ili narandžaste pigmentacije.

Tabela 16: Kolekcija bakterija izolovanih po principu halotolerancije - HAL kolekcija, morfološke odlike

Poreklo izolata		Oznaka izolata	Bojenje po Gramu i oblik ćelije	Pokretljivost	Prisustvo	Izgled kolonija	Pigmentisanost kolonija
Zemljište	Z1	1Z1	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z1	2Z1	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z1	3Z1	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z1	6Z1	G- štapići	+	-	sitne, nepravilne, sjajne, prozirne	-
	Z2	2Z2	G+ štapići krupni	+	+	krupne, nepravilnih ivica, sjajne, ispupčene	-
	Z2	3Z2	G- štapići	+	-	okrugle, sitne, mlečno bele, sjajne, ispupčene	-
	Z2	4Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z2	5Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z2	6Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z2	7Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z2	8Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z2	9Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z2	10Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z2	11Z2	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z3	1Z3	G+ koke	-	-	sitne, neprovidne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	Z3	4Z3	G+ štapići krupni	+	+	krupne, sjajne kolonije, u sredini ispupčene, nepravilnih ivica	-
	Z3	5Z3	G+ štapići krupni	+	+	krupne, nepravilnih ivica, sjajne u nivou podloge kolonije	-
	Z3	6Z3	G+ štapići krupni	+	+	krupne okrugle kolonije sjajne, neprovidne, nepravilnih ivica	-
Rizosfera	<i>A. santonicum</i>	1.1.	G- sitni štapići	+	-	sitne, okrugle, staklaste, sjajne, svetlije na obodu	-
	<i>L. gmelinii</i>	2.1.2.	G-štapići	+	-	nepravilnog oblika, krupne, u novou podloge	-
	<i>L. gmelinii</i>	2.1.1.	G-štapići	+	-	okrugle, sitne, bele, neprovidne, ispupčene	-
	<i>P. schwarzenbergiana</i>	3.1.	G+ kokobacili	+	-	okrugle, sitne, u nivou podloge, sjajne, neprovidne	N
	<i>S. maritima</i>	6.1.	G- štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sluzave, sjajne, pravilnih ivica	N
	<i>C. annua</i>	7.1.	G- dugi štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sluzave, sjajne, pravilnih ivica	Ž
	<i>C. annua</i>	7.2.	G- štapići u lancima	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
	<i>C. annua</i>	7.3.	G- štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sluzave, sjajne, pravilnih ivica	N
	<i>S. europaea</i>	8.2.	G- sitni štapići	+	-	sjajne, ispupčene, staklaste, prozirne	-
Endorizosfera	<i>L. gmelinii</i>	10.2.	G- štapići	+	-	krupne, okrugle, ispupčene, masno sjajne, krem boje	-
	<i>L. gmelinii</i>	10.3.	G+ filamentozni	-	+	sitne okrugle bele u podlozi rastu	-
	<i>L. gmelinii</i>	10KX1	G+ koke krupne	-	-	sitne, sjajne, okrugle, ispupčene	-
	<i>L. gmelinii</i>	10K2	G+ krupni štapići	-	+	okrugle, sjajne, ispupčene, neprovidne, svetlijih oboda, krem boje	-
	<i>L. gmelinii</i>	10K3	G+ krupni štapići	+	+	okrugle, sjajne, ispupčene, neprovidne, svetlijih oboda, krem boje	-
	<i>L. gmelinii</i>	10K6	G+ krupni štapići	+	+	okrugle, sjajne, ispupčene, neprovidne, svetlijih oboda, krem boje	-
	<i>P. schwarzenbergiana</i>	11.1.	G- štapići	-	-	sitne, rastu u podlozi, braon na sredini	-
	<i>P. schwarzenbergiana</i>	11.2.	G- dugi štapići	-	-	sitne, bele, rastu u podlozi	-
	<i>P. schwarzenbergiana</i>	11K2	G+ štapići	+	-	okrugle, sitne, sjajne, narandžaste	N
	<i>A. eupatoria</i>	12K1	G- štapići	-	-	sitne, bele, okrugle, sjajne, ispupčene	-
	<i>A. eupatoria</i>	12.2.	G+ štapići	-	-	krupne, okrugle, pravilne, ispupčene na sredini, krem boje	-

<i>A. eupatoria</i>	12KX1	G+ štapići	+	-	sitne, okrugle, ispupčene, sjajne	N
<i>H. geniculatum</i>	13K3	G+štapići	+	+	krupne, nepravilnog oblika, sjajne, neprovidne, u nivou podloge	-
<i>H. geniculatum</i>	13K5	G+štapići	+	+	krupne, nepravilnog oblika, sjajne, neprovidne, u nivou podloge	-
<i>H. geniculatum</i>	13K6	G+štapići	+	+	sitne, nepravilnog oblika, ispupčene, sjajne, neprovidne	-
<i>H. geniculatum</i>	13K1	G+štapići u lancima	+	+	krupne, okrugle, sjajne, neprovidne, u nivou podloge	-
<i>H. geniculatum</i>	13KX2	G+ koke	-	-	okrugle, neprovidne, masno sjajne, ispupčene	-
<i>H. geniculatum</i>	13.1.	G+ koke sitne	-	-	sitne, mlečno bele, nepravilne, ispupčene	-
<i>S. maritima</i>	14.1.	G- štapići	+	-	krupne, okrugle, beličaste, pravilne, svetlijeg oboda	-
<i>S. maritima</i>	14.2.	G+ kokobacili	-	-	sitne, okrugle, ispupčene, krem boje	-
<i>S. maritima</i>	14.3.	G+ koke	+	-	sitne, okrugle, sjajne, ispupčene, pravilnih ivica, narandžaste	N
<i>S. maritima</i>	14.5.	G+ koke	+	-	sitne, okrugle, sjajne, ispupčene, pravilnih ivica, narandžaste	N
<i>S. maritima</i>	14KX2	G- štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>S. maritima</i>	14KX3	G-štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sluzave, sjajne, pravilnih ivica	N
<i>S. maritima</i>	14KX1	G-štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sluzave, sjajne, pravilnih ivica	N
<i>C. annua</i>	15K2	G+ koke	+	-	nepravilnog oblika, krupne, glatke	Ž
<i>C. annua</i>	15K12	G- štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>C. annua</i>	15K13	G- štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>C. annua</i>	15K14	G- štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>C. annua</i>	15.2.	G- štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>C. annua</i>	15KX10	G- štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>C. annua</i>	15KX11	G- štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>S. europaea</i>	16K1	G+ štapići	+	-	sitne, okrugle, neprovidne, pravilne ivice	-
<i>S. europaea</i>	16.1.	G- štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sjajne, sluzave, pravilnih ivica	N
<i>S. europaea</i>	16.2.	G-štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sjajne, sluzave, pravilnih ivica	N
<i>S. europaea</i>	16.3.	G-štapići	-	-	nepravilnog oblika, glatke, sjajne, sluzave, pravilnih ivica	N
<i>S. europaea</i>	16.4.	G+štapići u lancima	+	+	glatke, sitne, okrugle, pravilnih ivica, beličaste	-
<i>S. europaea</i>	16K2	G-štapići	+	-	krupne, okrugle, ispupčene, pravilnih ivica	Ž
<i>S. europaea</i>	16K3	G-štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	N
<i>S. europaea</i>	16K5	G-štapići	+	-	krupne, okrugle, ispupčene, pravilnih ivica	Ž
<i>S. europaea</i>	16K6	G-štapići	-	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>S. europaea</i>	16K7	G-štapići	+	-	okrugle, sjajne, glatke, sluzave, pravilne ivice	Ž
<i>S. europaea</i>	16KX1	G-štapići	+	-	nepravilnog oblika, glatke, sjajne, sluzave	N
<i>S. europaea</i>	16KX2	G-štapići	+	+	glatke, sitne, okrugle, pravilnih ivica, u podlozi	Ž
<i>S. europaea</i>	16KX3	G-štapići	+	-	krupne, okrugle, sjajne, glatke, nepravilnih ivica	N

+ - pozitivno; - - negativno; N - narandžast; Ž - žut

Iz uzoraka korena (endorizosfera), dobijeno je ukupno 45 izolata, od čega najveći broj (13) iz korena *S. europaea*, zatim po sedam iz korena *S. maritima* i *C. annua*, po šest iz *L. gmelinii* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i najmanji broj iz korena *P. schwarzenbergiana* i *A. eupatoria* (po tri). Više od polovine kolekcije endofita pripada Gn bakterijama. Polovina od ukupno 20 Gp edorizosfernih izolata produkuje spore. Većina izolata je pokretna (75,5%) dok je produkcija pigmenata zabeležena kod 25 endofita (55,5%).

5.2.2. Kolekcija bakterija izolovanih po principu produkcije ACC deaminaze - ACC kolekcija

Izolacijom bakterija koje pokazuju sposobnost rasta na DF podlozi sa dodatkom ACC kao jedinog izvora azota dobijeno je ukupno 15 izolata (iz zemljišta dva, iz rizosfere tri i iz endorizosfere deset izolata). Morfološke odlike izolata su prikazane u Tabeli 17. Svi izolati su Gn, većina je štapićastog oblika dok trećina ima oblik kokobacila. Pet izolata je pokretno, a među izolatima nije zabeležena produkcija spora niti pigmenata.

Tabela 17. Kolekcija bakterija izolovanih po principu produkcije ACC deaminaze - ACC kolekcija, morfološke odlike

Poreklo izolata		Oznaka izolata	Bojenje po Gramu i oblik ćelija	Pokretljivost	Izgled kolonija
Zemljište	Z1	ACCZ1	G- štapići	-	sitne, okrugle, sjajne, blago ispupčene, providne
	Z2	ACCZ3	G- štapići	+	nepravilnih ivica, rizoidne, u novou podloge, neprovidne
Rizosfera	<i>L. gmelinii</i>	2A1	G- kokobacili	-	sitne, okrugle, glatke, u nivou podloge, providne
	<i>L. gmelinii</i>	2A2	G- sitni štapići	-	sitne, okrugle, u novou podloge, glatke, sjajne, neprovidne
	<i>C. annua</i>	7A1	G- štapići	+	krupne, nepravilne, ispupčene, sjajne, staklaste
Endorizosfera	<i>A. santonicum</i>	9A3	G- kokobacili	-	sitne, okrugle, ispupčene, sjajne, neprovidne, kremasto bele boje
	<i>A. santonicum</i>	9A4	G- štapići	-	nepravilnih ivica, rizoidne, u novou podloge, staklasti odsjaj
	<i>H. geniculatum</i>	13A1	G- štapići	-	sitne, okrugle, sjajne, u novou podloge, neprovidne
	<i>H. geniculatum</i>	13A4	G- štapići	-	okrugle, sjajne, sluzave, ispupčene, neprovidne, beličaste
	<i>H. geniculatum</i>	13A5	G- kokobacili	-	sitne, sjajne, sluzave kolonije, ispupčene, neprovidne, beličaste
	<i>S. maritima</i>	14A2	G- kokobacili	-	sitne, okrugle, sjajne, ispupčene, neprovidne, beličaste
	<i>S. maritima</i>	14A5	G- kokobacili	-	sitne, okrugle, sjajne, sluzave, blago ispupčene, neprovidne, beličaste
	<i>C. annua</i>	15A1	G- sitni štapići	+	sitnije, okrugle, ispupčene, sjajne, glatke, neprovidne
	<i>C. annua</i>	15A2	G- štapići	+	sitnije, okrugle, ispupčene, sjajne, glatke, neprovidne
	<i>S. maritima</i>	16A1	G- štapići	+	krupne, glatke, sjajne kolonije, u nivou podloge, neprovidne

+ - pozitivno; - - negativno;

5.3. Karakterizacija izolata

Izvršena je karakterizacija svih izolata iz ACC kolekcije. Iz grupe halotolerantnih bakterija odbačeni su izolati koji su pokazivali morfološki jednaka svojstva (duplikati) i za dalju karakterizaciju odabrano je 43 izolata, od čega 12 zemljišnih, 9 rizosfernih i 22 endofitna.

5.3.1. Ekološke karakteristike izolata

U ovoj fazi ispitivanja, određen je odnos endofitnih, rizosfernih i zemljišnih izolata prema povišenoj koncentraciji NaCl i temperaturi. Testirana je sposobnost rasta bakterija u opsegu pH vrednosti 5-10, uz prisustvo 3% NaCl, što je koncentracija soli koju tolerišu sve odabrane bakterije.

5.3.1.1. Ekološke karakteristike izolata iz zemljišta

Zemljišni izolati iz ACC kolekcije ne tolerišu visoke koncentracije NaCl u podlozi i rastu u uslovima kisele do neutralne pH. Gp koke su pokazale izuzetan stepen halotolerancije (do 20% NaCl), pri čemu su izolati 10Z2 i 1Z3 zadržali sposobnost rasta i na 22% NaCl u podlozi. Što se pH vrednosti tiče, rast izolovanih koka iz zemljišta izostaje ili je slab u kiseljoj sredini, dok je u baznim uslovima intenzivniji. Najširi opseg tolerancije prema testiranim pH vrednostima pokazali su izolati 2Z2, 3Z2 kao i sporogeni Gp štapići 4Z3, 5Z3 i 6Z3 sa sposobnošću rasta u opsegu pH 5-10 (Tabela 18b).

Tabela 18a: Ekološke odlike izolata iz zemljišta

Poreklo izolata	Oznaka izolata	Metod izolacije	NaCl tolerancija (%)									
			3	5	7	10	12	15	16	18	20	
Z1	ACCZ1	ACC	++									
	1Z1	HAL	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	
	3Z1	HAL	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	
	6Z1	HAL	+++	++	+							
Z2	2Z2	HAL	+++	+++	++	++						
	3Z2	HAL	+++	++	+							
	5Z2	HAL	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	+	
	10Z2	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	
	11Z2	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	
Z3	1Z3	HAL	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	
	4Z3	HAL	++	++	+	+						
	5Z3	HAL	+++	+++								
	6Z3	HAL	+++	++	++	+	+					
	ACCZ3	ACC	++									

/ - odsustvo rasta; +/- veoma slab rast; + - slab rast; ++ - dobar rast; +++ - odličan rast; * 10Z2 i 1Z3 imaju sposobnost rasta i pri 22% NaCl u podlozi; kriterijum izolacije: ACC - izolovani kao ACC deaminaza produkujući (ACC kolekcija); HAL - izolovani po kriterijumu halotolerancije (HAL kolekcija);

Tabela 18b: Ekološke odlike izolata iz zemljišta

Poreklo izolata	Oznaka izolata	Metod izolacije	pH (u prisustvu 3%NaCl)						Temperatura (°C)							
			5	6	7	8	9	10	4	20	25	30	35	40	45	50
Z1	ACCZ1	ACC	+	++	+	/	/	/	/	+/	++	+++	++	/	/	/
	1Z1	HAL	/	+/	+	+	+	+	/	/	+	+	+	+	+	/
	3Z1	HAL	/	+/	+	++	++	+	/	/	+	+	+	+	+	+
	6Z1	HAL	/	+/	+	+	+	+	/	+	+	+	+	+/	/	/
Z2	2Z2	HAL	+	+	+	+	++	+	/	/	+	+	+	+	+	/
	3Z2	HAL	+	++	+	+	+/	+/	+	+	+	++	+	+	+	/

	5Z2	HAL	/	+	+	+	++	+	/	/	+	+	+	+	+	+	/
	10Z2	HAL	/	+/	+	+	++	+	/	+	+	+	+	+	+	+	/
	11Z2	HAL	/	+	+	+	++	+	/	+	+	+	+	+	+	+	/
Z3	1Z3	HAL	/	+	+	+	+	+	/	/	+	+	+	+	+	+	/
	4Z3	HAL	+	+	+	+	++	+/	/	+	+	+	+++	+	+	+	+
	5Z3	HAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+++	+	+	+	/
	6Z3	HAL	+	++	++	+	+	+/	+	+	+	++	++	+	+	+	/
	ACCZ3	ACC	+	++	+	+/	/	/	/	+/	+	+++	++	/	/	/	/

/ - odsustvo rasta; +/- veoma slab rast; + - slab rast; ++ - dobar rast; +++ - odličan rast; kriterijum izolacije: ACC - izolovani kao ACC deaminaza produkujući (ACC kolekcija); HAL - izolovani po kriterijumu halotolerancije (HAL kolekcija);

Izolati ACC kolekcije rastu u opsegu 20-35°C sa optimumom na 30°C. Gp koke ne rastu na 4°C, ali rastu na temperaturi od 45°C. Maksimalna temperatura rasta među svim izolovanim bakterijama je 50°C, zabeležena kod izolata 3Z1 i 4Z3. Izolati 3Z2, 5Z3 i 6Z3 su pokazali sposobnost rasta u najširem temperaturnom opsegu (4-45°C) sa optimumom na 30°C (Tabela 18b).

5.3.1.2. Ekološke karakteristike rizosfernih bakterija

Rizosferni izolati iz ACC kolekcije pokazuju najmanju toleranciju na prisustvo soli u podlozi (do 3%), sa izuzetkom 2A2 koji slabo raste pri 5% NaCl (Tabela 19a). Za razliku od HAL endofita, rizosferni izolati HAL kolekcije tolerišu niže koncentracije NaCl. Najveći broj izolata (75%) raste pri 7% NaCl, 33% raste pri 15% NaCl, dok samo dva izolata 7.1 i 7.2 imaju sposobnost rasta na 18% NaCl u podlozi.

Rizosferni izolati se međusobno razlikuju u pogledu tolerancije testiranih pH vrednosti. Najveći broj izolata pokazuje sposobnost rasta u kiselj sredini pri pH 5 (75%), dok ograničen broj raste u izrazito baznim uslovima pri pH 10 (Tabela 19b). Izolati 3.1, 7.1 i 7.2 pokazali su najširi opseg tolerancije i rasli su u uslovima svih testiranih pH vrednosti.

Tabela 19a: Ekološke karakteristike rizosfernih izolata

Poreklo izolata	Oznaka izolata	Metod izolacije	NaCl tolerancija (%)									
			3	5	7	10	12	15	16	18	20	
<i>A. santonicum</i>	1.1.	HAL	+++	+++	+	/						
<i>L. gmelinii</i>	2A1	ACC	++	/								
	2A2	ACC	++	+	/							
	2.1.2	HAL	+++	+++	++	/						
	2.1.1	HAL	+++	+++	+	/						
<i>P. schwarzenbergiana</i>	3.1.	HAL	+++	+++	++	++	+	/				
<i>S. maritima</i>	6.1.	HAL	+++	+++	+++	++	++	++	+	/		
<i>C. annua</i>	7.1.	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	/	

	7.2.	HAL	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	/
	7.3.	HAL	+++	+++	+++	++	+	+	/		
	7A1	ACC	++	/							
<i>S. europaea</i>	8.2	HAL	++	++	+	/					

/ - odsustvo rasta; +/- veoma slab rast; + - slab rast; ++ - dobar rast; +++ - odličan rast; kriterijum izolacije: ACC - izolovani kao ACC deaminaza produkujući (ACC kolekcija); HAL - izolovani po kriterijumu halotolerancije (HAL kolekcija);

Tabela 19b: Ekološke karakteristike rizosfernih izolata

Poreklo izolata	Oznaka izolata	Metod izolacije	pH (+3% NaCl)							Temperatura °C							
			5	6	7	8	9	10		4	20	25	30	35	40	45	50
<i>A. santonicum</i>	1.1.	HAL	++	++	+	++	+/	/		+	+	+	++	++	+	+	/
<i>L. gmelinii</i>	2A1	ACC	/	++	+	/	/	/		/	+	+	+++	+++	+	/	/
	2A2	ACC	+	+	+	+	+	/		/	+	+	+++	+/	/	/	/
	2.1.2	HAL	+++	++	+	+/	/	/		+	+	+	++	+	/	/	/
	2.1.1	HAL	++	++	+	+	+/	/		/	+	+	++	+	/	/	/
<i>P. schwarzenbergiana</i>	3.1.	HAL	++	++	++	++	++	++		/	+/	+	++	++	++	+	/
<i>S. maritima</i>	6.1.	HAL	+++	+	+	/	/	/		+	+	+	++	+/	/	/	/
<i>C. annua</i>	7.1.	HAL	+	+	+	+	+	+		/	+	+	++	+	/	/	/
	7.2.	HAL	+	+	++	++	++	+++		+/	+	+	++	+	/	/	/
	7.3.	HAL	/	++	+	+	+/	/		+/	+	+	++	+/	/	/	/
	7A1	ACC	/	/	+	++	++	/		++	++	++	+++	+/	/	/	/
<i>S. europaea</i>	8.2	HAL	+	++	+	+	+	/		/	+	+	++	++	+/	/	/

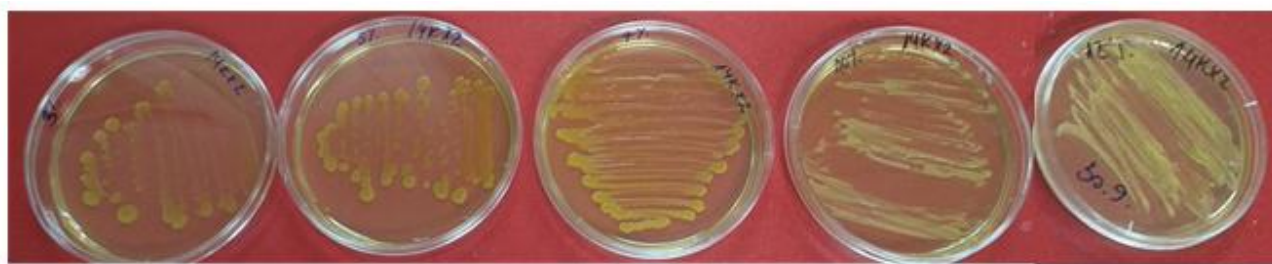
/ - odsustvo rasta; +/- veoma slab rast; + - slab rast; ++ - dobar rast; +++ - odličan rast; kriterijum izolacije: ACC - izolovani kao ACC deaminaza produkujući (ACC kolekcija); HAL - izolovani po kriterijumu halotolerancije (HAL kolekcija);

Što se odnosa prema temperaturi tiče, 50% izolata može da raste na 4°C dok samo dva izolata rastu na 45°C. Izolat 1.1 ima sposobnost rasta u najširem opsegu temperatura 4-45°C. Nijedan izolat nije rastao na temperaturi od 50°C.

5.3.1.3. Ekološke karakteristike endorizosfernih bakterija

Endofitni izolati se međusobno razlikuju u pogledu opsega halotolerancije (Tabela 20a). Svi imaju sposobnost da rastu na HA podlozi bez dodatnog NaCl. Izolati koji pripadaju ACC kolekciji endofita uglavnom tolerišu do 3% NaCl, osim izolata 13A4 koji može da raste i sa 5% NaCl u podlozi. Endofite HAL kolekcije, mogu da rastu u prisustvu znatno većih koncentracija soli (Slika 12).

Svi izolati ove kolekcije endofita imaju sposobnost rasta na 10% NaCl, dok 31,8% zadržava rast i na 18% NaCl. Izolati 16.4 i 16KX2 imaju sposobnost rasta i na podlogama sa 20 i 25% dodatog NaCl.



Slika 12: Rast izolata 14KX2 pri različitim koncentracijama NaCl u podlozi (hranjivi agar sa 3, 5, 7, 10 i 12% NaCl, redom s leva na desno).

Opsezi tolerancije pH vrednosti sredine među izolovanim endofitima dosta se razlikuju (Tabela 20a). Endofitni izolati sa sposobnošću produkcije ACC deaminaze bolje rastu u kiseljoj do neutralnoj sredini i nemaju mogućnost rasta pri pH 9 i 10. Najveći broj izolovanih endofita raste u kiseljoj sredini pri pH 5 i 6 (76%), dok 50% izolata ima mogućnost tolerancije najviših testiranih pH vrednosti. Trećina testiranih endofita ima širok opseg tolerancije prema pH sredine i rastu pri svim testiranim pH vrednostima.

U odnosu prema temperaturi: 62,5% izolata raste na temperaturi od 4°C dok 37,5% raste na 45°C. Najtolerantniji izolati 14KX2, 16.4, 16K5, 16KX1, 16KX2 i 16KX3 rastu u čitavom opsegu testiranih temperatura 4-45°C (Tabela 20b). Nijedan izolat nije rastao pri temperaturi od 50°C.

Tabela 20a. Ekološke karakteristike endofita

Poreklo izolata	Oznaka izolata	Kriterijum izolacije	NaCl tolerancija (%)									
			3	5	7	10	12	15	16	18	20	
<i>A. santonicum</i>	9A3	ACC	++	/	/	/	/	/	/	/	/	
	9A4	ACC	++	/	/	/	/	/	/	/	/	
<i>L. gmelinii</i>	10.2.	HAL	++	+++	+++	+	/	/	/	/	/	
<i>P. schwarzenbergiana</i>	11K2	HAL	+++	+++	++	+	+	/	/	/	/	
<i>A. eupatoria</i>	12KX1	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	/	/	/	
<i>H. geniculatum</i>	13K5	HAL	+++	+++	+++	+	/	/	/	/	/	
	13K6	HAL	+++	+++	+++	++	+	+	/	/	/	
	13A1	ACC	+++	/	/	/	/	/	/	/	/	
	13A4	ACC	+++	++	/	/	/	/	/	/	/	
	13A5	ACC	+++	/	/	/	/	/	/	/	/	
<i>S. maritima</i>	14A2	ACC	++	/	/	/	/	/	/	/	/	
	14A5	ACC	++	/	/	/	/	/	/	/	/	
	14.2.	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	/	
	14KX2	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	/	
	14KX3	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	/	
	14KX1	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	/	/	
<i>C. annua</i>	15A1	ACC	++	/	/	/	/	/	/	/	/	
	15A2	ACC	++	/	/	/	/	/	/	/	/	
	15K2	HAL	+++	+++	+++	+++	+	+	+	/	/	
	15K13	HAL	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	/	
	15.2.	HAL	+++	+++	+++	+++	++	/	/	/	/	
	15KX10	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	/	/	
<i>S. europaea</i>	16A1	ACC	++	/	/	/	/	/	/	/	/	
	16.1.	HAL	++	+++	+++	++	++	+	+	/	/	
	16.2.	HAL	+++	+++	+++	++	++	+	+	/	/	
	16.4.	HAL	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	
	16K2	HAL	++	+++	+++	++	++	+	+	/	/	
	16K5	HAL	++	++	+++	++	++	+	+	+	/	
	16K7	HAL	+++	+++	+++	+++	++	+	+	/	/	
	16KX1	HAL	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	/	
	16KX2	HAL	++	++	+++	+++	+++	++	+	+	+	
	16KX3	HAL	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	/	

/ - odsustvo rasta; +/- veoma slab rast; + - slab rast; ++ - dobar rast; +++ - odličan rast; *16.4. i 16KX2 imaju sposobnost rasta i na 25%; kriterijum izolacije: ACC - izolovani kao ACC deaminaza produkujući (ACC kolekcija); HAL - izolovani po kriterijumu halotolerancije (HAL kolekcija);

Tabela 20b. Ekološke karakteristike endofita

Poreklo izolata	Oznaka izolata	Kriterijum izolacije	pH (uz 3% NaCl)						Temperatura (°C)							
			5	6	7	8	9	10	4	20	25	30	35	40	45	50
<i>A. santonicum</i>	9A3	ACC	/	++	+	+	+/	/	+/	+	++	+++	+++	+/	/	/
	9A4	ACC	+	++	+	++	/	/	/	+/	++	+++	+++	+	/	/
<i>L. gmelinii</i>	10.2.	HAL	+	+	+	+	+	/	/	+	+	++	+	+	+	/
<i>P. schwarzenbergiana</i>	11K2	HAL	+	++	+	+	/	/	/	+/	+	+	+	+	+	/
<i>A. eupatoria</i>	12KX1	HAL	+	++	+	+	/	/	/	+	+	++	+	+	+	/
<i>H. geniculatum</i>	13K5	HAL	+	++	+	+	+	+	/	+/	++	++	+	+	+	/
	13K6	HAL	+	+	+	+	+	+	/	+	++	++	+	+	+	/
	13A1	ACC	+	++	+	+	/	/	+	+	++	+++	+++	+	/	/
	13A4	ACC	+	+	++	+	/	/	/	+	++	+++	+++	++	/	/
	13A5	ACC	+	+	+	+/	/	/	+/	+	++	+++	+++	+	/	/
<i>S. maritima</i>	14A2	ACC	+	++	+	+	/	/	/	+	++	+++	+++	++	/	/
	14A5	ACC	+	++	+	+	/	/	/	+	++	+++	+++	++	+/	/
	14.2.	HAL	/	++	+	+	+	+	/	+	+	+	+	+	+/	/
	14KX2	HAL	+	+	+	+	+	++	+	+	++	++	+	+	+/	/
	14KX3	HAL	/	+	+	+	+	++	+	+	+	+	/	/	/	/
<i>C. annua</i>	14KX1	HAL	/	+	+	++	++	++	+	+	+	+	/	/	/	/
	15A1	ACC	+	++	+	+	/	/	++	++	++	+++	+++	+/	/	/
	15A2	ACC	+	+	+	+	/	/	++	++	++	+++	+++	+/	/	/
	15K2	HAL	/	+	+	+	+	++	+/	+	+	+	+	+	/	/
	15K13	HAL	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/	/
<i>S. europaea</i>	15.2.	HAL	+	++	++	+	+	+	/	+/	+	+	+	+	/	/
	15KX10	HAL	/	+	+	+	+	++	/	+	+	+	+	+	/	/
	16A1	ACC	+	++	++	+	/	/	+++	+++	+++	+++	++	+	/	/
	16.1.	HAL	+	+	+	/	/	/	+	+	+	++	+	/	/	/
	16.2.	HAL	++	+	+	/	/	/	+	+	++	++	/	/	/	/
	16.4.	HAL	+	+	+	+	+	+	+/	+	+	++	+	+	+	/
	16K2	HAL	+	++	+	+	+/	+/	+	+	+	++	+	+	/	/
	16K5	HAL	++	+	+	+	+/	+/	+/	+	++	++	+	+	+	/
	16K7	HAL	+	+	+	+	+	+	+/	+	+	++	+	+	/	/
	16KX1	HAL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+/	/
	16KX2	HAL	++	+	+	+	+	+/	+/	+	+	++	+	+	+	/
	16KX3	HAL	++	+	+	+	+	+/	+	+	+	++	+	+	/	/

/ - odsustvo rasta; +/- veoma slab rast; + - slab rast; ++ - dobar rast; +++ - odličan rast; *16.4. i 16KX2 imaju sposobnost rasta i na 25%; kriterijum izolacije: ACC - izolovani kao ACC deaminaza produkujući (ACC kolekcija); HAL - izolovani po kriterijumu halotolerancije (HAL kolekcija);

5.3.2 Svojstva stimulacije biljnog rasta (PGP svojstva) kolekcije odabranih izolata

Dalja karakterizacija uključila je ispitivanje svojstava stimulacije biljnog rasta odabranih izolata, pri čemu je utvrđena sposobnost produkcije IAA, amonijaka, siderofora, egzopolisaharida, biofilмова, kao i solubilizacije jedinjenja fosfora, kalijuma i cinka. PGP svojstva izolata ispitivana su u prisustvu različitih koncentracija NaCl (0, 3 i 7% NaCl (w/v) ili 0 i 3% NaCl (w/v) u slučaju kada izolat nema sposobnost rasta na 7% NaCl).

5.3.2.1. PGP svojstva zemljišnih izolata

Nijedan zemljišni izolat nije pozitivan na sve testirane PGP odlike, 14,2% ispoljava sedam a najveći broj 42,85% izolata je pozitivno na šest od osam testiranih PGP odlika (Tabele 21 a i b).

Polovina izolata je pokazala sposobnost produkcije IAA u uslovima bez povišene koncentracije NaCl. Samo izolat 6Z3 je zadržao sposobnost produkcije IAA od 3,37 µg/ml IAA pri 3% NaCl. Nije zabeležena produkcija IAA pri 7% NaCl. Gp izolati 10Z2 i 1Z3 su proizveli najveće količine IAA od svih izolata iz kolekcije, 13,75 i 15,05 µg/ml, redom (Tabela 21a). Svih 14 zemljišnih izolata proizvode amonijak u uslovima bez povećane koncentracije soli, dok četiri zadržavaju ovo svojstvo pri 7% NaCl. Najveći broj izolata (78,6%) ima sposobnost stvaranja siderofora pri 0 i 3% NaCl, dok se to svojstvo zadržava kod 64,3% izolata na 7% NaCl. Svi izolati osim 6Z1, proizvode egzopolisaharide u uslovima bez dodate soli, dok samo tri od 13, zadržava osobinu na 7% NaCl. Sposobnost stvaranja biofilma registrovana je kod 85,7% bez dodatog NaCl (66,6% slabo proizvode, 8,33% umereno i 25% visoko proizvodećih izolata). Produkcija biofilma sa povećanjem koncentracije soli opada, tako da 58,33% zadržava svojstvo na 3% NaCl dok 41,6% izolata je pozitivno na 7% NaCl. Pri koncentraciji 3% NaCl svi osim 3Z2 su slabo proizvodeći, dok su na 7% svi slabo proizvodeći izolati (Tabela 21a).

Tabela 21a: Svojstva stimulacije biljnog rasta zemljišnih bakterija (produkcija IAA, amonijaka, siderofora, egzopolisaharida i sposobnost formiranja biofilma) pri različitim koncentracijama NaCl. Predstavljene su srednje vrednosti tri ponavljanja ± SD (standardna devijacija).

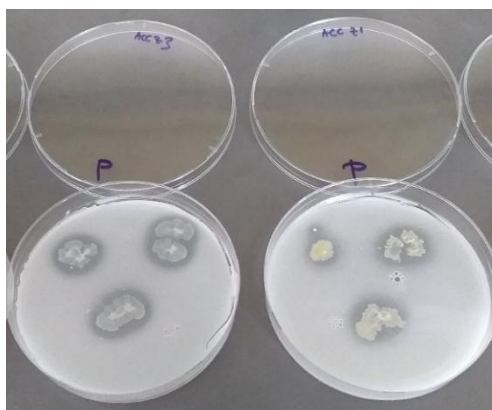
Oznaka izolata	Svojstvo stimulacije biljnog rasta													
	IAA [µg/ml]*		Amonijak		Siderofore		EPS**		Biofilm***					
	NaCl koncentracija, % (w/v)													
	03		037		037		037		03		7			
ACCZ1	-	-	+	+	/	+	+	/	+	-	/	0,328±0,114 ³	0,052±0,003 ⁰	/
1Z1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	0,401±0,177 ³	0,113±0,009 ¹	0,091±0,006 ⁰
3Z1	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	0,101±0,008 ¹	0,094±0,015 ⁰	0,094±0,06 ⁰
6Z1	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	0,105±0,046 ¹	0,092±0,008 ⁰	0,094±0,010 ⁰
2Z2	2.14±0.12	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	0,095±0,012 ⁰	0,092±0,007 ⁰	0,090±0,010 ⁰
3Z2	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	0,412±0,068 ³	0,239±0,046 ²	0,108±0,009 ¹
5Z2	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	0,100±0,010 ¹	0,118±0,047 ¹	0,098±0,008 ⁰
10Z2	13.75±0.93	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,103±0,012 ¹	0,102±0,009 ¹	0,107±0,010 ¹
11Z2	1.23±0.09	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,099±0,044 ¹	0,087±0,012 ⁰	0,088±0,016 ⁰
1Z3	15.05±1.03	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0,328±0,096 ²	0,106±0,015 ¹	0,099±0,012 ¹
4Z3	7.27±0.22	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	0,093±0,009 ⁰	0,084±0,005 ⁰	0,104±0,021 ⁰
5Z3	5.97±0.13	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	0,156±0,054 ¹	0,099±0,009 ¹	0,100±0,006 ¹
6Z3	4.21±0.18	3.37±0.10	+	-	-	+	+	+	+	+	-	0,101±0,009 ¹	0,104±0,014 ¹	0,117±0,011 ¹
ACCZ3	-	-	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,108±0,049 ¹	0,055±0,005 ⁰	/

+ - pozitivno; - - negativno; / - odsustvo rasta; * Nijedan izolat nije proizvodio IAA uz 7% NaCl u podlozi; **EPS- Egzopolisaharidi; ***Biofilm: vrednosti apsorbance na λ 630 nm; 0- nema produkcije; 1- slabo proizvode; 2- umereno proizvode; 3-visoka produkcija

Tabela 21b: Svojstva stimulacije biljnog rasta zemljišnih bakterija (sposobnost solubilizacije kalijuma, fosfata i cinka) pri različitim koncentracijama NaCl. Predstavljene su srednje vrednosti tri ponavljanja $\pm$ SD (standardna devijacija).

Oznaka izolata	Svojstvo stimulacije biljnog rasta								
	Solubilizacija kalijuma (cm)			Solubilizacija fosfata (cm)			Solubilizacija cinka (cm)		
	NaCl koncentracija, % (w/v)								
	0	3	7	0	3	7	0	3	7
ACCZ1	5,06±0,66	5,08±1,02	/	2,70±0,17	-	/	-	-	/
1Z1	-	2,98±0,23	4,33±0,38	2,53±0,04	3,0±0,2	2,92±0,25	3,25±0,35	3,58±0,52	-
3Z1	-	3,80±0,28	5,57±0,43	2,54±0,23	3,06±0,19	3,16±0,58	-	-	-
6Z1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2Z2	-	-	-	-	2,58±0,14	2,76±0,08	-	-	-
3Z2	4,33±0,58	4,81±0,41	5,24±0,66	2,36±0,13	2,48±0,04	2,68±0,16	3,40±0,23	4,0±0,2	-
5Z2	-	-	-	2,48±0,1	2,92±0,38	2,76±0,08	-	-	-
10Z2	-	-	-	-	3,08±0,14	2,86±0,34	2,58±0,18	3,22±0,38	2,88±0,29
11Z2	2,7±0,14	3,41±0,02	5,33±0,58	-	2,93±0,28	2,97±0,47	2,75±0,29	3,36±0,04	3,16±0,09
1Z3	-	-	-	-	3,08±0,25	3,0±0,21	2,4±0,13	3,03±0,29	-
4Z3	-	-	-	-	2,96±0,17	2,66±0,15	-	-	-
5Z3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6Z3	-	-	-	2,27±0,10	2,74±0,12	2,77±0,21	2,60±0,11	2,78±0,03	2,8±0,35
ACCZ3	5,00±0,83	-	/	2,45±0,17	-	/	-	-	/

- - negativno; / - odsustvo rasta; Vrednosti u tabeli predstavljaju indeks solubilizacije SI.



Slika 13: Solubilizacija fosfata sojevima iz ACC kolekcije bez dodatog NaCl. Desno - izolat ACCZ1, levo – izolat ACCZ3

Izolati 1Z1, 3Z2 i 11Z2 imaju sposobnost solubilizacije kalijuma, fosfata i cinka, pri čemu se SI indeksi uglavnom povećavaju sa porastom koncentracije NaCl u podlozi (Tabela 21b). Iz ACC kolekcije, ACCZ1 solubilizuje kalijum pri 0 i 3 % NaCl sa bliskim vrednostima SI 5,06 i 5,08, redom. Izolati 1Z1 i 3Z1 ne solubilizuju kalijum u uslovima bez povišene koncentracije soli. Dva izolata, 3Z2 i 11Z2, ističu se solubilizacijom kalijuma u prisustvu svih koncentracija soli, pri čemu se SI

indeksi povećavaju sa rastom koncentracije NaCl (Tabela 21b). Zemljišni izolati ACC kolekcije solubilizuju fosfate bez prisustva povišene koncentracije soli u podlozi (Slika 13), ali gube to svojstvo pri dodatku soli (Tabela 21b). 41,6% izolata solubilizuje fosfate pri svim testiranim koncentracijama soli, dok isto toliko izolata ne solubilizuje fosfate bez prisustva povišene koncentracije soli u podlozi (Tabela 21b). Najveći SI indeks 3,16 zabeležen je kod izolata 3Z2 pri 7% NaCl. Sposobnost solubilizacije cinka ima 42,85% testiranih zemljišnih bakterija. Cink solubilizirajuće 10Z2, 11Z2 i 6Z3 zadržavaju ovu sposobnost pri svim testiranim koncentracijama soli (Tabela 21b).

Izolati iz HAL kolekcije 3Z1, 3Z2 i 2Z2 su pokazali sposobnost rasta na DF podlozi sa dodatkom ACC.

5.3.2.2. PGP svojstva rizosfernih izolata

Testirani rizosferni izolati su pozitivni na minimalno dve PGP karakteristike u uslovima bez NaCl (Tabele 22a i 22b). Izolat 1.1. poreklom iz rizosfere *A. santonicum*, ispoljava sva testirana PGP svojstva, dok su 2A1 i 7A1 pored produkcije ACC deaminaze, pozitivni na sedam od osam testiranih PGP odlika. Kod izolata 6.1, 7.1, 7.3 i 2.1.1. sa povećanjem koncentracije soli u podlozi raste broj pozitivnih PGP svojstava.

Sposobnost produkcije IAA zabeležena je kod trećine izolata u uslovima bez NaCl, dok polovina pozitivnih izolata zadržava ovu sposobnost i u prisustvu 3% NaCl. Izolat 7.3 produkuje 3,5 µg/ml IAA samo u prisustvu 3% NaCl, dok u uslovima bez soli nema produkcije (Tabela 22a). Nijedan izolat ne produkuje IAA u uslovima 7% NaCl. Svi rizosferni izolati imaju sposobnost produkcije amonijaka, bez i sa 3% NaCl, dok 41,6% izolata zadržava tu sposobnost i na 7% NaCl. Devet od dvanaest izolata produkuje siderofore i najveći broj zadržava tu sposobnost i na najvišoj koncentraciji NaCl. Sposobnost produkcije egzopolisaharida ima 83,3% izolata testiranih bez i sa 3% NaCl. Na 7% NaCl sposobnost zadržava samo tri izolata 6.1, 7.1 i 7.3 poreklom iz rizosfere sukulenih biljaka. Biofilm stvara $\frac{3}{4}$ testiranih izolata u uslovima bez soli od kojih više od polovine zadržava tu sposobnost na 7% NaCl, pri čemu intenzitet produkcije biofilma slabi sa povećanjem koncentracije soli. U uslovima bez soli, 66,6% izolata slabo produkuje biofilm, dok je 33,3% klasifikovano kao dobri proizvođači biofilma. Pri 3 i 7% NaCl, svi pozitivni izolati slabo produkuju biofilm (Tabela 22a).

Tabela 22a: Svojstva stimulacije biljnog rasta rizosfernih bakterija (produkcija IAA, amonijaka, siderofora, egzopolisaharida i sposobnost formiranja biofilma) pri različitim koncentracijama NaCl. Predstavljene su srednje vrednosti tri ponavljanja $\pm$ SD (standardna devijacija).

Oznaka izolata	Svojstvo stimulacije biljnog rasta													
	IAA [µg/ml]*		Amonijak		Siderofore		EPS**		Biofilm***					
	NaCl koncentracija % (w/v)													
	0	3	0	3	7	0	3	7	0	3	7			
1.1.	2.07±0.04	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	0,450±0,070 ³	0,120±0,013 ¹	0,087±0,004 ⁰
2A1	2,87±0,08	-	+	+	/	-	-	/	+	+	/	0,099±0,011 ¹	0,062±0,019 ⁰	/
2A2	-	-	+	+	/	+	-	/	+	+	/	0,090±0,008 ¹	0,061±0,004 ⁰	/
2.1.2	1.29±0.01	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	0,405±0,056 ³	0,152±0,017 ¹	0,093±0,006 ⁰
2.1.1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0,098±0,011 ⁰	0,113±0,007 ¹	0,106±0,008 ¹
3.1.	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	0,092±0,014 ⁰	0,094±0,009 ⁰	0,090±0,006 ⁰
6.1.	1.62±0.10	1.36±0.07	+	+	+	+	+	+	-	+	+	0,085±0,008 ⁰	0,108±0,013 ¹	0,123±0,019 ¹
7.1.	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	0,130±0,015 ¹	0,116±0,009 ¹	0,127±0,016 ¹

7.2.	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	0,117±0,015 ¹	0,157±0,024 ¹	0,148±0,030 ¹
7.3.	-	3.5±0.09	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,123±0,009 ¹	0,176±0,021 ¹	0,117±0,013 ¹
7A1	-	-	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,066±0,012 ¹	0,076±0,024 ¹	/
8.2.	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	0,468±0,082 ³	0,094±0,007 ⁰	0,089±0,007 ⁰

+ - pozitivno; - - negativno; / odsustvo rasta; * Nijedan izolat nije produkovao IAA uz 7% NaCl u podlozi; **EPS-Egzopolisaharidi; ***Biofilm: vrednosti apsorbance na λ 630 nm; 0- nema produkcije; 1- slabo produkuje; 2- umereno produkuje; 3-visoka produkcija

Tabela 22b: Svojstva stimulacije biljnog rasta rizosfernih bakterija (sposobnost solubilizacije kalijuma, fosfata i cinka) pri različitim koncentracijama NaCl. Predstavljene su srednje vrednosti tri ponavljanja±SD (standardna devijacija).

Oznaka izolata	Svojstvo stimulacije biljnog rasta								
	Solubilizacija kalijuma (cm)			Solubilizacija fosfata (cm)			Solubilizacija cinka (cm)		
	NaCl koncentracija % (w/v)								
	0	3	7	0	3	7	0	3	7
1.1.	5,53±0,82	5,86±0,25	7,57±0,63	2,60±0,12	2,5±0,07	2,61±0,10	4,8±0,35	3,4±0,2	-
2A1	-	-	/	-	-	/	3,25±0,25	2,99±0,16	/
2A2	7,25 ±0,89	2,86±0,48	/	4,28±0,39	3,49±0,42	/	2,98±0,20	2,77±0,23	/
2.1.2.	6,04±1,20	5,60±0,11	5,10±0,51	-	-	-	-	-	-
2.1.1	2,65±0,21	3,50±0,71	4,33±0,58	-	2,28±0,06	2,53±0,12	4,80±0,14	3,76±0,18	-
3.1.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6.1.	-	4,40±0,57	5,65±0,96	-	2,58±0,17	2,53±0,12	-	4,0±0,18	4,0±0,28
7.1.	2,47±0,06	3,10±0,16	5,00±0,38	-	-	-	-	-	-
7.2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7.3.	-	4,4±0,53	7,11±1,92	-	2,45±0,21	2,67±0,08	-	-	-
7A1	6,17±0,46	3,23±0,35	/	3,12±0,23	2,88± 0,31	/	4,03±0,57	3,33±0,67	/
8.2.	5,42±1,57	5,27±0,23	4,23±0,89	-	-	-	3,96±0,38	4,27±0,29	-

+ - pozitivno; - - negativno; / - odsustvo rasta;

Polovina testiranih rizosfernih izolata pokazala je sposobnost solubilizacije kalijuma, fosfata i cinka (Tabela 22b). Iz ACC kolekcije 2A2 i 7A1 su solubilizatori kalijuma, fosfata i cinka bez i sa 3% NaCl što im je gornja granica halotolerancije. Izolat 1.1 je pozitivan u svim testovima solubilizacije i svim koncentracijama NaCl, osim solubilizacije Zn na 7% NaCl. Izolati 6.1 i 7.3 se ističu sposobnostima solubilizacije samo u prisustvu NaCl, dok su u uslovima bez soli testovi negativni.

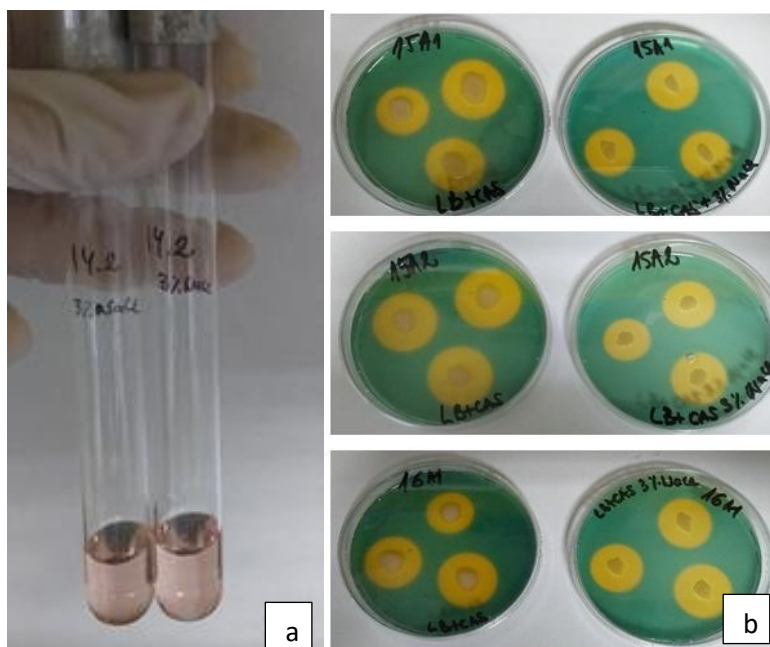
Sedam od 12 kalijum solubilizirajućih izolata ispoljava svojstvo na svim testiranim koncentracijama soli, dok se kod izolata 1.1, 2.1.1, 7.1 Si indeksi uvećavaju sa koncentracijom soli (Tabela 22b). Izolati 6.1 i 7.3 solubilizuju kalijum isključivo u prisustvu soli u podlozi, pri čemu Si indeks raste sa porastom koncentracije NaCl. Pomenuti 6.1 solubilizuje fosfate i cink na 3 i 7% NaCl u podlozi, dok 7.3 na isti način solubilizuje samo fosfate, ne i cink. Najveći indeks solubilizacije fosfata iznosi 4,28 kod izolata 2A2. Kao solubilizatori cinka, istakli su se izolati 1.1. i 2.1.1. sa Si indeksom 4,8.

Izolati iz HAL kolekcije 1.1., 2.1.1 i 8.2 su pokazali sposobnost rasta na DF podlozi sa dodatkom ACC.

5.3.2.3. PGP svojstva endorizosfernih izolata

U uslovima bez NaCl, najveći broj izolata endofita (34,3%) ispoljava četiri testirana PGP svojstva, dok je 18,75% pozitivno na sedam od osam testiranih PGP karakteristika (Tabele 23 a i b). Izolati 13A4 i 13A5 pokazuju sva testirana PGP svojstva.

Nakon gajenja u medijumu sa dodatkom L-triptofana, kod 11 endorizosfernih izolata je potvrđena sposobnost produkcije IAA (Tabela 23a). Količina izmerene IAA kretala se u opsegu od 2,10 do maksimalnih 5,0 µg/ml što je zabeleženo kod izolata 13A5. Sa povećanjem koncentracije soli, više od polovine izolata gubi sposobnost produkcije IAA. Izolat 16K2 zadržava sposobnost produkcije IAA na svim testiranim koncentracijama NaCl, sa maksimalnom produkcijom na 7% NaCl. Izolat 14.2 produkuje IAA samo u prisustvu 3% soli u podlozi (Slika 14a). Kvalitativna procena produkcije amonijaka pokazala je da 87,5% testiranih bakterija produkuje amonijak u uslovima bez NaCl i zadržava tu sposobnost na 3% NaCl, dok 25% zadržava sposobnost i na 7% NaCl. U odsustvu povišene koncentracije soli 78% endofita pokazuje svojstvo proizvodnje siderofora, dok je šest izolata zadržalo sposobnost produkcije pri obe testirane koncentracije NaCl.



Slika 14: a) Produkcija IAA kod soja 14.2 u prisustvu 3% NaCl; b) Produkcija siderofora kod endofitnih izolata 15A1, 15A2 i 16A1, bez dodatog NaCl (levo) i sa dodatkom 3% NaCl (desno).

Sposobnost produkcije egzopolisaharida pokazalo je 28 testiranih endofita, dok je 12 zadržalo tu sposobnost u prisustvu 7% NaCl. Povećanje koncentracije soli utiče na smanjenje sposobnosti formiranja biofilmove (Tabela 23a). Najveći broj izolata 93,75% sposoban je da formira biofilmove u uslovima bez NaCl od čega: 60% su slabi proizvođači biofilma, 36,6 % umereno produkujući izolati, a samo izolat ACC kolekcije 9A4 je klasifikovan kao visoko produkujući. U prisustvu 3% NaCl, 36,6% izolata zadržava sposobnost produkcije biofilma, od kojih 64% kao slabo produkujući i 36% kao umereno produkujući izolati. Pri 7% NaCl, 46,6% izolata je zadržalo sposobnost stvaranja biofilmove (od čega su 21,4% umereno biofilm produkujući) (Tabela 23a).

Devet endofitnih izolata iz ACC kolekcije je pokazalo sposobnost za solubilizaciju kalijuma, fosfata i cinka, u uslovima bez i sa 3% NaCl u podlozi što je ujedno i gornja granica njihove halotolerancije.

Među solubilizirajućim bakterijama, izolat 14A5 je imao najveće vrednosti Si za kalijum (8,64 i 5,12 na 0% i 3% NaCl, redom), fosfate (4,53 i 3,29 na 0% i 3% NaCl, redom), i cink (5,05 i 5,55 na 0% i 3% NaCl, redom) (Tabela 23b; Slika 15). Jedino endofita 14.2. iz HAL kolekcije ima sposobnost solubilizacije jedinjenja kalijuma u uslovima bez dodatnog NaCl. Među izolatima HAL kolekcije, 13K5 je fosfor i cink solubilizirajuća bakterija koja zadržava ova svojstva pri svim testiranim koncentracijama NaCl, pri čemu Si indeks za fosfor raste sa povećanjem koncentracije NaCl u podlozi.



Slika 15: Solubilizacija fosfata, cinka i kalijuma (s leva na desno) od strane 14A5 (ACC kolekcija)

Tabela 23a. Svojstva stimulacije biljnog rasta endofitnih bakterija (produkcija IAA, amonijaka, siderofora, egzopolisaharida i sposobnost formiranja biofilma) pri različitim koncentracijama NaCl. Predstavljene su srednje vrednosti tri ponavljanja $\pm$ SD (standardna devijacija).

Oznaka izolata	Svojstvo stimulacije biljnog rasta														
	IAA [μg/ml]			Amonijak			Siderofore			EPS*			Biofilm**		
	NaCl koncentracija, % (w/v)														
	0	3	7	0	3	7	0	3	7	0	3	7	0	3	7
9A3	-	-	/	+	+	/	+	-	/	+	-	/	0,133±0,052 ²	0,062±0,005 ⁰	/
9A4	-	-	/	-	-	/	+	+	/	+	+	/	0,338±0,048 ³	0,160±0,036 ²	/
10.2.	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	0,129±0,039 ²	0,201±0,047 ²	0,136±0,040 ²
11K2	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	0.102±0,019 ¹	0.073±0,010 ¹	0.053±0,004 ⁰
12KX1	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	0.054±0,004 ⁰	0.055±0,005 ⁰	0.059±0,009 ⁰
13K5	4,20±0.09	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	0.180±0,051 ²	0.074±0,017 ¹	0,079±0,007 ¹
13K6	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	0,074±0,007 ¹	0,076±0,007 ¹	0,074±0,009 ¹
13A1	-	-	/	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,118±0,015 ¹	0,058±0,006 ⁰	/
13A4	4,9±0,10	5,0±0,17	/	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,114±0,017 ¹	0,074±0,064 ¹	/
13A5	5,0±0,10	5,1±0,40	/	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,117±0,033 ¹	0,064±0,008 ¹	/
14A2	-	-	/	+	+	/	+	-	/	+	+	/	0,156±0,030 ²	0,068±0,005 ¹	/
14A5	-	-	/	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,108±0,005 ¹	0,050±0,005 ⁰	/
14.2.	-	5,0±0.23	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	0,068±0,003 ¹	0,070±0,005 ¹	0,119±0,016 ¹
14KX2	4,62±0.07	4,0±0.05	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,187±0,023 ²	0,217±0,018 ²	0,121±0,039 ¹

14KX3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,081±0,003 ¹	0,060±0,002 ⁰	0,058±0,007 ⁰
14KX1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,066±0,004 ¹	0,052±0,009 ⁰	0,050±0,004 ⁰
15A1	-	-	/	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,125±0,029 ²	0,065±0,009 ¹	/
15A2	-	-	/	+	+	/	+	+	/	+	+	/	0,100±0,036 ¹	0,057±0,004 ⁰	/
15K2	4,0±0,14	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	0,100±0,025 ¹	0,098±0,030 ¹	0,053±0,008 ⁰
15K13	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,155±0,017 ²	0,122±0,013 ²	0,116±0,013 ¹
15.2.	4,13±0,18	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	0,127±0,068 ²	0,076±0,052 ¹	0,081±0,012 ¹
15KX10	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	0,115±0,061 ¹	0,112±0,007 ¹	0,097±0,003 ⁰
16A1	-	-	/	+	+	/	+	+	/	-	-	/	0,068±0,003 ¹	0,064±0,003 ¹	/
16.1.	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	0,184±0,039 ²	0,129±0,015 ²	0,060±0,008 ⁰
16.2.	4,13±0,11	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	0,066±0,008 ¹	0,065±0,014 ¹	0,062±0,015 ¹
16.4.	4,10±0,13	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	0,103±0,041 ¹	0,167±0,041 ²	0,086±0,032 ¹
16K2	2,10±0,09	2,40±0,06	2,93±0,15	+	+	+	-	-	-	+	+	-	0,113±0,023 ¹	0,203±0,017 ²	0,127±0,014 ²
16K5	3,46±0,11	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	0,076±0,007 ¹	0,121±0,014 ¹	0,123±0,013 ¹
16K7	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	0,132±0,011 ²	0,151±0,024 ²	0,149±0,030 ²
16KX1	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0,144±0,023 ²	0,128±0,016 ²	0,093±0,024 ¹
16KX2	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	0,054±0,005 ⁰	0,118±0,021 ¹	0,056±0,006 ⁰
16KX3	4,10±0,18	2,85±0,10	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	0,104±0,014 ¹	0,100±0,012 ¹	0,120±0,018 ¹

+ - pozitivno; - - negativno; / - odsustvo rasta; *EPS- Egzopolisaharidi; **Biofilm: vrednosti apsorbance na λ 630 nm;

0- nema produkcije; 1- slabo produkuje; 2- umereno produkuje; 3-visoka produkcija.

Tabela 23b: Svojstva stimulacije biljnog rasta endofitnih bakterija (sposobnost solubilizacije kalijuma, fosfata i cinka) pri različitim koncentracijama NaCl. Predstavljene su srednje vrednosti tri ponavljanja $\pm$ SD (standardna devijacija).

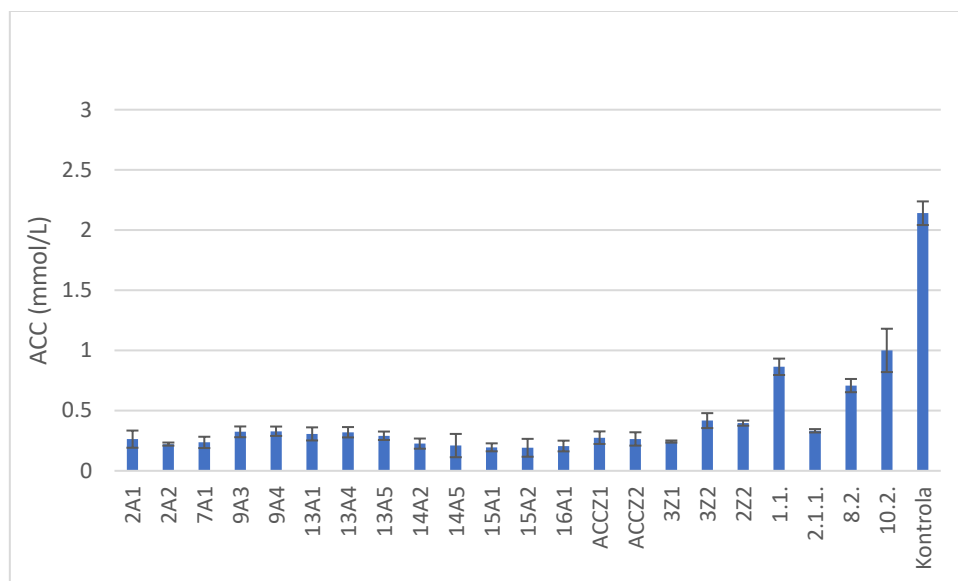
Oznaka izolata	Svojstvo stimulacije biljnog rasta								
	Solubilizacija kalijuma* (cm)		Solubilizacija fosfata (cm)			Solubilizacija cinka (cm)			
	NaCl koncentracija % (w/v)								
	0	3	0	3	7	0	3	7	
9A3	7,18±1,02	3,42±0,28	3,60±0,36	3,15±0,22	/	4,53±0,71	3,63±0,32	/	
9A4	-	-	-	-	/	-	-	/	
10.2.	-	-	-	-	-	2,43±0,13	2,64±0,18	2,70±0,29	
11K2	-	-	-	-	-	-	-	-	
12KX1	-	-	-	-	-	-	-	-	
13K5	-	-	2,55±0,25	3,25±0,25	3,47±0,06	2,32±0,08	2,17±0,11	2,12±0,16	
13K6	-	-	2,48±0,10	3,58±0,38	-	-	-	-	
13A1	5,95±0,72	3,13±0,62	3,39± 0,23	2,88±0,21	/	3,83±0,29	2,81±0,17	/	
13A4	6,22±0,66	3,08±0,14	2,44± 0,21	2,77±0,03	/	2,89±0,19	3,64±0,46	/	
13A5	6,28±0,81	3,63±1,0	2,63± 0,06	2,65±0,26	/	2,89±0,10	3,57±0,31	/	
14A2	7,39±1,22	2,58±0,34	3,40± 0,22	2,96±0,29	/	4,27±0,55	4,57±0,63	/	
14A5	8,64±0,71	5,12±1,24	4,53±0,75	3,29±0,22	/	5,05±1,04	5,55±0,69	/	
14.2.	2,92±0,144	-	-	-	-	-	-	-	
14KX2	-	-	-	-	-	-	-	-	
14KX3	-	-	-	-	-	-	-	-	
14KX1	-	-	-	-	-	-	-	-	
15A1	5,33±1,07	2,72±0,53	2,87± 0,15	-	/	4,27±0,12	2,60±0,14	/	
15A2	5,23±1,18	2,55±0,48	2,92± 0,09	2,40±0,15	/	3,10±0,33	2,76±0,14	/	
15K2	-	-	-	-	-	-	-	-	
15K13	-	-	-	-	-	-	-	-	
15.2.	-	-	-	-	-	-	-	-	
15KX10	-	-	-	-	-	-	-	-	
16A1	5,86±0,37	3,13±0,46	2,95±0,53	-	/	4,04±0,56	3,14±0,29	/	
16.1.	-	-	2.6±0,23	2,51±0,31	2.29±0,12	-	-	-	
16.2.	-	-	-	-	-	-	-	-	
16.4.	-	-	-	-	-	-	-	-	
16K2	-	-	-	-	-	-	-	-	
16K5	-	-	-	-	-	-	-	-	
16K7	-	-	-	-	-	-	-	-	
16KX1	-	-	-	-	-	-	-	-	
16KX2	-	-	-	-	-	-	-	-	
16KX3	-	-	-	-	-	-	-	-	

* Nijedan izolat nije solubilizovao kalijum u prisustvu 7% NaCl u podlozi; - - negativno; / - odsustvo rasta;

Iz HAL kolekcije, izolat 10.2 je pokazao sposobnost rasta na DF podlozi sa dodatkom ACC.

5.3.2.4. Kvantifikacija produkcije ACC deaminaze

Svi izolati iz ACC kolekcije kao i izolati iz HAL kolekcije koji su mogli da rastu na DF podlozi sa dodatkom ACC kao jedinog izvora azota su podvrgnuti ninhidrinskom testu sa ciljem potvrde i kvantifikacije aktivnosti ACC deaminaze. Kvantifikacija preostalog ACC u podlozi nakon bakterijske inkubacije izvršena je pomoću standardne krive (Prilog 9.2).



Slika 16. Koncentracija ACC u DF medijumu nakon 16h inkubacije svakog testiranog izolata (prikazane su vredosti tri ponavljanja $\pm$ SD). Kontrolu predstavlja neinokulisan DF+ACC medijum inkubiran pod istim uslovima kao i bakterije.

Koncentracije ACC u podlozi nakon inkubacije snižene su kod svih ispitivanih izolata u odnosu na početnu koncentraciju od 3 mmol/L, kao i u odnosu na kontrolu koja predstavlja neinokulisani DF+ACC medijum (Slika 12). Izmerene koncentracije ACC u podlogama su u opsegu od 0,19-1 mmol/L ACC. Najviša potrošnja ACC je izmerena kod izolata 15A1 i 15A2.

5.3.3. Test patogenosti

Kao deo karakterizacije izolata, izvršena je provera sposobnosti produkcije hemolizina i DNKaze, kao faktora patogenosti.

Tabela 24: Hemolitička i DNKazna aktivnost zemljišnih, rizosfernih i endofitnih izolata

Oznaka izolata	Hemoliza	DNKaza	Oznaka izolata	Hemoliza	DNKaza
ACCZ1	-	-	11K2	+	-
1Z1	-	+	12KX1	-	-
3Z1	+-	+	13K5	-	-
6Z1	+	-	13K6	+	+
2Z2	+-	-	13A1	-	-
3Z2	+	-	13A4	-	-
5Z2	-	-	13A5	-	-
10Z2	+	+	14A2	-	-
11Z2	-	-	14A5	-	-
1Z3	-	-	14.2.	+-	-
4Z3	-	-	14KX2	-	-
5Z3	-	-	14KX3	+-	-
6Z3	-	-	14KX1	-	-
ACCZ3	-	-	15A1	-	-
1.1.	+	+	15A2	-	-

2A1	-	-	15K2	-	-
2A2	-	-	15K13	-	-
2.1.2	-	-	15.2.	-	+
2.1.1	+	+	15KX10	-	+
3.1.	+	-	16A1	-	-
6.1.	-	-	16.1.	-	-
7.1.	-	+-	16.2.	-	-
7.2.	-	-	16.4.	-	-
7.3.	-	-	16K2	-	-
7A1	-	-	16K5	-	+
8.2	+	+	16K7	-	+
9A3	-	-	16KX1	-	-
9A4	+	-	16KX2	-	-
10.2.	-	-	16KX3	-	-

+ - pozitivna; - - negativna; +- - slaba reakcija

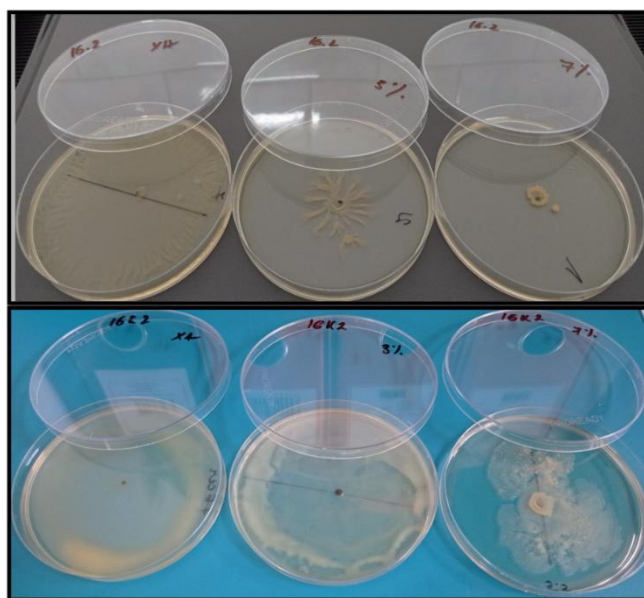
Od testiranih izolata 25% pokazalo je hemolitičke sposobnosti, dok je DNKazu aktivnost imalo 20% (Tabela 24). Sposobnost razgradnje eritrocita i DNK kao faktore patogenosti ispoljilo je 6 testiranih izolata.

5.3.4. Ispitivanje uticaja NaCl na pokretljivost i produkciju pigmenata halotolerantnih bakterija stimulatora biljnog rasta (HTPGP)

Pored uticaja NaCl na ispoljavanje PGP karakteristika odabranih izolata, ispitan je i efekat povišene koncentracije soli na pokretljivost i produkciju pigmenata.

5.3.4.1. Uticaj NaCl na pokretljivost odabranih izolata

Pokretljivost izolata ACC kolekcije se smanjuje pri 3% NaCl, što im je i gornja granica halotolerancije (Tabela 25). Najveći prečnik kolonija u ovoj kolekciji izolata imali su 15A1 i 15A2 u uslovima bez prisustva povišene koncentracije soli. Izolat 7A1, pokazuje najmanje smanjenje prečnika kolonija sa povećanjem NaCl u podlozi u ACC kolekciji.



Slika 17: Pokretljivost izolata 16.2 (gore) i 16K2 (dole) pri 0, 3 i 7% NaCl (s leva na desno).

Najveći broj bakterija iz HAL kolekcije (89,2%) zadržava sposobnost kretanja pri svim testiranim koncentracijama soli dok 10,8% gubi sposobnost kretanja u prisustvu 7% NaCl u podlozi. Povećanje koncentracije soli u podlozi dovodi do smanjenja prečnika kolonija kod 81,1% testiranih bakterija

(Slika 17). Kod 10.2, 15Kx10, 16K5, 16KX2, 16.4 i 5Z3 dolazi do povećanja prečnika kolonija na 3% NaCl, dok samo kod izolata 16.1 dolazi do povećanja prečnika kolonija na 7% NaCl (Tabela 25).

Tabela 25. Pokretljivost izolata. Prikazane su srednje vrednosti tri ponavljanja $\pm$ SD prečnika kolonija koji je posledica flagelnog kretanja

Oznaka izolata	Prečnik kolonija (cm)		
	NaCl koncentracija % (w/v)		
	0	3	7
7A1	3,43 $\pm$ 0,60	2,27 $\pm$ 0,40	/
15A1	8,07 $\pm$ 0,06	0,84 $\pm$ 0,15	/
15A2	7,93 $\pm$ 0,12	1,10 $\pm$ 0,10	/
16A1	7,87 $\pm$ 0,23	0,83 $\pm$ 0,06	/
ACCZ3	2,80 $\pm$ 0,70	0,73 $\pm$ 0,12	/
1.1	3,43 $\pm$ 0,40	1,27 $\pm$ 0,12	0,90 $\pm$ 0,10
2.1.1	3,37 $\pm$ 0,32	1,33 $\pm$ 0,17	0,87 $\pm$ 0,06
2.1.2.	3,17 $\pm$ 0,29	1,23 $\pm$ 0,15	0,97 $\pm$ 0,06
3.1	3,57 $\pm$ 0,42	2,93 $\pm$ 0,15	0,87 $\pm$ 0,06
6.1	3,50 $\pm$ 0,40	3,23 $\pm$ 0,25	1,17 $\pm$ 0,15
7.3	1,37 $\pm$ 0,21	1,33 $\pm$ 0,06	1,13 $\pm$ 0,23
7.2	7,83 $\pm$ 0,29	7,33 $\pm$ 0,35	4,33 $\pm$ 0,38
7.1	7,57 $\pm$ 0,75	5,43 $\pm$ 0,51	1,63 $\pm$ 0,40
8.2	3,50 $\pm$ 0,15	2,17 $\pm$ 0,29	1,30 $\pm$ 0,05
10.2	2,93 $\pm$ 0,50	3,20 $\pm$ 0,69	1,23 $\pm$ 0,49
11K2	3,13 $\pm$ 0,15	1,10 $\pm$ 0,10	1,03 $\pm$ 0,06
12Kx2	2,33 $\pm$ 0,29	1,23 $\pm$ 0,45	0,57 $\pm$ 0,12
13K5	3,33 $\pm$ 0,29	1,87 $\pm$ 0,31	0,83 $\pm$ 0,06
13K6	1,57 $\pm$ 0,12	1,07 $\pm$ 0,15	0,93 $\pm$ 0,12
14Kx1	3,23 $\pm$ 0,25	2,90 $\pm$ 0,20	1,37 $\pm$ 0,40
14Kx3	2,93 $\pm$ 0,12	1,97 $\pm$ 0,15	1,63 $\pm$ 0,12
14KX2	7,83 $\pm$ 0,35	7,80 $\pm$ 0,06	5,27 $\pm$ 0,64
15.2	3,67 $\pm$ 0,58	3,50 $\pm$ 0,50	2,63 $\pm$ 0,47
15K13	3,77 $\pm$ 0,25	3,00 $\pm$ 0,50	1,93 $\pm$ 0,23
15K2	1,40 $\pm$ 0,10	1,10 $\pm$ 0,26	0,73 $\pm$ 0,21
15Kx10	3,83 $\pm$ 0,29	4,00 $\pm$ 0,09	1,70 $\pm$ 0,17
16.1	1,03 $\pm$ 0,06	1,10 $\pm$ 0,17	1,47 $\pm$ 0,25
16.2	4,37 $\pm$ 0,58	2,50 $\pm$ 0,50	1,23 $\pm$ 0,25
16.4	1,37 $\pm$ 0,21	1,43 $\pm$ 0,15	1,33 $\pm$ 0,06
16K2	7,87 $\pm$ 0,23	7,00 $\pm$ 0,34	5,17 $\pm$ 0,29
16K5	3,10 $\pm$ 0,53	3,83 $\pm$ 0,29	1,27 $\pm$ 0,25
16K7	3,67 $\pm$ 0,29	2,83 $\pm$ 0,29	1,07 $\pm$ 0,12
16Kx2	1,57 $\pm$ 0,25	1,83 $\pm$ 0,15	1,20 $\pm$ 0,17
16Kx3	3,50 $\pm$ 0,50	3,30 $\pm$ 0,25	1,70 $\pm$ 0,17
16Kx1	2,30 $\pm$ 0,70	2,83 $\pm$ 0,29	1,23 $\pm$ 0,25
6Z1	3,00 $\pm$ 0,00	0,77 $\pm$ 0,21	/
2Z2	1,43 $\pm$ 0,32	0,93 $\pm$ 0,06	0,73 $\pm$ 0,15
3Z2	3,30 $\pm$ 0,44	2,97 $\pm$ 0,35	0,97 $\pm$ 0,15
4Z3	3,40 $\pm$ 0,17	1,00 $\pm$ 0,20	/
5Z3	2,40 $\pm$ 0,10	2,97 $\pm$ 0,15	/
6Z3	1,47 $\pm$ 0,06	1,17 $\pm$ 0,29	/

5.3.4.2. Uticaj NaCl na produkciju pigmenata

Ispitana je produkcija pigmenata kod 21 izolata koji formiraju obojene kolonije (Tabela 26) u uslovima različitih koncentracija NaCl. Kod trećine izolata postoji statistički značajna razlika u produkciji pigmenta pri različitim koncentracijama soli u podlozi (Tabela 26).

Tabela 26: Produkcija pigmenata nakon gajenja izolata na podlogama sa različitim koncentracijama NaCl. Vrednosti koje dele ista slova se statistički značajno ne razlikuju (Kruskal-Wallis test, post hoc test Dunn-Bonferroni $n=3$). Brojevi u tabeli predstavljaju izmerene vrednosti apsorbance pri λ 450 nm.

Oznaka izolata	NaCl koncentracija % (w/v)		
	0	3	7
3.1	0,076±0,016 ^a	0,057±0,011 ^a	0,066±0,010 ^a
6.1	0,074±0,025 ^a	0,079±0,017 ^a	0,206±0,104 ^a
7.1	0,402±0,082 ^a	0,346±0,080 ^a	0,407±0,015 ^a
7.2	0,410±0,019 ^a	0,347±0,037 ^a	0,357±0,032 ^a
7.3.	0,551±0,052 ^a	0,576±0,114 ^a	0,591±0,084 ^a
11K2	0,097±0,013 ^a	0,096±0,013 ^a	0,141±0,023 ^a
12KX1	0,250±0,042 ^a	0,188±0,021 ^{a,b}	0,119±0,012 ^b
14KX3	0,691±0,125 ^a	0,614±0,080 ^a	0,484±0,017 ^a
14KX1	0,274±0,017 ^{a,b}	0,294±0,025 ^a	0,128±0,021 ^b
14KX2	0,189±0,139 ^a	0,248±0,030 ^a	0,170±0,096 ^a
15.2	0,456±0,026 ^a	0,360±0,009 ^{a,b}	0,318±0,025 ^b
15K2	0,432±0,053 ^a	0,806±0,104 ^a	0,454±0,070 ^a
15K13	0,312±0,018 ^{a,b}	0,384±0,077 ^a	0,290±0,016 ^b
16.1	0,181±0,029 ^a	0,321±0,008 ^b	0,263±0,008 ^{a,b}
16.2	0,343±0,053 ^{a,b}	0,627±0,046 ^a	0,274±0,046 ^b
16K2	0,308±0,082 ^a	0,569±0,071 ^a	0,292±0,056 ^a
16K5	0,417±0,056 ^a	0,333±0,038 ^a	0,391±0,040 ^a
16K7	0,164±0,057 ^a	0,367±0,069 ^a	0,298±0,054 ^a
16KX1	0,526±0,079 ^a	0,502±0,037 ^a	0,416±0,073 ^a
16KX2	0,069±0,017 ^a	0,120±0,033 ^a	0,084±0,012 ^a
16KX3	0,188±0,014 ^a	0,221±0,032 ^{a,b}	0,302±0,031 ^b

Prisustvo soli ima različit uticaj na produkciju pigmenata kod testiranih izolata. Produkcija pigmenta je bila statistički značajno veća u uslovima bez soli i maksimalne testirane koncentracije kod tri od sedam bakterija (Tabela 26). Kod izolata 14KX1, 15K13 i 16.2 statistički značajna razlika postoji između produkcije pigmenata pri porastu koncentracije soli sa 3% na 7%. Kod izolata 16.1 zabeležena je statistički značajna razlika između produkcije pigmenata u uslovima bez soli i povećanja koncentracije soli na 3%.

5.4. Molekularna identifikacija odabranih izolata

Na osnovu rezultata PGP testova i ekoloških karakteristika, odabrana je grupa izolata za preciznu identifikaciju sekvenciranjem gena za 16S rRNK. Identifikacija izolata je izvršena poređenjem dobijenih sekvenci 16S rRNK gena sa homologim sekvencama deponovanim u NCBI GenBank bazi

podataka pomoću BLASTn algoritma (podaci iz oktobra 2024. godine). Sekvence identifikovanih sojeva su deponovane u GenBank bazu i dodeljeni su im pristupni brojevi (Tabela 27).

Endofite izolovane iz sukulenitnih biljaka pripadaju rodovima: *Halomonas* (7 sojeva), *Kushneria* (4 soja), *Pseudomonas* (3 soja), *Halobacillus* (2 soja), *Acinetobacter* (2 soja), *Planococcus* (1 soj) i *Klebsiella* (1 soj) (Tabela 27). U okviru roda *Halobacillus* identifikovane su dve vrste: *H. andaensis* (99,93% nukleotidne identičnosti) i *H. massiliensis* (99,45%). Predstavnicima najzastupljenijeg roda *Halomonas* su pokazali najveći stepen nukleotidne identičnosti sa vrstom *H. songnenensis* (99,86-100%) (Tabela 27). Endofita poreklom iz *H. geniculatum*, 13K5, pokazala je najveći stepen identičnosti sa vrstom *P. megaterium* (97,43%). Endofite iz ACC kolekcije 9A3 i 13A5 su identifikovane kao predstavnici rodova *Acinetobacter* i *Klebsiella*, redom (Tabela 27).

Odabrane rizosferne bakterije pripadaju sledećim rodovima: *Pseudomonas*, *Halomonas*, *Kushneria* i *Serratia*. Sekvenca izolata 1.1. je pokazala najveću sličnost sa sekvencom *P. nitroreducens*. Upoređivanjem dobijenih sekvenci sa sekvencama iz baze predstavnici roda *Kushneria* su identifikovani kao *K. indalinina* (6.1.) i *K. pakistanensis* (7.3). Najveći procenat sličnosti sekvenca izolata 8.2 je pokazala sa sekvencom *S. rubidaea*.

Molekularnom identifikacijom pokazano je da Gp koke izolovane iz zemljišta pripadaju rodu *Mammaliococcus*, vrsti *M. sciuri* (sin. *Staphylococcus sciuri*) sa stepenom identičnosti sekvence sa sekvencama vrste dostupnim u bazi podataka od 97,61 do 98,34%. Ostali izolati iz zemljišta su identifikovani kao predstavnici rodova *Priestia* i *Serratia*.

Tabela 27: Taksonomska pripadnost identifikovanih bakterija na osnovu sekvenciranja 16S rRNK gena

Izolat	Rod	Vrsta i procenat nukleotidne identičnosti	Gen bank pristupni broj
Zemljište			
1Z1	<i>Mammaliococcus</i>	<i>Mammaliococcus sciuri</i> (99,24)	PP975296
3Z2	<i>Serratia</i>	<i>Serratia rubidaea</i> (99,73)	PP975289
11Z2	<i>Mammaliococcus</i>	<i>Mammaliococcus sciuri</i> (99,15)	PP975297
1Z3	<i>Mammaliococcus</i>	<i>Mammaliococcus sciuri</i> (98,97)	PP975293
4Z3	<i>Priestia (Bacillus)</i>	<i>Priestia megaterium</i> (96,13)	PP975288
6Z3	<i>Priestia (Bacillus)</i>	<i>Priestia megaterium</i> (98,96)	PP975292
Rizosfera			
1.1	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas nitroreducens</i> (95,45)	PP975287
2.1.2.	<i>Halomonas</i>	<i>Halomonas songnenensis</i> (100)	PP975291
6.1.	<i>Kushneria</i>	<i>Kushneria indalinina</i> (97,17)	PP975295
7.3.	<i>Kushneria</i>	<i>Kushneria pakistanensis</i> (97,22)	PP975299
8.2.	<i>Serratia</i>	<i>Serratia rubidaea</i> (98,53)	PP975286
Endorizosfera sukulenitnih biljaka			
14A2	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (100)	OL625645

14A5	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i> (99,93)	OL625646
14.2	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (100)	OK668372
		<i>Kushneria indalinina</i> (99,30)	
14KX1	<i>Kushneria</i>	<i>Kushneria pakistanensis</i> (99,29)	OL625647
		<i>Halomonas songnenensis</i> /	
14KX2	<i>Halomonas</i>	<i>Halomonas meridiana</i> (100)	OL625648
		<i>Halomonas songnenensis</i>	
15K13	<i>Halomonas</i>	(100)	OL627342
15.2	<i>Halomonas</i>	<i>Halomonas songnenensis</i> (100)	OL627338
15K2	<i>Planococcus</i>	<i>Planococcus rifietoensis</i> (100)	OL627341
		<i>Pseudomonas putida</i> (99,71)	
		<i>Pseudomonas monteillii</i> (99,71)	
15A1	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas taiwanensis</i> (99,71)	OL627339
		<i>Pseudomonas fluorescens</i> (99,78)	
		<i>Pseudomonas hunanensis</i> (99,78)	
15A2	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas taiwanensis</i> (99,78)	OL627340
16A1	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas putida</i> (99,93)	OL657066
16.1	<i>Kushneria</i>	<i>Kushneria indalinina</i> (98,93)	OL657063
		<i>Kushneria indalinina</i> (98,93)	
16.2	<i>Kushneria</i>	<i>Kushneria pakistanensis</i> (98,51)	OL657064
16.4	<i>Halobacillus</i>	<i>Halobacillus andaensis</i> (99,93)	OL657065
		<i>Halomonas songnenensis</i> (99,93)	
16K2	<i>Halomonas</i>	<i>Halomonas arcis</i> (99,71)	OL657067
16K5	<i>Halomonas</i>	<i>Halomonas songnenensis</i> (99,86)	OL657068
16K7	<i>Halomonas</i>	<i>Halomonas songnenensis</i> (99,86)	OL657069
		<i>Kushneria indalinina</i> (99,86)	
16KX1	<i>Kushneria</i>	<i>Kushneria marisflavi</i> (99,86)	OL657070
16KX2	<i>Halobacillus</i>	<i>Halobacillus massiliensis</i> (99,45)	OL657072
16KX3	<i>Halomonas</i>	<i>Halomonas songnenensis</i> (99,93)	OL657071
Endorizosfera			
		<i>Acinetobacter pittii</i> /	
9A3	<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (99,52)	PP975294

13A5	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i> (97,46)	PP975298
13K5	<i>Priestia (Bacillus)</i>	<i>Priestia megaterium</i> (97,50)	PP975290

5.5. Ispitivanje uticaja bakterijske inokulacije na parametre germinacije odabranih biljnih vrsta u uslovima povišene koncentracije NaCl

Nakon izvršene karakterizacije i molekularne identifikacije, odabrana su dva soja za ispitivanje uticaja na parametre germinacije semena i rane faze rasta ječma, pšenice i suncokreta u uslovima bez i sa dodatkom NaCl. Odabrani bakterijski sojevi za inokulaciju semena su: 6Z3 *Bacillus megaterium* i 14KX2 *Halomonas songnenensis*. *B. megaterium* 6Z3 ima sposobnost rasta do 12% NaCl u podlozi i karakteriše se produkcijom IAA, siderofora i egzopolisaharida, solubilizacijom fosfata i cinka kao umerenom produkcijom biofilma u uslovima bez i sa dodatkom soli. *H. songnenensis* 14KX2 toleriše maksimalno do 18% NaCl u podlozi. Pored umerene produkcije biofilma, soj 14KX2 odlikuje se produkcijom IAA, siderofora, amonijaka i egzopolisaharida i u uslovima povišene koncentracije soli. Odabrani sojevi nisu pokazali hemolitičku, niti DNaznu aktivnost (Tabela 24), što ih čini bezbednim za potencijalnu primenu.

Nakon sedam dana za ječam i pšenicu i osam dana za suncokret, izmereni su sledeći parametri germinacije: procenat germinacije (GP), germinacijski indeks (GI), prosečno vreme germinacije (MGT), vigor I i II, kao i dužina, vlažna i suva masa odabranih klijanaca.

Rezultati analize uticaja mikrobiološke inokulacije na klijavost ječma (*Hordeum vulgare*) pokazali su da oba bakterijska tretmana dovode do povećanja GP i GI ječma u uslovima bez povišene koncentracije soli i pri 200 mM NaCl, dok pri 100 mM nema statistički značajne razlike u odnosu na neinokulisana semena (Tabela 28). Prosečno vreme germinacije (MGT) kontrolnih semena se ne razlikuje u odnosu na tretmane u uslovima bez povišene koncentracije soli. U prisustvu soli, bakterijski tretmani dovode do smanjenja vrednost MGT, pri čemu samo tretman *H. songnenensis* 14KX2 dovodi do statistički značajne razlike. Pozitivni efekti inokulacije semena ječma odabranim sojevima su najizraženiji kod vigor I i vigor II čije su vrednosti u skoro svim tretmanima i svim testiranim koncentracijama NaCl, značajno veće. U uslovima bez dodate soli, oba bakterijska tretmana dovela su do povećanja vigora I za više od 50%, dok je vigor II uvećan za 20% sa *H. songnenensis* 14KX2 i 15% sa *B. megaterium* 6Z3. Sa dodatkom 100 mM NaCl, pozitivan uticaj inokulacije se uvećava i tako tretman *H. songnenensis* 14KX2 povećava vigor I za 103% a *B. megaterium* 6Z3 za 88% u odnosu na neinokulisana semena. Uticaj oba bakterijska tretmana na povećanje vigor II ječma izraženiji je u uslovima 200 mM NaCl nego bez dodate soli (Tabela 28).

Statistički značajan uticaj na povećanje ukupne dužine klijanaca ječma (nadmerni deo + koren) u uslovima bez i sa dodatkom soli postignut je inokulacijom semena *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 samo pri 100 mM NaCl. Inokulacijom semena *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 došlo je do povećanja dužine klijanaca za 37% i 25% bez povišene koncentracije soli, odnosno 80% i 84% redom pri koncentraciji od 100 mM NaCl (Tabela 28; Slika 18 a, b). U uslovima 200 mM NaCl, u oba tretmana klijanci su duži od kontrole (Slika 18 c), ali samo je tretman *B. megaterium* 6Z3 doveo do statistički značajnog povećanja dužine klijanaca. U uslovima naklijavanja bez povišene koncentracije soli, bakterijski tretmani nisu ispoljili značajne efekte na vlažnu i suhu biomasu ječma. Dodavanjem soli, efekti bakterijske inokulacije na biomasu klijanaca postaju izraženiji što je potvrđeno statističkom analizom. Na 200 mM NaCl, tretman *B. megaterium* 6Z3 je doveo do povećanja vlažne mase klijanaca za 37%, dok je u tretmanu *H. songnenensis* 14KX2 20% veća suva masa u odnosu na kontrolu (Tabela 28).

Tabela 28: Uticaj bakterijske inokulacije sa *Bacillus megaterium* 6Z3 i *Halomonas songnenensis* 14KX2 na parametre germinacije ječma (*Hordeum vulgare*)

NaCl (mM)	Tretman*	GP (%)	MGT	GI	Vigor I	Vigor II	Dužina klijanaca (cm)	Vlažna masa (g)	Suva masa (g)
0	B	78±1 ^b	2,24±0,03 ^b	36,19±0,59 ^b	1425,28±13,94 ^b	2,74±0,04 ^b	18,27±0,28 ^b	0,240±0,017 ^a	0,0351±0,0013 ^a
	H	82±3 ^b	2,13±0,04 ^a	39,19±1,18 ^b	1368,79±263,53 ^b	2,87±0,19 ^b	16,69±2,65 ^{ab}	0,238±0,024 ^a	0,0351±0,0010 ^a
	K	68±7 ^a	2,20±0,04 ^{ab}	31,86±3,46 ^a	907,93±230,02 ^a	2,38±0,23 ^a	13,28 ±2,17 ^a	0,198±0,021 ^a	0,0352±0,0007 ^a
100	B	79±6 ^a	2,15±0,05 ^{ab}	38,00±3,78 ^a	781,27±71,86 ^b	3,09±0,18 ^{ab}	9,85±0,38 ^b	0,183±0,011 ^b	0,0390±0,0010 ^b
	H	84±6 ^a	2,08±0,03 ^a	40,86±2,62 ^a	841,04±49,36 ^b	3,22±0,23 ^b	10,08±0,86 ^b	0,168±0,007 ^b	0,0384±0,0005 ^b
	K	75±5 ^a	2,21±0,03 ^b	35,31±2,39 ^a	413,88±126,15 ^a	2,70±0,20 ^a	5,46 ±1,49 ^a	0,128±0,017 ^a	0,0358±0,0005 ^a
200	B	79±4 ^b	2,26±0,01 ^{ab}	36,25±1,62 ^b	429,98±34,16 ^c	3,10±0,20 ^b	5,44±0,29 ^b	0,169±0,018 ^b	0,0392±0,0008 ^{ab}
	H	81±2 ^b	2,24±0,04 ^a	37,53±0,68 ^b	344,81±48,85 ^b	3,36±0,14 ^b	4,28 ±0,64 ^a	0,136±0,016 ^a	0,0417±0,0015 ^b
	K	68±3 ^a	2,35±0,07 ^b	30,56±1,98 ^a	235,62±5,25 ^a	2,65±0,16 ^a	3,47±0,08 ^a	0,123±0,003 ^a	0,0389±0,0013 ^a

*Tretman: B - *B. megaterium* 6Z3, H - *H. songnenensis* 14KX2, K - kontrolna neinokulisana semena; Srednje vrednosti ± SD (st dev) označene različitim slovima se značajno statistički razlikuju ($p \leq 0.05$)

Tabela 29: Uticaj bakterijske inokulacije sa *Bacillus megaterium* 6Z3 i *Halomonas songnenensis* 14KX2 na parametre germinacije pšenice (*Triticum aestivum*)

NaCl (mM)	Tretman*	GP (%)	MGT	GI	Vigor I	Vigor II	Dužina klijanaca (cm)	Vlažna masa (g)	Suva masa (g)
0	B	87±3 ^c	2,27±0,03 ^a	40,24±1,72 ^c	1302,65±250,40 ^b	3,05±0,09 ^a	14,86± 2,43 ^b	0,143±0,019 ^a	0,0349±0,0011 ^a
	H	95±3 ^b	2,36±0,16 ^a	42,98±0,82 ^b	1225,35 ±123,93 ^b	3,57±0,20 ^b	12,93±0,97 ^b	0,140±0,005 ^a	0,0377±0,0017 ^a
	K	79±2 ^a	2,32±0,07 ^a	36,31±1,30 ^a	764,32 ±14,28 ^a	2,80±0,21 ^a	9,72±0,30 ^a	0,120±0,007 ^a	0,0356±0,0023 ^a
100	B	67 ±7 ^{ab}	2,17±0,08 ^a	31,94±2,66 ^{ab}	428,18±40,92 ^b	2,75±0,38 ^{ab}	6,43±0,28 ^b	0,115±0,007 ^a	0,0411±0,0015 ^b
	H	78±5 ^b	2,21±0,04 ^a	37,17±2,48 ^b	441,86±24,87 ^b	3,24±0,22 ^b	5,64±0,02 ^b	0,114±0,002 ^a	0,0413±0,0012 ^b
	K	59±8 ^a	2,29±0,05 ^a	27,41±3,16 ^a	262,92±79,37 ^a	2,25±0,29 ^a	4,41±0,80 ^a	0,101±0,013 ^a	0,0383±0,0015 ^a

*Tretman: B - *B. megaterium* 6Z3, H - *H. songnenensis* 14KX2, K - kontrolna neinokulisana semena; Srednje vrednosti ± SD (st dev) označene različitim slovima se značajno statistički razlikuju ($p \leq 0.05$).



Slika 18: Uticaj bakterijske inokulacije na klijavost ječma: H - *H. songenensis* 14KX2; B - *B. megaterium* 6Z3; K - neinokulisana semena). a) u uslovima bez dodatne soli; b) u uslovima 100 mM NaCl; c) u uslovima 200 mM NaCl

Uticaj bakterijske inokulacije na klijavost pšenice (*Triticum aestivum*) testirana je samo pri 0 i 100 mM NaCl, jer pri 200 mM NaCl nije došlo do klijanja. Efekti bakterijske inokulacije na GP i GI su izraženiji bez dodate soli, dok pri 100 mM NaCl, samo tretman *H. songnenensis* 14KX2 ostvaruje statistički značajan efekat (Tabela 29). Inokulacija *H. songnenensis* 14KX2, dovodi do povećanja GP za 20% bez i 10% sa 100 mM soli i uvećanja GI za 16% bez i 37% sa 100 mM soli. Inokulacija *B. megaterium* 6Z3 povećava GP za 10% i GI za 11% u uslovima bez dodate soli, dok su prisustvu soli zabeležena povećanja, ali bez statističke značajnosti. Bakterijska inokulacija nije pokazala značajan uticaj na MGT pšenice. Najizraženiji efekti oba bakterijska tretmana su zabeleženi na vigor I, bez i u prisustvu soli. Tretman *H. songnenensis* 14KX2 doveo je do povećanja vigora I za 60% (0 mM NaC) i 68% (100 mM NaCl), dok je tretman *B. megaterium* 6Z3 doveo do povećanja vigora I za 70% (0 mM NaC) i 63% (100 mM NaCl). U slučaju vigora II pšenice, samo inokulacija semena *H. songnenensis* 14KX2 dovela je do povećanja od 25% bez i 44% sa 100 mM NaCl (Tabela 29). Uticaj *H. songnenensis* 14KX2 na vigor I i vigor II semena pšenice postaje izraženiji sa dodatkom soli tokom klijanja.

Tretman semena bakterijama doveo je do povećanja dužine klijanaca pšenice pri 0 i 100 mM NaCl. Dužina klijanaca pšenice u tretmanu *H. songnenensis* 14KX2 se povećala za 32% bez i 27% sa dodatkom soli, dok se dužina klijanaca u tretmanu *B. megaterium* 6Z3 povećala za 52% bez i 45 % sa soli (Tabela 29). Bakterijski tretmani nisu doveli do statistički značajnog povećanja vlažne biomase klijanaca pšenice, iako su vrednosti vlažne mase u oba tretmana veće od kontrolne. Što se suve mase tiče, u uslovima bez prisustva povišene koncentracije soli nema značajne razlike među tretmanima i kontrole. Sa povećanjem koncentracije NaCl, u oba tretmana bakterijama suva masa je veća za 8%.

Rezultati analize uticaja mikrobiološke inokulacije na klijavost suncokreta (*Helianthus annuus*) pokazuju da u uslovima bez povišene koncentracije soli, bakterijski tretmani nisu uticali na GP suncokreta koji je u sva tri tretmana izuzetno visok. Sa povećanjem koncentracije soli, klijavost neinokulisanog suncokreta opada, a efekti inokulacije na GP postaju izraženiji. Tretman semena sa *B. megaterium* 6Z3 doveo je do povećanja GP od 14% (100 mM NaCl) dok je uticaj *H. songnenensis* 14KX2 bio izraženiji pri 200 mM NaCl (19% povećanja GP) (Tabela 30). Pozitivan uticaj bakterijske inokulacije na MGT i GI raste sa povećanjem koncentracije soli. Pri 200 mM NaCl, tretman *B. megaterium* 6Z3 smanjio je MGT suncokreta za 13% a *H. songnenensis* 14KX2 za 24%. Najizraženiji efekti bakterija na GI suncokreta su pri najvišoj koncentraciji soli. Pri 200 mM NaCl, tretman *B. megaterium* 6Z3 povećao je GI za 20%, a *H. songnenensis* 14KX2 za 47%. Izmereni efekti obe bakterijske inokulacije kod vigora I i II su najizraženiji pri maksimalnoj testiranoj koncentraciji soli (200 mM), gde je tretman semena sa *H. songnenensis* 14KX2 povećao vigor I za 220% (više od tri puta) a vigor II za 40%, dok je *B. megaterium* 6Z3 doveo do povećanja vigor I za 59% a vigor II za 15% (Tabela 30).

Tabela 30: Uticaj bakterijske inokulacije sa *Bacillus megaterium* 6Z3 i *Halomonas songnenensis* 14KX2 na parametre germinacije suncokreta (*Helianthus annuus*)

NaCl (mM)	Tretman*	GP (%)	MGT	GI	Vigor I	Vigor II	Dužina klijanaca (cm)	Vlažna masa (g)	Suva masa (g)
0	B	95±3 ^b	3,09±0,02 ^a	31,12±0,82 ^b	835,03±74,37 ^a	4,63±0,12 ^b	8,780±0,535 ^a	0,283±0,013 ^a	0,0488±0,0002 ^c
	H	89±3 ^a	3,12±0,04 ^a	28,91±0,80 ^a	743,16±47,42 ^a	4,53±0,19 ^b	8,348 ±0,412 ^a	0,254±0,016 ^b	0,0509±0,0012 ^b
	K	90 ±2 ^{ab}	3,12 ±0,06 ^a	29,32±0,33 ^a	771,69±35,12 ^a	4,12±0,11 ^a	8,550±0,551 ^a	0,262±0,009 ^a	0,0457±0,0012 ^a
100	B	89 ±3 ^b	3,15±0,06 ^b	28,62±0,77 ^b	495,86±91,54 ^b	3,96±0,28 ^b	5,591±1,019 ^b	0,195±0,011 ^a	0,0447 ±0,0032 ^a
	H	85 ±3 ^{ab}	3,20±0,05 ^b	27,24±0,63 ^b	376,90±18,00 ^a	3,88±0,13 ^{ab}	4,440±0,322 ^{ab}	0,179±0,009 ^a	0,0457±0,0025 ^a
	K	78±6 ^a	3,36±0,08 ^a	24,17±2,32 ^a	304,65 ±41,37 ^a	3,35 ±0,39 ^a	3,894±0,259 ^a	0,171 ±0,017 ^a	0,0429±0,0017 ^a
200	B	78 ±1 ^a	3,60±0,15 ^b	23,26±0,43 ^b	220,07±57,05 ^b	3,54 ±0,15 ^b	2,821±0,730 ^c	0,128±0,016 ^c	0,0453±0,0018 ^a
	H	87 ±5 ^b	3,14±0,04 ^c	28,27±1,45 ^c	445,36±34,36 ^c	4,31±0,24 ^c	5,099±0,249 ^b	0,228±0,006 ^b	0,0493±0,0020 ^b
	K	73 ±2 ^a	4,12±0,12 ^a	19,23±1,11 ^a	138,73±9,13 ^a	3,07±0,22 ^a	1,909±0,102 ^a	0,103±0,003 ^a	0,0422±0,0017 ^a

*Tretman: B - *B. megaterium* 6Z3, H - *H. songnenensis* 14KX2, K - kontrolna neinokulisana semena; Srednje vrednosti ± SD (st dev) označene različitim slovima se značajno statistički razlikuju ($p \leq 0.05$)



Slika 19: Efekat inokulacije *H. songnenensis* 14KX2 na klijavost suncokreta u uslovima 200 mM NaCl (H200) (gore); neinokulisana kontrolna semena (K200) (dole).

Inokulacija semena nije imala uticaj na dužinu klijanaca suncokreta u uslovima bez povišene koncentracije soli. Efekat inokulacije postaje izraženiji sa dodatkom soli. Inokulacija sa *B. megaterium* 6Z3 dovodi do povećanja dužine klijanaca suncokreta za 43% i 47% (na 100 i 200 mM NaCl redom). Najistaknutiji efekat na biomasu biljaka (dužina klijanaca) zabeležen je u tretmanu *H. songnenensis* 14KX2 uz 200 mM soli gde su klijanci suncokreta veći za 167% u odnosu na kontrolne (Tabela 30; Slika 19). Efekti inokulacije na vlažnu masu su vidljivi uz dodatak 200 mM NaCl, gde je tretmanom sa *B. megaterium* 6Z3 vlažna masa povećana za 24% a sa *H. songnenensis* 14KX2 za 121%. Suva masa klijanaca je veća u bakterijskim tretmanima bez dodate soli, dok pri 200 mM NaCl statistička razlika postoji samo kod tretmana *H. songnenensis* 14KX2.

5.6. Inkapsulacija odabranih halotolerantnih bakterija

Odabrani sojevi *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2, čiji su efekti na germinaciju i rani rast klijanaca ispitani u prethodnom delu istraživanja, inkapsulisani su tehnikom ekstruzije u alginatno skrobno matriksu. Dobijeni inkapsulati spakovani su u vakuum pakovanja i čuvani na dve različite temperature, pri čemu je vijabilnost ćelija praćena tokom godinu dana. Cilj je bio da se ispita uticaj izabranog procesa inkapsulacije i čuvanja inkapsulata na preživljavanje ćelija tokom godinu dana, radi kasnije potencijalne primene u formulaciji bioinokulanta.

5.6.1. Morfologija i aw vrednost inkapsulata

Proces ekstruzije inkapsulacije primenjen u ovoj tezi je relativno jednostavan i orijentisan je ka primeni prirodnih materijala (alginat i skrob) u cilju dobijanja inkapsulata koji pored navedenih zahteva nakon primene u zemljištu se potpuno razgrađuju, bez potencijalno štetnih produkata razgradnje.

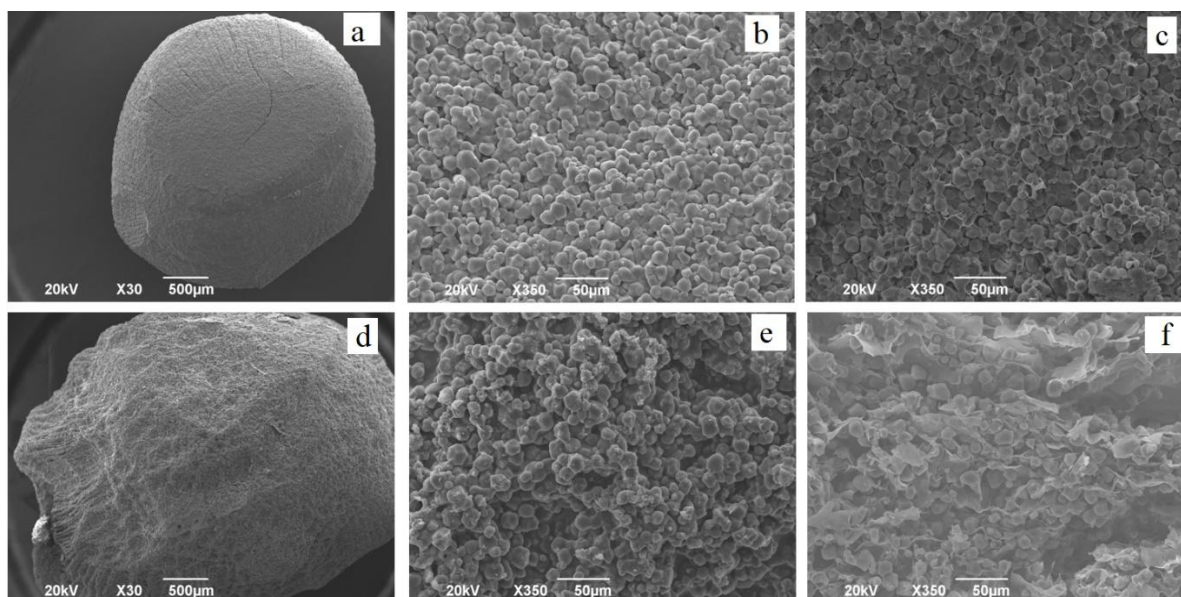
Na Slici 20 prikazane su fotografije uzoraka nakon inkapsulacije (u vlažnom obliku) i inkapsulati nakon sušenja u sušnici i procesom liofilizacije.

Inkapsulati u vlažnom stanju (Slika 20a) su bili uglavnom u obliku sfernih čestica, dimenzija $6,01 \pm 0,38$ mm.



Slika 20. Mikrografije čestica inkapsulata (svetlosna mikroskopija) a) Vlažni inkapsulat; b) Inkapsulat dobijen sušenjem u sušnici; c) Inkapsulat dobijen sušenjem postupkom liofilizacije.

Nakon sušenja u sušnici, došlo je do smanjenja dimenzija čestica ($2,9 \pm 0,4$ mm), uz formiranje agregata čestica (Slika 20b). S druge strane, liofilizovane čestice (Slika 20c) su pokazale bolje očuvanje dimenzija u odnosu na polaze vlažne inkapsulate, pri čemu je srednja vrednost dimenzija liofilizovanih inkapsulata iznosila $4,3 \pm 0,6$ mm.



Slika 21. Mikrografije čestica inkapsulata (skenirajuća elektronska mikroskopija-SEM). a) Inkapsulat dobijen sušenjem u sušnici; b) površina inkapsulata dobijenog sušenjem u sušnici; c) površina preseka inkapsulata dobijenog sušenjem u sušnici; d) Inkapsulat dobijen sušenjem postupkom liofilizacije; e) površina inkapsulata dobijenog sušenjem postupkom liofilizacije; f) površina preseka inkapsulata dobijenog sušenjem postupkom liofilizacije.

Usled relativno velikog poroziteta (Slika 21, e, f) u odnosu na inkapsulate sušene u sušnici, liofilizovani inkapsulati su bili manje mehanički stabilni i prilikom pakovanja i generalno manipulacije je primećeno njihovo oštećenje. Vrednosti aktivnosti vode su se kod uzoraka osušenih u sušnici kretali u granicama 0,177-0,201, dok je uzorak dobijen sušenjem postupkom liofilizacije pokazao a_w vrednost od 0,155.

5.6.2. Uticaj procesa inkapsulacije i skladištenja na preživljavanje bakterijskih kultura

Brojnost bakterija u tečnoj kulturi *B. megaterium* 6Z3 korišćenoj za inkapsulaciju bila je $3,8 \times 10^7$ CFU/ml, dok je brojnost *H. songnenensis* 14KX2 pre inkapsulacije bila $1,8 \times 10^7$ CFU/ml.

Brojnost inkapsulisanih *H. songnenensis* 14KX2 nakon sušenja iznosila je $5,8 \times 10^8$. Temperatura čuvanja je imala statistički značajnog efekta na preživljavanje inkapsulisanih *H. songnenensis* 14KX2 tokom prvih sedam dana. Nakon šest meseci i godinu dana uticaj temperature nije se pokazao statistički značajnim za preživljavanje inkapsulisanih *H. songnenensis* 14KX2. Nakon godinu dana na sobnoj temperaturi vijabilno je 90%, dok se na 4°C očuvalo 91% početne populacije bakterija (Tabela 31).

Tabela 31: Brojnost bakterija u inkapsulatima tokom čuvanja (log₁₀ CFU/g inkapsulata). Prikazane su srednje vrednosti tri ponavljanja ± SD (standardna devijacija).

Brojnost bakterija CFU/g				
Soj Temperatura čuvanja	<i>H. songnenensis</i> 14KX2		<i>B. megaterium</i> 6Z3	
	sobna	4°C	sobna	4°C
7 dan	8.69±0.03 ^a	8.53±0.04 ^b	7.96±0.24 ^a	8.28±0.04 ^a
6 meseci	8.60±0.04 ^a	8.50±0.18 ^a	7.62±0.03 ^a	8.21±0.14 ^b
12 meseci	7.90±0.04 ^a	7.83±0.13 ^a	7.77±0.07 ^a	7.68±0.14 ^a

* Vrednosti obeležene istim malim slovom kod iste bakterije i istog vremenskog perioda nisu statistički značajno različite ($p \leq 0,05$);

Brojnost inkapsulisanih *B. megaterium* 6Z3 nakon sušenja iznosila je $\approx 1,9 \times 10^8$ CFU/g. Temperatura čuvanja je imala statistički značajan uticaj na preživljavanje inkapsulisanih *B. megaterium* 6Z3 tokom šest meseci, pri čemu je veći broj bakterija preživeo tokom čuvanja na 4°C (Tabela 31). Nakon godinu dana očuvano je 90% početne populacije inkapsulisanih *B. megaterium* 6Z3, pri čemu temperatura nije imala statistički značajan uticaj na preživljavanje.

Kao što je već objašnjeno u 5.6.1., liofilizovani inkapsulati su pokazali nezadovoljavajuću mehaničku stabilnost tokom pakovanja i skladištenja. Iz ovog razloga, dati inkapsulati nisu dalje testirani na preživljavanje bakterijskih ćelija tokom skladištenja.

6. DISKUSIJA

U cilju što potpunijeg razumevanja reakcije biljaka na promene u okruženju ili stresne uslove, potrebna je primena ekofiziološkog pristupa, koji uzima u obzir i ekološke interakcije. Navedeni pristup je doveo do rezultata koji ukazuju na ključnu ulogu mikrobne zajednice koja je povezana sa biljkama u prilagođavanju biljaka uslovima staništa (Coleman-Derr i Tringe, 2014; Yuan et al., 2016). Stoga su osnovni ciljevi u okviru ove disertacije bili orijentisani ka proučavanju diverziteta bakterija asociranih sa biljkama zaslanjenih staništa i ispitivanju PGP svojstava izolata koji bi se potencijalno iskoristili za ublažavanje efekata stresa izazvanog povećanim salinitetom na useve. Kako bi se dobio što potpuniji uvid u sastav i funkcije autohtone zajednice bakterija zaslanjenih staništa, odabrano je područje prirodne slatine Slano Kopovo jedinstvene slatinske vegetacije. U istraživanju je korišćeno zemljište i rizosfera biljaka različitih morfoloških karakteristika koje oslikavaju različite adaptacije koje su biljke razvile za preživljavanje na slanom staništu.

6.1. Biljke prorodne slatine Slano Kopovo kao potencijal za izolaciju HT PGP bakterija

Slatinska zemljišta nisu pogodna za poljoprivrednu proizvodnju, ali predstavljaju vredne ekosisteme koje naseljavaju specijalizovani organizmi. Na sastav i dinamiku slatinskih biljnih zajednica utiču količina vlage i soli u zemljištu zajedno sa osobinama mikroreljefa (Zeremski et al., 2021). Tako se na periodično plavljenom slanom zemljištu mogu javiti endemični predstavnici sukulenitnih higrohalofita.

U okviru ovog istraživanja, *S. maritima*, *S. europaea* i *C. annua* su uzorkovane na izrazito alkalnom zemljištu na obodu slanog jezera (pH 9,7) (Slika 3). Sve tri biljke pripadaju familiji Chenopodiaceae koja obuhvata veliki broj halofita sa brojnim histo-anatomskim strategijama koje im omogućavaju opstanak u sušnim i zaslanjenim sredinama (Grigore i Toma, 2007). S obzirom da su predstavnici obligatnih halofita sa visokim nivoima tolerancije na so, njihov rast je stimulisan u prisustvu NaCl u zemljištu (Rozema i Schaats, 2013). Jedino stanište *S. europaea* u Srbiji je u Slanom Kopovu (Zeremski et al., 2021). Ova biljna vrsta pokazuje nabolji rast pri koncentracijama 200-400 mM NaCl, dok pri 1M NaCl slabije raste (Cardenaz-Perez et al., 2022). Za razliku od *S. europaea* i *S. maritima* koje su karakteristične za solončake (Zeremski et al., 2021), *C. annua* može da raste u širokom opsegu slanosti staništa: na solončacima, umereno vlažnim, i manje slanim solonjecima (Luković, 2019), livadama, slanom pesku kao i u naseljenim područjima (Todorović et al., 2022).

Udaljavanjem od jezera i smanjenjem količine vlage razvija se vegetacija slanosti pašnjaka i tu su uzorkovane halofite *A. santonicum*, *P. schwarzenbergiana* i *L. gmelinii*. Najdalje od jezera su uzorkovane *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i *A. eupatoria* (Slika 3). *P. schwarzenbergiana* (Janković i Gajić, 1974) (Švarcenbergova bokvica), *A. eupatoria* (petrovac) i *A. santonicum* (slatinski pelin) koje pripadaju grupi lekovitih biljaka. *P. schwarzenbergiana* je višegodišnja halofilna endemična vrsta za Srbiju (Ivanović, 2011) koja pripada kseromezofilnim vrstama. *P. schwarzenbergiana* raste na alkalnim zemljištima sa visokim sadržajem soli i nedostatkom vlage tokom letnjih meseci, često se javljajući sa sličnim kseromezofilnim vrstama kakva je *H. hystrix* (Ivanović, 2011). *A. eupatoria* pripada kosmopolitskom flornom elementu i može se naći pored puteva, u sušnim staništima, livadama i šumama (Gajić, 1972) i ne pripada halofitama. *A. santonicum* deo je evroazijskog floralnog elementa i naseljava slana zemljišta, suva ali i vlažna alkalna staništa, pustinje i stepe pored morskih obala (Gajić et al., 1975). *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) je jednogodišnja vrsta koja se može naći na mestimično slanim i sušnim livadama, nasipima, utrinama, peskovitim područjima (Cincović i

Kojić, 1976). *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) je obigatna halofita koji naseljava blago do umereno slana zemljišta tipa solonjec i najviše se razvija na pašnjacima sa intenzivnom ispašom (Eliáš Jun et al., 2013). Većina *Limonium* vrsta (Plumbaginaceae) su endemične za slana staništa, dok se *L. gmelinii* ističe po sposobnosti da uspeva u kontinentalnim slanim ekosistemima zahvaljujući specijalizovanim strukturama na površini svog tkiva - sonim žlezdama, koje im omogućavaju regulaciju i eliminaciju viška soli iz tkiva (Honfi et al., 2023). Rezultati Honfi et al. (2023) pokazali su da je rast *L. gmelinii* optimalan pri nižim koncentracijama soli u opsegu 50-150 mM NaCl dok su visoke koncentracije soli (500 mM) imale negativan efekat na rast.

Sa ciljem sveobuhvatnog uvida u diverzitet mikroorganizama odabrane su biljke sa različitih delova slatinskog ekosistema, uključujući periodično plavljeno zemljište na obodima jezera kao i sušnije delove koje naseljavaju kserofilnije vrste poput *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i *P. schwarzenbergiana*. Biljke korišćene u ovom istraživanju poseduju različite mehanizme za toleranciju povišenih koncentracija soli u zemljištu kao što je sukulenost (*S. europaea*, *C. annua*, *S. maritima*) ili izlučivanje viška soli preko sonih žlezda (*L. gmelinii*). Koncentracije soli u tkivima ovih halofita mogu biti veće nego u rizosferi, što može uticati na razvoj drugačijih endofitnih zajednica. *A. eupatoria* ne pripada halofitama, ali zajedno sa *P. schwarzenbergiana* i *A. santonicum* pripada grupi lekovitih biljaka koje zahvaljujući raznovrsnim metabolitima mogu da utiču na sastav mikrobnih zajednica sa kojima su povezane.

6.2. Bakterijski mikrobiom zaslanjenog zemljišta i rizosfere

U prirodnim ekosistemima dugotrajno delovanje biotičkih i abiotičkih sredinskih faktora oblikuje mikrobne zajednice dajući prednost predstavnicima sa adaptacijama za preživljavanje u uslovima specifičnog staništa. Tako u prirodnim slatinama, izloženost solima u zemljištu u velikoj meri utiče na selekciju biljne i prateće mikrobne zajednice.

6.2.1. Diverzitet bakterijskih zajednica u zaslanjenom zemljištu

Ranija istraživanja su ukazivala da količina soli ima dominantan uticaj na mikrobni diverzitet u zemljištu u poređenju sa pH, temperaturom i ostalim fizičko-hemijskim faktorima (Lozupone i Knight, 2007; Canfora et al., 2014). Međutim, u prirodno zaslanjenim zemljištima u uslovima relativno stabilne koncentracije soli, fizičke odlike zemljišta zajedno sa količinom organske materije značajno utiču na sastav mikrobne zajednice (Li et al., 2018; Zhang et al., 2024).

Karakteristike bakterijske zajednice, njihova struktura i aktivnosti, mogu pružiti dragocene uvide u sposobnost zemljišta da podrži rast i razvoj biljaka i obavljanje ostalih ekosistemskih funkcija (Wang et al., 2020). Na osnovu indeksa alfa diverziteta koji opisuju bogatstvo i distribuciju OTU u uzorcima zemljišta, najveći diverzitet bakterijskih zajednica je u uzorku Z2 sa koga su uzorkovane sukulente halofite. Zemljište Z1 uzorkovano u blizini *A. santonicum* ima najniže indekse diverziteta, što može biti posledica lokalno nepovoljne kombinacije fizičko-hemijskih faktora kao što je količina soli, vlage, pH i dostupne organske materije u ovom zemljištu. Pored fizičko-hemijskih faktora, pokrovna vegetacija ima veliki uticaj na sastav mikrobnih zajednica (Kawash et al. 2023; Wang et al., 2024b) stoga razlika u diverzitetu može biti posledica i alelopatskog uticaja sekundarnih metabolita koje biljka luči u okolno zemljište.

PCoA analiza beta diverziteta pokazala je da se uzorak zemljišta iz okoline sukulenta ističe po diverzitetu i ukupan profil bakterijske zajednice je drugačiji u odnosu na ostala dva uzorka. Kao funkcionalni odgovor bakterijske zajednice na promene faktora spoljašnje sredine kao što je salinitet, dolazi do promene beta diverziteta, dok su vrednosti alfa diverziteta stabilnije i sporije se menjaju u slanim i alkalnim zemljištima (Wang et al., 2020). Ovo može biti posledica uticaja biljne vrste u kombinaciji sa abiotičkim faktorima koji zajednički utiču na formiranje mikrobnih zajednica.

Dominantni razdeli u uzorcima zemljišta iz Slanog Kopova su: Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria i Chloroflexi praćeni Bacteroidetes, Firmicutes i Gemmatimonadetes (Prilog 9.1, Tabela P1) koji su opisani kao dominantni u istraživanjima mikrobioma i drugih zaslanjenih zemljišta. Prema Ma i Gong (2013), šest bakterijskih razdela preovlađuju u zaslanjenim zemljištima (Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Acidobacteria, Bacteroidetes i Chloroflexi), što potvrđuju i rezultati ovog istraživanja. Proteobacteria su navedene kao uobičajen i većinski razdeo u zaslanjenim zemljištima (Valenzuela-Encinas et al., 2009; Ma i Gong 2013; Canfora et al., 2014; Wang et al., 2020; Dong et al., 2022).

Elektroprovodljivost (EC) zemljišta na lokalitetu Slano Kopovo iznosi $5,42 \text{ dS m}^{-1}$ (Luković, 2019), što ga svrstava u kategoriju umereno slanih zemljišta (Richards, 1954). Valenzuela-Encinas et al. (2009) su istakli da su Actinobacteria bile prisutne u zemljištima sa niskom i umerenom količinom soli ($EC 0,68 \text{ i } 56 \text{ dS m}^{-1}$), dok u ekstremno zaslanjenim zemljištima nisu detektovane (159 dS m^{-1}). U uzorcima zemljišta Slanog Kopova predstavnici Actinobacteria zauzimaju visok udeo, veći od Proteobacteria (Prilog 9.1, Tabela P1), što je u skladu sa zaključkom Valenzuela-Encinas et al. (2009). Predstavnici Actinobacteria imaju značajnu ulogu u razlaganju složenih organskih jedinjenja povećavajući sadržaj organske materije, mikro i makroelementa što pozitivno utiče na rast i prinos biljaka (Boukhatem et al., 2022).

Proteobacteria obuhvataju veliki broj halofilnih predstavnika i zabeležene su u zemljištima različitog nivoa zaslanjenosti (Canfora et al., 2014). Dominantna klasa Proteobacteria u svim uzorcima zemljišta sa Slanog Kopova su Alphaproteobacteria koja obuhvata brojne predstavnike azotofiksatora (Prilog 9.1, Tabela P1). Prema Valenzuela-Encinas et al. (2009) klasa Alphaproteobacteria je najzastupljenija u zemljištima sa umerenom količinom soli dok Gammaproteobacteria dominira u zemljištima sa visokom i niskom koncentracijom soli. U analizi slanog zemljišta koje okružuje pustinjske halofite (Li et al., 2018) Gammaproteobacteria i Bacilli su klase sa najvećim udelom.

U istraživanju u okviru ove disertacije Bacilli su dominantna klasa razdela Firmicutes, čija zastupljenost ne prelazi 4,7%, što je manje od udela ovog razdela dobijenog ranijom analizom slanih zemljišta (Canfora et al., 2014). Treći razdeo po učestalosti u zemljištu iz Slanog Kopova su Acidobacteria, što je u skladu sa rezultatima koje su dobili Canfora et al. (2014) u analizi slanih zemljišta u Italiji. Razdeo Chloroflexi obuhvata bakterije pronađene u hiperslanim otpadnim vodama kao i u slanom zemljištu (Ma i Gong, 2013; Canfora et al., 2014) i ima veliku relativnu zastupljenost u uzorcima zemljišta sa Slanog Kopova (minimum 6,5%). Chloroflexi su metabolički raznovrsna grupa koja obuhvata heterotrofe, litotrofe i fototrofne bakterije sa aerobnim i anaerobnim predstavnicima koji naseljavaju oligotrofne ekološke niše (Islam et al., 2019). Bacteroidetes i Gemmatimonadetes su važni učesnici u biogeohemijskim ciklusima u zemljištima sa visokom koncentracijom soli (Fierer et al., 2007; Ma i Gong, 2013) i u ovom istraživanju su detektovani u svim uzorcima zemljišta. Sa druge strane, Verrucomicrobia koji se ističu po zastupljenosti kod Canfora et al. (2014), u ovom istraživanju su subdominantni razdeo koji samo u zemljištu koje je uzorkovano oko *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) (Z3) prelazi 1% udela. Količina soli u zemljištu ne utiče na distribuciju Verrucomicrobia koji preživljavaju u različitim uslovima zaslanjenosti, zahvaljujući bliskoj povezanosti sa organskom materijom i direktnim učešćem u ciklusu ugljenika (Canfora et al., 2014). Verrucomicrobia čiji predstavnici mogu da prebrode stres izazvan povećanim salinitetom oslanjajući se na resurse kao što je organski ugljenik predstavljaju primer koji ukazuje da salinitet nije presudan faktor koji utiče na distribuciju određene grupe u slanom zemljištu. Diverzitet mikrobnih zajednica u slanim zemljištima uslovljen je kombinacijom sredinskih faktora, tako da smanjenu relativnu učestalost pojedinih grupa u zemljištu mogu da izazovu i drugi nepovoljni uslovi sredine pored povišene koncentracije soli.

Cyanobacteria, Planctomycetes i Saccharibacteria su razdeli detektovani u svim uzorcima sa Slanog Kopova zajedno sa Nitrospirae koji je subdominantni razdeo (<1%). Nitrospirae su

hemolitoautotrofni razdeo bakterija koje oksiduju nitrite u slanom zemljištu i imaju značajnu ulogu u biogeohemijskim procesima (Canfora et al., 2014) dok razdeo Planctomycetes obuhvata predstavnike koji sporo razlažu različite polimere i prvobitno su opisani kao vodeni mikroorganizmi (Buckley et al., 2006).

Trivedi et al. (2016) su primetili da se sa smanjenjem udela Cyanobacteria povećava udeo Chloroflexi, koji su, usled veće fleksibilnosti u korišćenju izvora ugljenika i energije, prilagodljiviji promenama fizičko-hemijskih uslova u zemljištu. Predstavnicima Cyanobacteria su potrebni stabilniji uslovi za vršenje fotosinteze i osetljiviji su na promene u zemljištu. Trivedi et al. (2016) ističu da odnos ova dva filuma može da posluži kao rani indikator narušavanja kvaliteta i zdravlja zemljišta. Udeo Cyanobacteria prelazi 1% u uzorcima zemljišta oko *A. santonicum* i sukulentnih halofita (Z1 i Z2) dok su Chloroflexi četvrti razdeo po zastupljenosti u svim uzorcima zemljištima iz Slanog Kopova. Polazeći od Trivedi et al. (2016) prisustvo Cyanobacteria može da ukazuje na stabilnije uslove i zdraviji ekosistem u zemljištu Z1 i Z2 u poređenju sa Z3 gde Cyanobacteria nisu detektovane.

U zaslanjenim zemljištima heterogenog sastava, bakterijske zajednice se razvijaju prilagođavajući se specifičnim uslovima mikrohabitata koji se međusobno razlikuju po fizičko-hemijskim faktorima i sadržaju nutrijenata (Canfora et al., 2014). To može da objasni prisustvo i udeo razdela koji nisu bili ranije povezivani sa zaslanjenim staništima (Nitrospira) ili koji su zastupljeni u širokom rasponu zaslanjenosti zemljišta (Proteobacteria) (Canfora et al., 2014). Planctomycetes, Proteobacteria i Bacteroidetes su dominantni razdeli u slanim zemljištima prema Wang et al. (2020). Promene fizičko-hemijskih faktora u zemljištu kao što je salinitet ili količina nutrijenata i vlage imaju značajan uticaj na dinamiku i sastav bakterijske zajednice u zaslanjenim zemljištima. Povećanje saliniteta uzrokuje promene u zastupljenosti dominantnih razdela u slano-alkalnim zemljištima, pri čemu dolazi do smanjenja udela Planctomycetes i Bacteroidetes i povećava udeo Proteobacteria i Firmicutes (Wang et al., 2020).

Uzorak zemljišta iz okruženja sukulentnih biljaka (Z2) ima najveće bogatstvo familija koje su ravnomernije raspoređene, tj. imaju manje i ujednačenije relativne učestalosti (Tabela 8) što je u skladu sa dobijenim vrednostima indeksa diverziteta za uzorke zemljišta (Tabela 7). Uzorak okolnog zemljišta *A. santonicum* (Z1) ima niži diverzitet sa manjim brojem familija koje imaju veću relativnu učestalost, što ukazuje na bolje adaptacije njihovih predstavnika na uslove u zemljištu i/ili specifične ekosistemske usluge koje pružaju u staništu. Familije zastupljene sa najvećim udelom u mikrobiomima zemljišta su neidentifikovane, sa poznatim višim taksonomskim nivoom (NA (Acidobacteria), NA (Acidimicrobiales), NA (Gaiellales), NA (Solirubrobacterales), NA (Chloroflexi), NA (Gemmatimonadetes) (Tabela 8), pri čemu je njihov udeo najveći u okruženju *A. santonicum* (Z1). Veliki procenat neidentifikovanih taksona predstavlja neistraženi mikrobni resurs sa potencijalno novim taksonima, što predstavlja značajnu osnovu za buduća istraživanja. Acidobacteria imaju značajan udeo u zemljišnim mikrobnim zajednicama Slanog Kopova (Tabela 8) međutim, većina sekvenci Acidobacteria je nepoznata do nivoa roda. Najveći broj podataka o razdelu Acidobacteria dobijen je metagenomskim analizama, budući da je mali broj predstavnika moguće gajiti standardnim tehnikama kultivacije. Iako su široko zastupljeni u različitim tipovima zemljišta, uloga i ekologija predstavnika ovog razdela su većinom nepoznate. Uglavnom se kultivšu u uslovima niskog sadržaja organske materije i smatraju oligotrofnim filumom (Fierer et al., 2007) iako to ne mora biti odlika svih predstavnika (Kielak et al., 2016). Analize njihovih genoma su dale podatke o enzimskoj aktivnosti, produkciji EPS kao i lučenju siderofora (Kielak et al., 2016). Predstavnici Acidobacteria razlažu teško razgradiva jedinjenja i veliki udeo ovog razdela u slanim zemljištima ukazuje na važnu ulogu u stabilnosti i funkcionalnosti ekosistema slanih zemljišta koju ostvaruju učesćem u kruženju nutrijenta. Jedini detektovani rodovi Acidobacteria u ovom istraživanju sa udelom >1% su *Balastocatella*, hemoorganoheterotrofi koji razlažu kompleksne supstrate izolovane iz sušnih savanskih zemljišta (Foesel et al., 2013) i *Bryobacter* identifikovani kao spororastuće, hemoorganotrofne bakterije tresetnih staništa (Kulichevskaya et al., 2010).

Za mnoge familije razdela Actinobacteria i rodove detektovane u okviru njih u ovom istraživanju, kao što su Acidimicrobiaceae (*Ilumatobacter*), Propionibacteriaceae (*Microlunatus*), Gaiellaceae (*Gaiella*) i Solirubrobacteraceae (*Solirubrobacter*), nema podataka o potencijalnim PGP odlikama. Haloalkalifilni *Nitriliruptor* i *Euzebya* su u prethodnim istraživanjima zabeleženi u zaslanjenim zemljištima, kao i *Rubrobacter* i *Solirubrobacter* (Ma i Gong, 2013). *Rubrobacter* ima potencijal u bioremedijaciji organskih zagađivača, dok je *Euzebya* prvobitno opisana kao aktinobakterija asocirana sa morskim organizmima (Ma i Gong, 2013). U okviru razdela Chloroflexi, sekvence sa najvećim udelom nisu identifikovane do nivoa familije. U uzorku zemljišta iz okoline sukulenata (Z2) detektovan je rod *Anaerolinaea* (Tabela 9), koji predstavlja anaerobne oligotrofe uobičajene u morskim sedimentima (Islam et al., 2019) ali i u slanim zemljištima (Ma i Gong, 2013). Ekološki raznovrstan rod *Skermanella* familije Rhodospirillaceae obuhvata hemoorganotrofne vrste rezistentne na antimon iz zemljišta rudnika (Luo et al., 2012) izolovane čak i iz vazduha (Weon et al., 2007). Rod *Skermanella* je detektovan u svim uzorcima zemljišta u Slanom Kopovu (Tabela 9) dok je *Sphingomonas* istaknut u uzorku zemljišta na kojem je rastao *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) Z3 (2,8%) ranije zabeležen kao rasprostranjen u zaslanjenim staništima (Farias et al. 2011).

6.2.2. Diverzitet bakterijskih zajednica u rizosferi

Mikrobne zajednice rizo- i endorizosfere nastaju pod uticajem pedoloških faktora i faktora koji potiču od biljke, što rezultuje određenom filogenetskom strukturom sa dominantnim razdelima (Bulgarelli et al., 2013, Bekker et al., 2013). Vrsta i tip korenskih eksudata razlikuju se među halofitama na istom staništu i utiču na razlike u mikrobnim zajednicama između rizosfere i okolnog zemljišta (Zhao et al., 2022).

Rizosfera većine analiziranih biljaka u ovom istraživanju odlikuje se bogatijim diverzitetom bakterijskih zajednica u poređenju sa okolnim zemljištem. Biljka preko korena izlučuje u rizosferu do 40% produkata fotosinteze, stoga obilje hranljivih materija objašnjava veliku zastupljenost i diverzitet mikroorganizama (Berendsen et al., 2012). Međutim, promene u relativnoj zastupljenosti na nivou razdela između zemljišta i rizosfere variraju među različitim biljkama, što pokazuje složen uticaj biljke i ostalih faktora sredine na zajednicu bakterija. Zajedničko za sve rizosferne mikrobiome je povećanje udela Proteobacteria i Firmicutes kao i smanjenje udela Actinobacteria (sa izuzetkom rizosfere *S. europaea*) u odnosu na okolno zemljište. Međutim, istraživanje Zhao et al. (2022) pokazuje da ovi odnosi zavise od biljne vrste. U njihovom radu se u rizosferi *Suaeda salsa* takođe povećao udeo Proteobacteria, ali se udeo Firmicutes i Actinobacteria smanjio, kod *Phragmites communis* nema većih razlika dok se kod *Aeluropus sinensis* udeo Proteobacteria smanjio. Rizosfere biljaka *A. santonicum* i *L. gmelinii* imaju sve vrednosti alfa diverziteta veće u poređenju sa okolnim zemljištem sa koga su uzorkovane. Svi razdeli koji su dominantni u zemljištu su prisutni u rizosferi *A. santonicum* i *L. gmelinii*, ali uglavnom sa promenjenim udelom što ukazuje da razlike u zastupljenosti mogu biti posledica različitog sastava biljnih eksudata. Sastav biljnih eksudata varira od biljke do biljke i utiče na zastupljenost mikroorganizama u blizini korena (Berg i Smalla, 2009). Udeo Actinobacteria, koje su dominirale u uzorcima zemljišta, u rizosferi se smanjuje i to kod *A. santonicum* za polovinu, što može da bude posledica (alelopatskog) negativnog uticaja korenskih eksudata na rast ove grupe mikroorganizama. Udeo Acidobacteria se povećava u rizosferi obe biljke (Prilog 9.1, Tabela P5), što može da bude posledica prisustva specifičnih supstrata za rast predstavnika ove grupe bakterija. Pored Firmicutes i Proteobacteria, udeo Gemmatimonadetes, Planctomycetes i Verrucomicrobia raste u rizosferi *A. santonicum* i *L. gmelinii*, u poređenju sa zemljištem.

U nekim slučajevima mikrobne zajednice zemljišta imaju veće bogatstvo i diverzitet od rizosfere (Bulgarelli et al., 2012; Tian i Zhang, 2017; Zhao et al., 2022), kao što je slučaj sa mikrobiomima rizosfere *S. europaea* i *C. annua* u ovom istraživanju. Najveća promena u rizosferi sukulentnih biljaka u odnosu na okolno zemljište je povećanje udela Proteobacteria koje je najizraženije u rizosferi *C. annua*, gde se udeo Proteobacteria povećava duplo, a klase Betaproteobacteria deset puta u odnosu na zemljište (Prilog 9.1, Tabele P1, P5). U rizosferi sukulentnih biljaka udeo Acidobacteria je manji od okolnog zemljišta, kao i Saccharibacteria, Gemmatimonadetes, Cyanobacteria i Chloroflexi. Slične rezultate su dobili Peng et al. (2022) analizom mikrobioma dve sukulentne vrste roda *Suaeda*, kod kojih se udeo Proteobacteria u rizosferi povećava dok se Acidobacteria smanjuje u odnosu na okolno zemljište. U istom radu, u poređenju sa okolnim zemljištem u rizosferi se udeo razdela Gemmatimonadetes, Verrucomicrobia i Firmicutes povećava dok je zastupljenost Bacteroidetes i Chloroflexi slična u obe analizirane ekološke niše. Rizosferni mikrobiomi *P. schwarzenbergiana* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) se razlikuju međusobno i u odnosu na okolno zemljište sa koga su uzorkovane (Slika 8). U oba uzorka rizosfere smanjen je udeo razdela Acidobacteria, dok se udeo Bacteroidetes, Firmicutes i Verrucomicrobia povećava. Pored pomenutih, najuočljivije razlike u rizosfernom mikrobiomu *P. schwarzenbergiana* su: smanjenje Actinobacteria, dupliranje udela Firmicutes i povećanje zastupljenosti Proteobacteria, posebno Gammaproteobacteria. U mikrobiomu rizosfere *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) udeo Actinobacteria i Proteobacteria se ne razlikuje značajno u odnosu na okolno zemljište (Prilog 9.1, Tabele P1, P5). Najveće razlike primećene su u zastupljenosti Firmicutes čiji udeo je u odnosu na zemljište četiri puta veći, a u odnosu na *P. schwarzenbergiana* duplo veći.

Xavier et al. (2024) ističu Proteobacteria, Actinobacteria i Acidobacteria kao razdele koji čine *core* mikrobiom rizosfere halofita, dok se njihov udeo kao i dominantni predstavnici razlikuju u zavisnosti od biljne vrste. Varijacije u sastavu bakterijskih mikrobioma rizosfere odražavaju potencijalne funkcionalne razlike koje ukazuju na prilagođavanje na specifične uslove staništa kao što je salinitet ili sadržaj određenih nutrijenata kao što su K ili P (Xavier et al., 2024). Varijacije u mikrobnim zajednicama rizosfere i zemljišta među biljkama ukazuju da tip zemljišta kao i vrsta biljke imaju značajan efekat na bakterijske zajednice rizosfere. Kao što je istaknuto u Berg i Smalla (2009), ne postoji opšti princip o “ključnom igraču” u oblikovanju rizosfernih mikrobioma, već i zemljište i biljka mogu dominirati u zavisnosti od biotičkih i abiotičkih uslova.

PCoA analiza beta diverziteta rizosfere odabranih biljaka pokazuje jasnu razliku u mikrobiološkom profilu zajednice sukulentnih biljaka, sa jedne i svih ostalih biljaka, sa druge strane (Slika 8). U grupi sukulentnih prema celokupnom profilu mikrobioma se razlikuje rizosfera *S. europaea*, dok su profili rizosfere *C. annua* i *S. maritima* slični. Do sada postoje istraživanja koja opisuju rizo- i endofitne mikrobiome predstavnika *S. europaea* (Szymanska et al., 2018; Furtado et al., 2019; Yamamoto et al., 2018; Yamamoto et al., 2020; Wang et al., 2024b; Abdelfadil et al., 2024), dok nekoliko istraživanja opisuju endofitnu (Yuan et al., 2016; Wang et al., 2021) i rizosfernu mikrobiotu (Peng et al., 2022; Wang et al., 2024; Abdelfadil et al., 2024) povezanu sa predstavnicima roda *Suaeda*. U literaturi nema podataka o bakterijskim zajednicama rizosfere i endorizosfere *S. maritima* i *C. annua*. Ovim istraživanjem po prvi put je dobijen uvid u sastav bakterijskih zajednica rizo- i endorizosfere *S. maritima* i *C. annua* zajedno sa *S. europaea* na istom staništu. Postoje podaci o bakterijskim zajednicama rizosfere i okolnog zemljišta predstavnika *Artemisia* (Aidah et al., 2021), dok u je u radu Li et al. (2018) opisan mikrobiom rizosfere i okolnog zemljište *L. gmelinii*. U dostupnoj literaturi ne postoje podaci o bakterijskim zajednicama asociiranim sa ostalim biljkama korišćenim u ovom istraživanju.

Rezultati analize beta diverziteta za ostale biljke u ovom istraživanju, pokazuju da su blisko pozicionirane rizosferne zajednice *A. santonicum* i *L. gmelinii* koje su uzorkovane na istom lokalitetu. Njima bliska je rizosfera *A. eupatoria* koja se ne smatra halofitom. Sličnost mikrobioloških profila je u tom slučaju posledica izloženosti istim uslovima u zemljištu, pre nego uticaja biljne vrste. Zajednice

rizosfere *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) i *P. schwarzenbergiana* su odvojene međusobno kao i od ostalih nesukulentnih biljaka što može biti posledica kako edafskih faktora na lokalitetu uzorkovanja (Z3), tako i uticaja biljne vrste.

Neidentifikovane familije Acidobacteria (NA (Acidobacteria) i NA (Holophage)) zauzimaju veliki udeo u zajednicama rizosfere *A. santonicum* i *L. gmelinii*, veći nego u okolnom zemljištu, što ukazuje na dominantnu ulogu biljke u povećanju njihovog udela u zoni korena. Istaknuta odlika rizosfere *A. santonicum* je najveći udeo Bacillaceae sa rodnom *Bacillus* (9,3%) čije su vrste poznate kao bakterije stimulatori biljnog rasta i biokontrolni agensi (Ait Bessai et al., 2023) i Planctomycetaceae (3,6%) razdela Planctomycetes. Prema Kaboré et al. (2020), Planctomycetes su uglavnom asocirane sa predstavnicima Alphaproteobacteria, praćene Bacteroidetes i Verrucomicrobia koji u složenim zajednicama imaju ulogu u snabdevanju nutrijentima. U rizosferi *A. santonicum*, dominantna klasa je Alphaproteobacteria (18,5%) sa istaknutim udelom neidentifikovanog roda NA (Rhodospirillales) i *Sphingomonas* koji obuhvata učesnike u kruženju azota u zemljištu i umerenim nivoom halotolerancije (Yang et al., 2017). Udeo *Sphingomonas* se uvećao sa povećanjem koncentracije soli u rizosferi kikirikija što ukazuje na ulogu u povećanju otpornosti biljke u uslovima stresa (Xu et al., 2020).

Rizosfera *L. gmelinii* ističe se po bogatstvu OTU i diverzitetu sa najvećim brojem identifikovanih familija i rodova (>1%). Visoka vrednosti PD *whole tree* indeksa u rizosferi *L. gmelinii* ističe filogenetsku udaljenost bakterija, što ukazuje na izraženu kompeticiju za resurse usled naseljavanja istih ekoloških niša (Yuan et al., 2016). Prema Yuan et al. (2016) kompeticija je dominantan mehanizam koji oblikuje rizosferne mikrobne zajednice, dok u zemljištu i endorizosferi delovanjem dominantnih biotičkih (genetika biljke) i abiotičkih (npr. zaslanjenost) faktora dolazi do filogenetskog grupisanja. Rizosfera *L. gmelinii* je pokazala veći diverzitet bakterijskog mikrobioma u odnosu na okolno zemljište ali i ostale analizirane halofite (Li et al., 2018), slično rezultatima dobijenim u ovom istraživanju. Međutim, postoje razlike u udelima dominantnih razdela i nižih taksonomskih kategorija. Kod Li et al. (2018) dominantni razdeli u zemljištu na kome raste *L. gmelinii* su Proteobacteria i Firmicutes. Primetan je porast diverziteta od zemljišta ka rizosferi, što se vidi po smanjenju dominacije određenih grupa, većem bogatstvu kao i ujednačenijoj distribuciji taksona na različitim taksonomskim nivoima. U rizosferi *L. gmelinii* sa Slanog Kopova, razdeo Firmicutes je slabije zastupljen i u zemljištu i rizosferi, dok se udeo Acidobacteria i Proteobacteria povećao slično kao kod Li et al. (2018). Dominantni rodovi u istraživanju Li et al. (2018) su *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas* koji u rizosferi sa Slanog Kopova nisu detektovani i/ili su subdominantni rodovi (*Pseudomonas*) (Tabela 12).

Na nivou razdela se ne može sagledati bogatstvo i diverzitet rizosferne zajednice *A. eupatoria* usled dominacije Actinobacteria koje zajedno sa Proteobacteria čine skoro 70% mikrobioma. Međutim, pored *L. gmelinii* u rizosferi *A. eupatoria* je zabeleženo najveće bogatstvo i diverzitet na nižim taksonomskim nivoima. *A. eupatoria* se ne smatra halofitnom biljkom u užem smislu jer raste i u nezaslanjenim ekosistemima, ali je detektovana u slatinskim zajednicama (Luković, 2019). Veliki udeo u rizosferi *A. eupatoria* zauzimaju predstavnici koji nisu identifikovani do nivoa roda (NA (Acidobacteria), NA (Acidimicrobiaceae), NA (Acidimicrobiales) NA (Actinobacteria), NA (Solirubrobacteriales), NA (Gaiellales), NA (Chloroflexi) (Tabela 12). Među dominantnim rodovima razdela Actinobacteria u rizosferi *A. eupatoria* su *Agromyces*, *Nocardioides* i *Gaiella*. Među izolatima *Agromyces* poreklom iz rizosfere halofita, zabeležena je sposobnost produkcije IAA, siderofora kao i velikog broja enzima (Gong et al., 2018), dok je kao endofita *Brassica napus*, *Agromyces* CDVBN92B ispoljio celulaznu aktivnost i sposobnost solubilizacije fosfata (Jiménez-Gómez et al., 2020). Predstavnici *Nocardioides* sa višestrukim PGP osobinama su izolovani iz rizosfere halofita obalskih zemljišta (Gong et al., 2018) i stimulisali rast *Sorghum bicolor* (Liotti et al., 2018). *Gaiella* su registrovane kao halotolerantne (Yang et al., 2016), ali nema podataka o potencijalnim PGP osobinama. Rodovi Gammaproteobacteria sa istaknutim udelom u rizosferi su *Enterobacter* i

Pseudomonas (Tabela 12), čiji PGP predstavnici su ranije opisani u zaslanjenim zemljištima (Jha et al., 2011; Egamberdieva et al., 2019).

Zahvaljujući antagonizmu i kompeticiji kao mehanizmima, uz produkciju antimikrobnih jedinjenja, Actinobacteria kolonizuju rizosferu uspešnije od drugih mikroorganizma (Bulgarelli et al., 2013) i poseduju snažan biokontrolni potencijal (Boukhatem et al., 2022). Veliki udeo familija Actinobacteria prisutan je u uzorcima rizosfere *P. schwarzenbergiana* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) kao i zemljištu sa kojeg su uzorkovane. Actinobacteria koje su dominirale u zemljištu privučene obiljem odgovarajućih nutrijenata naselile su rizosferu. Pod uticajem biljke isprofilisale su se zajednice, što je rezultovalo različitim udelom pojedinih familija i nižih taksonomskih kategorija u uzorcima rizosfere dve biljke na istom zemljištu. Istaknuti predstavnici rizosferne zajednice identifikovani na nivou familije i roda u oba uzorka rizosfere kao i okolnom zemljištu su bili Nocardioideae (*Nocardioideae*) i Micrococcaceae (*Arthrobacter-Pseudoarthrobacter*) i NA (*Solirubrobacterales*) (Tabela 12). Predstavnici *Arthrobacter* imaju sposobnost razlaganja ugljovodonika u zemljištu (Hamedi et al., 2015), dok su *Arthrobacter* BS1 i *Pseudoarthrobacter* BS4 izolovani iz rizosfere kurkume (*Curcuma longa*) pokazali izrazitu sposobnost produkcije IAA, amonijaka, solubilizacije fosfata i sinteze siderofora (Kharshandi et al., 2021). *Arthrobacter* podstiče uspostavljanje mikorize, dok *Streptomyces* pozitivno utiče na simbiozu između bakterija i korena mehanizmima koji uključuju produkciju fitohormona i enzima (Boukhatem et al., 2022).

Rizosferni mikrobiom *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) je jedinstven po prisustvu familije Frankiaceae sa rodnom *Jatrophihabitans*. *Jatrophihabitans* su prvobitno izolovani kao endofite (Kim et al., 2015). Analizom genoma rizosfernog *J. cynanchi* SB3-54^T, detektovani su geni uključeni u kolonizaciju korena, zaštitu biljaka od oksidativnog stresa, sintezi citokinina, auksina i siderofora (Suh et al., 2024). U poređenju sa rizosferom *P. schwarzenbergiana*, u rizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) veći je udeo Pseudonocardiaceae (*Pseudonocardia*) i Streptomycetaceae (*Streptomyces*), kao i rodova *Solirubrobacter* i *Patulibacter* sa udelom >1%. Rod *Solirubrobacter* je detektovan isključivo u rizosferi nesukulentnih biljaka sa značajnim udelom (min 1%) (Tabela 12). Poznati predstavnici *Solirubrobacter* su prethodno izolovani iz zemljišta ili rizosfere useva i lekovitih biljaka gde imaju značajnu ulogu u stimulaciji rasta i održavanju zdravlja biljka posebno u stresnim uslovima (Jiang et al., 2023). Istaknuti su kao biljni probiotici (Li et al., 2022) i stimulatori biljnog rasta (Franke-Whittle et al., 2015) sa sposobnošću produkcije IAA (Jiang et al., 2023) što je važan PGP mehanizam kojim interaguju sa biljkama. *Pseudonocardia* T1LA3 izolovana iz endorizosfere *Camellia* sp. ispoljila je višestruke PGP odlike (Borah i Thakur, 2020). Pored Actinobacteria u rizosferi dve biljke dominiraju Proteobacteria (klasa Gammaproteobacteria) kao i predstavnici Firmicutes, čiji udeo u rizosferi *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) je veći u poređenju sa ostalim biljkama. U rizosferi *P. schwarzenbergiana* rod *Bacillus* ističe se kompleksom *B. flexus-megaterium* (Prilog 9.1, Tabela P8), dok su među Alphaproteobacteria dominantni *Rhizobium* i *Sphingomonas*. Među Gammaproteobacteria, *Enterobacter* sa dve vrste *E. cloacae-ludwigi* kompleksa (Prilog 9.1, Tabela P8) ističe se udelom od ≈7% što ukazuje na važnu ulogu ovog roda za rast i razvoj *P. schwarzenbergiana*. Zahvaljujući višestrukim PGP svojstvima, halotolerantni *Rhizobium* stimuliše rast i olakšava efekte stresa solima i neleguminoznim usevima kao što je zelena salata *Lactuca sativa* (Ayuso-Calles et al., 2023). Pored visokog udela familije Bacillaceae, rizosferu *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) od svih ostalih odvaja veliki udeo familije Planococcaceae (6,9%) sa istaknutim rodnom *Sporosarcina* (5,9%) (Tabela 12) čiji su predstavnici izolovani iz zaslanjenih zemljišta (Kong et al., 2022) i korena sukulenatnih biljaka kao HT PGP bakterije (Ferreira et al., 2021).

Rizosfera sukulenatnih biljaka ispitivanih u ovom istraživanju se razlikuje od ostalih biljaka po smanjenom udelu Acidobacteria i Actinobacteria, većoj zastupljenosti Proteobacteria i Bacteroidetes kao i jedinstvenom razdelu Deinococcus-Thermus (<1%). Razdeo ekstremofila Deinococcus-Thermus obuhvata termofilne i hipertermofilne *Thermus* i predstavnike *Deinococcus* otporne na sušu, jonizujuće i UV zračenje (Theodorakopoulos et al., 2013). Među aktinobakterijama u rizosferi svih

sukulentnih biljaka i okolnog zemljišta ističe se udeo klase Nitriliruptoria sa familijama Euzebyaceae i Nitriliruptoraceae. Kod halofilnih/halotolerantnih Nitriliruptoria koje naseljavaju visoko alkalna i druga ekstremna staništa (Wang et al., 2019; Gonzalez-Pimentel et al., 2023) opisani su različiti mehanizmi halotolerancije (Chen et al., 2019). Visoka relativna zastupljenost Nitriliruptoria je moguća posledica haloalkalifilnih uslova koje vladaju u zemljištu uzorkovanom u okolini sukulenata (pH 9,7). Rizosfera *S. europaea* ima veći udeo Actinobacteria od ostalih sukulenata i okolnog zemljišta i među istaknutim rodovima su: *Nocardioides* (4,9%), *Euzebya* (4,1%), *Nitriliruptor* (3,9%), *Isoptericola* (2,7%), *Streptomyces* (1,3%), *Kocuria* (1%), *Rubrobacter* (1%) od kojih većina poseduje svojstva stimulacije biljnog rasta. Zahvaljujući višestrukim PGP svojstvima *Kocuria rhizophila*, *Streptomyces coelicolor* M145 i *Streptomyces violaceoruber* DSM 40783 povećavaju indeks germinacije i rast klijanaca paradajza (*Solanum lycopersicum*) (Faddetta et al., 2023), dok ACC deaminaza proizvodeća *Isoptericola* sp. AK164 stimuliše rast *A. thaliana* u uslovima povećane koncentracije soli (Alghamdi et al., 2023). Udeo različitih klasa Proteobacteria u rizosferi sukulenta varira. Tako kod *S. maritima* Gammaproteobacteria dominiraju sa 20% udela, a kod *C. annua* i *S. europaea* Alphaproteobacteria. Među Alphaproteobacteria ističu se Hyphomicrobiaceae sa rodovima *Devosia* i *Pelagibacterium*, Rhodobiaceae sa rodom *Afifella* i familija Rhodobacteriaceae, uobičajena u morskim staništima, sa rodom *Paracoccus* koji naseljavaju zemljište (Pohlner et al., 2019). *Devosia* je identifikovan kao zajednički rod za rizosferne mikrobiome tri grupe halofita sa različitim stepenom halotolerancije (Abdelfadil et al., 2024). Chhetri et al. (2022) su izolovali *Devosia* LEGU1^T i G19^T sa PGP svojstvima iz rizosfere pirinča, dok su predstavnici *Pelagibacterium* izolovani iz različitih staništa uključujući morsku vodu, alkalna jezera i slana alkalna zemljišta (Wei et al., 2021). Familije Halomonadaceae i Oceanospirillaceae klase Gammaproteobacteria su istaknute familije u rizosferi sukulenata dok su kod nesukulentnih biljaka odsutne ili prisutne kao subdominantne (<0,5%). *Halomonas* je u našem istraživanju pokazao značajan udeo u rizosfernim zajednicama sukulenata, posebno kod *S. maritima* i *S. europaea*. *Halomonas* je prepoznat kao deo core mikrobioma rizosfere biljaka *S. europaea* koje su rasle pri različitim gustinama populacije na zaslanjenom zemljištu (Wang et al., 2024b). U rizosferi sukulentnih biljaka i pored visoke zastupljenosti Proteobacteria, nisu detektovani predstavnici Enterobacteriaceae koji uključuju mnoge bakterije stimulatore biljnog rasta.

6.2.3. Diverzitet bakterijskih zajednica u endorizosferi

Deo bakterija poreklom iz zemljišta se razmnožava unutar korena i utiče na rast i razvoj biljaka (Bulgarelli et al., 2012) što u kontekstu poljoprivrede može rezultovati poboljšanim opstankom useva i boljim prinomom. Mikrobiota korena se razlikuje od rizosfere i okolnog zemljišta pokazujući jasan uticaj biljke na oblikovanje endofitne zajednice. Bogatstvo i diverzitet bakterijskih zajednica asociranih sa halofitama sa Slanog Kopova najveći je u rizosferi, zatim u okolnom zemljištu i na kraju opada u endorizosferi gde su zabeleženi najmanji indeksi alfa diverziteta. Prethodna istraživanja halofita su takođe pokazala veće bogatstvo bakterijskih zajednica u rizosferi u poređenju sa endorizosferom, ali manje u odnosu na okolno zemljište (Tian i Zhang, 2017). Najveći broj endofita horizontalno se prenosi i potiče iz zemljišta (Compant et al., 2019), pri čemu je diverzitet bakterijskih zajednica korena manji nego u rizosferi i okolnom zemljištu (Liu et al., 2017), jer koren predstavlja efikasan filter koji sužava diverzitet bakterijske zajednice od rizosfere ka unutrašnjosti biljke.

Najveće bogatstvo endofitnih vrsta je zabeleženo je u zajednicama korena *L. gmelinii* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*), pri čemu je kod *L. gmelinii* izražena i filogenetska raznolikost zajednice (Tabela 13). Kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) niske vrednosti Shannon, Simpson i Fisher alfa diverziteta, uz visoke vrednosti Chao1 i *Observed species*, ukazuju na prisustvo velikog broja taksona, ali sa niskom ravnotežom u njihovoj distribuciji, odnosno na dominaciju pojedinih grupa (Tabela 13). Najniži indeksi alfa diverziteta unutar korena zabeleženi su kod *A. santonicum* i *P. schwarzenbergiana*, gde je detektovano najmanje bogatstvo vrsta, evolutivna raznolikost i distribucija, što sugerise na prisustvo manjeg broja specijalizovanih taksona blisko asociranih sa

domaćinom. Važno je istaći da su *A. santonicum* i *L. gmelinii* uzorkovani sa istog lokaliteta kao i *P. schwarzenbergiana* i *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*), što naglašava dominantan uticaj biljke na oblikovanje endofitne zajednice halofita. Unutrašnjost korena halofita je relativno stabilno okruženje (Peng et al., 2022) u kojima se pod selektivnim pritiskom biljke razvijaju najbolje prilagođene endofite u poređenju sa rizosferom i zemljištem gde su uslovi promenljivi i dovode do divergencije. Ipak, budući da većina endofita potiče iz zemljišta, sadržaj soli (Furtado et al., 2019) i ekološke odlike lokaliteta (Yammamoto et al., 2018) mogu da utiču na strukturu endofitne zajednice. Yammamoto et al. (2018) nisu uočili razlike u bogatstvu vrsta i diverzitetu okolnog zemljišta, rizo- i endorizosfere kod *S. europaea*, dok su kod *Glaux maritima* bogatstvo vrsta i diverzitet u rizosferi veći nego u okolnom zemljištu i endorizosferi. Međutim, indeksi beta diverziteta u istom radu ukazali su na razlike u bakterijskim zajednicama među biljkama iste vrste sa različitih lokaliteta, što sugerise uticaj lokalnih uslova na oblikovanje bakterijske zajednice. U ovom istraživanju, PCoA analiza pokazala je da su mikrobiomi unutrašnjosti korena sukulentnih biljaka slični (*S. maritima*, *C. annua* i *S. europaea*), dok su mikrobiomi korena *A. santonicum*, *P. schwarzenbergiana*, *A. eupatoria* i *L. gmelinii* grupisane zajedno, što ukazuje na međusobno sličan profil zajednice, ali drugačiji od sukulenata. PCoA analiza beta diverziteta ukazuje na različit profil endorizosferne zajednice *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) i sukulentne *S. europaea* u poređenju sa ostalim biljkama što je u skladu sa rezultatima dobijenim za mikrobiom rizosfere (Slika 10).

Dominantni razdeli u endorizosferi halofita u ovom istraživanju su Proteobacteria i Actinobacteria, ali njihov udeo u korenu različitih halofita veoma varira (Prilog 9.1, Tabela P1). U svim uzorcima endorizosfere su prisutni predstavnici Bacteroidetes i Firmicutes, takođe sa promenljivim udelima. Prema Liu et al. (2017), endofite korena dominantno pripadaju razdelima Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes i Bacteroidetes, dok su predstavnici razdela Chloroflexi, Cyanobacteria, Verrucomicrobia i Planctomycetes slabije zastupljeni. Predstavnici razdela Acidobacteria i Gemmatimonadetes su retki u endorizosferi, dok su uobičajeni u zemljištu (Sessitsch et al., 2012; Liu et al., 2017). U rizosferi *C. annua* i *S. maritima* zabeležen je najveći udeo Proteobacteria (čak 72%) dok su Actinobacteria značajno manje zastupljene (12 i 14%). Analizom mikrobioma rizosfere i endorizosfere, Peng et al. (2022) ističu Proteobacteria i Actinobacteria kao ključne razdele (i core mikrobiom) vrsta roda *Suaeda*. U korenu *S. europaea* udeo Proteobacteria je niži od ostalih sukulenata, dok je udeo Actinobacteria sličan kao u rizosferi i okolnom zemljištu uz dominaciju klasa Nitrospirae i Actinobacteria. Endorizosfera *S. europaea* se odlikuje i visokim udelom Bacteroidetes, Chloroflexi, i Saccharbacteria. Ranije analize endorizosfernog mikrobioma *S. europaea* pokazale su dominaciju Proteobacteria i Bacteroidetes (Furtado et al., 2019; Yammamoto et al., 2020) dok su Actinobacteria, Chloroflexi i Acidobacteria subdominantni razdeli sa manje od 1% udela u endofitnoj zajednici korena (Yammamoto et al., 2020). U okviru Proteobacteria, dominantne klase kod sukulentnih biljaka su Gammaproteobacteria i Alphaproteobacteria, dok je udeo Betaproteobacteria istaknut kod *C. annua*. Iako dosta sličnih profila, osnovna razlike *C. annua* u odnosu na *S. maritima* su veći udeo Bacteroidetes, Firmicutes i Betaproteobacteria.

Dominantan udeo razdela i klase Actinobacteria je u rizosferi *P. schwarzenbergiana* (58%) koja ujedno sadrži najmanji procenat Proteobacteria. U endorizosferi *L. gmelinii* su zastupljeni razdeli Acidobacteria, Gemmatimonadetes, Planctomyces i Verrucomicrobia sa udelom većim od 1% koji su prethodno pomenuti kao retki endofiti (Liu et al., 2017). Na nivou razdela, endorizosferu *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) razlikuje smanjen udeo Actinobacteria i Bacteroidetes, istaknut udeo predstavnika Proteobacteria (Gammaproteobacteria 43%) kao i najveći udeo Firmicutes (23%) od svih analiziranih biljaka, što je pokazala i analiza beta diverziteta.

Istaknute familije i rodovi u endorizosferi *A. santonicum* su: Mycobacteriaceae (*Mycobacterium*), Promicromonosporaceae (*Promicromonospora*), Micromonosporaceae (*Actinoplanes*) razdela Actinobacteria kao i Sandaracinaceae (7,8%) klase Deltaproteobacteria čiji predstavnici su često pigmentisani, razlažu skrob i produkuju složene sekundarne metabolite (Mohr et al., 2012).

Nepatogene *Mycobacterium phlei* MbP18 sa višestrukim PGP odlikama pokazali su sposobnost stimulacije rasta pšenice u uslovima povećane koncentracije soli (Egamberdieva et al., 2012) dok je PGP *Mycobacterium* II stimulusao rast pirinča u uslovima suše (Karmakar et al., 2021). Pripadnici rodova *Promicromonospora* i *Actinoplanes* imaju višestruka PGP svojstva uključujući produkciju raznovrsnih ekstracelularnih enzima (Gong et al., 2018; Boukhatem et al., 2022), što može biti razlog velikog udela u korenu *A. santonicum*, dok su u rizosferi subdominantne.

Familije sa najvećim udelom u korenu *L. gmelinii* nije bilo moguće precizno identifikovati (Tabela 14), dok su istaknuti rodovi: *Actinoplanes*, *Longispora*, *Nocardioidea*, *Rhodomicrobium*, *Pelagibius* i *Steroidibacter*. *Pelagibius* je integralni deo mikrobioma različitih halofita. Detektovan je u rizosferi halofita *Lycium ruthenicum* i *L. gmelinii* (Li et al., 2018) kao zajednički rod mikrobioma divljih i gajenih *S. europaea* (Ferreira et al., 2023), ali i deo *core* mikrobioma rizosfere halofita sa visokim stepenom halotolerancije (Abdelfadil et al., 2024). Prema Zhou et al. (2023) *Mesorhizobium*, *Rhodomicrobium* i *Pelagibius* su zabeleženi kao ključni rodovi u korenu *Suaeda salsa*. Pomenuti rodovi u ovom istraživanju su identifikovani sa udelom većim od 1% u mikrobiomu korena *L. gmelinii*, ali nisu zabeleženi u korenu *Suaeda maritima*.

Actinoplanes, *Nocardioidea*, *Pseudonocardia* i *Streptomyces* su istaknuti rodovi Actinobacteria, praćeni *Steroidobacter* (odustan kod *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*)) i *Sphingomonas* prisutni u uzorcima endorizosfere nesukulentnih biljaka. Brojnost obligatno aerobnih *Steroidobacter* se smanjila sa povećanjem koncentracije soli u rizosferi Jerusalimske artičoke (Yang et al., 2016) što ukazuje na umerenu halotoleranciju. Rod *Streptomyces* je detektovan u korenu svih analiziranih biljaka osim *C. annua* i *S. maritima* gde je subdominant (0,15%). Predstavnici *Streptomyces* su važna komponenta rizosfernih i zemljišnih mikrobioma i efikasni su u kolonizaciji korena kao i nadzemnih delova biljke (Vurukonda et al., 2018). Kao endofite, *Streptomyces* rastu unutar ćelija domaćina i doprinose rastu biljke obezbeđujući nutrijente poput fosfora ili produkata razlaganja složenih polimera čime doprinose apsorpciji i zadržavanju vode (Mitra et al., 2022). Pored toga, *Streptomyces* proizvode antibiotike i isparljiva jedinjenja čime deluju protiv biljnih patogena (Vurukonda et al., 2018).

Najniži diverzitet na nivou familije je zabeležen kod *P. schwarzenbergiana*, u čijem korenu je zabeležen najmanji broj familija sa visokom relativnom zastupljenošću (>1%), što ukazuje da je jaka selekcija biljke uticala na profil endofitne zajednice među kojima su bakterije od vitalnog značaja za funkcionisanje biljke u staništu. Mnoge vrste roda *Plantago* su lekovite biljke čiji ekstrakti obiluju biološki aktivnim jedinjenjima (Zhakipbekov et al., 2023). Fenolni profil *P. schwarzenbergiana* i analize ekstrakta ukazuju da je ova biljka potencijalni izvor antioksidativnih i antiinflamatornih jedinjenja (Beara et al., 2011), te se može pretpostaviti da neki od specifičnih metabolita mogu uticati na profilisanje endofitne zajednice.

U korenu *P. schwarzenbergiana* istaknute su familije Kineosporia (8,7%) i Micromonosporaceae (18%). *Kineosporia* je zabeležena kao endofita, ali bez podataka o uticaju na rast biljaka i PGP svojstvima (Li et al., 2009). Familija Micromonosporaceae ima istaknuti udeo u korenu nesukulentnih biljaka u ovom istraživanju (osim *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*)). Predstavljena je rodovima *Actinoplanes*, *Micromonospora* (kod *P. schwarzenbergiana*) i *Longispora* (kod *L. gmelinii*). Zahvaljujući brojnim PGP svojstvima (fiksacija azota, solubilizacija fosfata, potencijal za biokontrolu), *Micromonospora* i *Actinoplanes* su deo grupe aktinomiceta koja se označava kao biljni probiotici i uključuje *Agromyces*, *Arthrobacter*, *Curtobacterium*, *Frankia*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces*, i *Rhodococcus* (Menendez i Carro, 2019). U korenu *P. schwarzenbergiana*, pored *Micromonospora*, prisutan je veliki broj rodova azotofiksirajućih Proteobacteria - *Afipia*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Shinella*, *Pantoea* (Lorenzi et al., 2022) i *Enterobacter* (Ji et al., 2020) (Tabela 14).

U korenu *A. eupatoria* ističu se rodovi *Blastococcus* i *Cryptosporangium*, *Micromonospora*, *Nocardioidea* i *Streptomyces* (Tabela 15). *Cryptosporangium* EURKPP3H10T je opisan kao endofita korena eukaliptusa sa biokontrolnom ulogom (Himaman et al., 2017). Predstavnici rodova detektovanih u korenu *A. eupatoria* odlikuju se sposobnošću razlaganja složenih jedinjenja i ksenobiotika. Među njima su su predstavnici razdela Bacteroidetes NA (Cytophagaceae) i *Chryseolinea*, zatim *Dongia*, *Hydrocarboniphaga* i *Phenylobacterium* (Tabela 15). *Chryseolinea* su opisane kao endofite algi (Zhao et al., 2024). Prisustvo plazmida zabeleženo kod predstavnika *Phenylobacterium* i omogućava razlaganje složenih ugljovodonika, naftnih ugljovodonika (Yang et al., 2014) i herbicida (Eberspächer i Lingens, 2006), ali je opisan i u rizosferi kukuruza kao azotofiksator (Yang et al., 2017). *Dongia* su izolovane iz reaktora za tretman otpadnih voda (Liu et al., 2010), ali i iz pustinjanskog zemljišta (Lu et al., 2022), dok su *Hydrocarboniphaga* opisane kao razlagači alkana i aromatičnih ugljovodonika (Palleroni et al., 2004).

Endorizosfera *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) poseduje veliko bogatstvo familija i neravnomernu distribuciju, što su pokazali indeksi alfa diverziteta. Dominantne familije u korenu *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) su Enterobacteriaceae (31%) i Bacillaceae (19,5%). Izuzetno visok stepen kolonizacije unutrašnjosti korena ovim dvema familijama ukazuje na bitnu vezu i doprinos biljci domaćinu koju naseljavaju njihovi predstavnici. Istaknuti rodovi u korenu *H. geniculatum* (sin. *H. hystix*) su: *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* i *Xantomonas*. HT PGP endofite *Bacillus*, *Enterobacter* i *Pseudomonas* izolovani iz halofita pokazali su pozitivan uticaj na rast biljaka i antagonizam prema biljnim patogenima u uslovima povećanog saliniteta (Christakis et al., 2021). Halotolerantni *Klebsiella pneumoniae* (MEBAphS1), *B. amyloliquefaciens* (MEBAphL4) i *B. subtilis* (MEBAphR1) su zahvaljujući PGP osobinama i potencijalu za biokontrolu dobri kandidati za biofertilizaciju (Biswas et al., 2023). *Xantomonas* je rod poznat po velikom broju biljnih patogena, međutim poznate su i nepatogene vrste koje su važne komponente mikrobioma zdravih biljaka (Rana et al., 2022).

Većinski zastupljeni rodovi i njihove istaknute vrste u mikrobiomu sukulenatnih biljaka su bili prethodno opisani kao izolati iz mora ili halotolerantni kao što su *Pelagibacterium* srodan sa *Devosia* (Xu et al., 2011), ili su opisane kao žuto pigmentisane bakterije kao što su *Paracoccus carotinifaciens* i *Paracoccus tibetensis* koje sintetišu karotenoid astaksantin (Tsubokura et al., 1999, Zhu et al., 2013). Sintetizacija pigmenata, antioksidativna i antimikrobna aktivnost pomažu bakterijama u suočavanju sa stresnim uslovima, foto-oksidaciji i slobodnim radikalima u uslovima visokog saliniteta (Fariq et al. 2019).

Jedna grupa rodova prisutnih u analiziranim mikrobiomima sukulenata su oni za koje ne postoje ili su oskudni literaturni podaci o PGP odlikama i interakciji sa biljkom. Neki od njih imaju veliki udeo u mikrobiomu (npr. *Oceanisphaera* čine 4,24% mikrobioma *S. maritima*, *Hydrogenophaga* čine 4,75% mikrobioma *C. annua*, dok 5,52% mikrobioma korena *S. europaea* čini vrsta sa najvećim procentom sličnosti sa *Isoptericola halotolerans*), što govori o potrebi za daljim istraživanjem u razjašnjenju ove biljno-mikrobne interakcije. Drugu grupu najzastupljenijih rodova u mikrobiomima sukulenatnih biljaka čine rodovi i vrste čija su PGP svojstva već opisana u literaturi. Rod *Streptomyces* je poznat po svojim sekundarnim metabolitima koji imaju ulogu u biokontroli (Colombo et al. 2019). *Streptomyces* ostvaruju pozitivan efekat na biljku zahvaljujući posedovanju "kompletnog paketa" PGP svojstava (IAA, ACC, sinteza siderofora, pa i sposobnost azotofiksacije) (Vurukonda et al. 2018). Rod azotofiksatora *Rhizobium* prisutan u sva tri mikrobioma (kod *S. maritima* i *C. annua* preko 4%) poznat je po višestrukim PGP osobinama (Vejan et al. 2016). Rod *Halomonas* ima istaknut udeo u korenu sve tri sukulente (kod *S. europaea* ovaj rod čini 7,82% endofitnog mikrobioma) i u uslovima povišene koncentracije soli pokazuje PGP aktivnosti. *Halomonas* Exo1 je pokazao izrazitu sposobnost produkcije egzopolisaharida (Mukherjee et al. 2019), dok je *Halomonas* sp. SL01 producent jedinstvenih amfifilnih siderofora sličnih onima koje proizvode bakterije u morskim

ekosistemima (Figueroa et al. 2015). Neke vrste imaju sposobnost produkcije IAA i amonijaka, solubilizacije fosfata, sinteze ACC deaminaze i azotifikacije (Mapelli et al. 2013).

Rod *Azoarcus* je zajednički za sve sukulente, a kod *C. annua* ima relativnu zastupljenost od čak 17,66%. Ovo je još jedan rod koga čine vrste sa sposobnošću azotifikacije i sinteze IAA (Reinhold et al. 1993). Analiza kompletnog genoma azotifikirajućeg izolata *Azoarcus* sp. BH72 ukazala je na prisustvo gena koji omogućavaju uspešnu kolonizaciju domaćina kao i potencijalnu ulogu u usvajanju gvožđa i biološkoj kontroli, čija dalja ispitivanja su značajna za primenu azotifikirajućih endofita u poljoprivredi (Krause et al. 2006).

Konačno, *Pseudomonas* je najistaknutiji rod u sva tri metagenoma sukulenata sa udelom od skoro 17%, 12%, i 6% kod *S. maritima*, *C. annua*, i *S. europaea*, redom. Mnogi predstavnici roda *Pseudomonas* poznati su po istaknutim PGP odlikama, ali postoje i oni koji su biljni patogeni. Predstavnici vrsta koje promovišu biljni rast pokazali su sposobnost sinteze IAA, citokinina, siderofora i antimikrobnih peptida, kao i sposobnost azotifikacije (Preston 2004; Yan et al. 2008). *Pseudomonas pseudoalcaligenes* je najzastupljenija vrsta u korenu *S. maritima* i *C. annua* sa 5,45%, odnosno 6,82% (Prilog 9.1, Tabela P12). Halotolerantni *P. pseudoalcaligenes* KB-10 u radu Al Garni et al., (2019) ispoljio je višestruka PGP svojstva i stimulisao rast korijandera u uslovima povećane koncentracije soli. PGP odlike su okarakterisane i kod izolovanih *Pseudomonas* sp. 15A1, *Pseudomonas* sp. 15A2 i *P. putida* 16A1 iz mikrobioma *C. annua* i *S. europaea* (Tabela 23 a i b).

Yamamoto et al. (2020) je potvrdio da se diverzitet i struktura endofitne zajednice istih vrsta halofita razlikuje u zavisnosti od geografskog lokaliteta uzorkovanja. Nijedan rod koji je determinisan kod endofitnog metagenoma *S. europaea* u radu Yamamoto et al. (2020) (*Aquibacter*, *Luteibacter*, *Demequina*, *Planctomyces* i *Winogradskyella*) nije bio prisutan u endofitnom metagenomu *S. europaea* iz Slanog Kopova, izuzev roda *Demequina* kao slabo zastupljenog (<0,5%). Ovaj rod je bio prisutan i kod druge dve sukulente u ovom istraživanju.

Diverzitet halotolerantnih endofita koji su u asocijaciji sa korenom halofita sugerise da različite halofite prihvataju istu ekološku strategiju u borbi protiv stresa soli, privlačeći mikrobiotu sa određenim metaboličkim sposobnostima. Ove osobine mogu dalje biti iskorišćene kultivabilnim pristupom funkcionalne analize mikrobioma, u cilju selekcije sojeva sa potencijalom za primenu usmerenu ka poboljšanja rasta poljoprivrednih useva i detaljnijeg ispitivanja njihove tolerantnosti na povećanu koncentraciju soli u zemljištu.

6.3. Kolekcija HT PGP bakterija

U cilju uspešne primene PGP bakterija u sekundarno zaslanjenim zemljištima, ključno je odabrati mikroorganizme koji su sposobni da se prilagode uslovima povišene koncentracije soli u zemljištu. Halotolerancija, kao sposobnost bakterija da rastu i razvijaju se u prisustvu različitih koncentracija soli, važan je uslov za njihov rast i razvoj u promenljivim uslovima sredine koji vladaju u zaslanjenom zemljištu (Kumawat et al., 2022). Iz tog razloga, halotolerancija je odabrana kao prvi kriterijum prilikom izolacije bakterija u ovom istraživanju.

Za preživljavanje u slanim staništima, sposobnost adaptacije na promenljive koncentracije soli u je podjednako važna kao i sposobnost tolerancije visokih koncentracija NaCl (Gunde-Cimerman et al., 2018). Halotolerantni mikroorganizmi ne zahtevaju prisustvo soli za rast, ali se zahvaljujući različitim mehanizmima osmoregulacije mogu prilagoditi povišenoj koncentraciji soli u spoljašnjoj sredini koje prelaze i 2,5M (15%) u slučaju ekstremno halotolerantnih bakterija (Ventosa et al., 2008). Za razliku od halotolerantnih, halofilni mikroorganizmi kojima je prisustvo soli neophodno za održavanje

homeostaze, restriktivniji su u pogledu staništa i potencijalne primene u različitim tipovima zemljišta (Ventosa et al., 2008; Daoud i Ben Ali, 2020).

Slana zemljišta predstavljaju prirodno stanište za halofilne/halotolerantne mikroorganizme sa PGP karakteristikama. Međutim, istraživanja Ait Bessai et al. (2023) pokazala su da i nezaslanjena zemljišta kao i biljke netolerantne na soli mogu da budu rezervoar HT PGP bakterija. Zemljište kao stanište mikroorganizama je heterogeno sa širokim spektrom mikro staništa sa pojačanom koncentracijom soli (Bazihizina et al., 2012; Ait Bessai et al., 2023). Prisustvo HT PGP bakterija u zaslanjenim i nezaslanjenim zemljištima ističe značaj heterogenosti mikrostrukture zemljišta za sastav prirodnih mikrobni zajednica, ali i preživljavanje bakterija prilikom potencijalne aplikacije.

Produkcija ACC deaminaze se smatra važnim PGP svojstvom zbog delovanja na razgradnju direktnog prekursora etilena, smanjenja njegove produkcije i inhibitornog efekta na biljni rast u uslovima stresa (Glick, 2014; Etesami i Glick, 2020). Budući da je povećana koncentracija soli u zemljištu sve prisutniji abiotički stresor, sposobnost produkcije ACC deaminaze je odabrana kao drugi kriterijum za izolaciju. Primenom ovog pristupa je dobijeno i okarakterisano 15 sojeva koji čine ACC kolekciju, dominantno endofitnih (10 sojeva). Budući da je korišćeni metod Penrose i Glick, (2003) orijentisan ka Gram negativnim bakterijama, svi izolati ACC kolekcije su Gram negativni i slabo halotolerantni (samo jedan izolat toleriše 5% NaCl). Primenom izolacije usmerene ka halotolerantnim mikroorganizmima iz zemljišta, rizo- i endorizosfere izolovano je ukupno 72 izolata koji čine HAL kolekciju, od kojih je 43 PGP okarakterisano. Metod izolacije je bio uspešan budući da je njegovim korišćenjem dobijeno 12 slabo halotolerantnih, 27 umereno i 8 ekstremno tolerantnih bakterija među kojima su predstavnici dobro poznatih halofilnih/halotolerantnih rodova *Halomonas*, *Kushneria*, *Halobacillus*, *Planococcus* i *Mammaliococcus* (bivši *Staphylococcus*). Sposobnost produkcije ACC deaminaze pokazalo je 9,7% (7 od 72) izolata iz HAL kolekcije. Glick (2014) ističe sposobnost razlaganja ACC kao čestu odliku zemljišnih, ali i bakterija iz drugih staništa, koja im omogućava dodatni izvor azota. U ovom istraživanju, manje od 10% HAL izolata je pokazalo sposobnost da koristi ACC iz podloge, što može biti posledica metoda izolacije sa fokusiranjem na halotolerantne zemljišne bakterije. Među izolatima HAL kolekcije koji su ispoljili sposobnost produkcije ACC deaminaze identifikovani su predstavnici *Pseudomonas* i *Serratia*. Ranijim istraživanjima je potvrđen pozitivan uticaj ACC deaminaza produkujućih predstavnika roda *Serratia* u ublažavanju efekata stresa izazvanog delovanjem suše i saliniteta kod paprike (Maxton et al., 2017) i pšenice (Singh i Jha, 2015; Khan i Singh, 2021). Ovi nalazi ukazuju na potencijal za primenu na usevima u smanjenju efekata stresa jer je konzorcijum sastavljen od sojeva *Serratia* i *P. putida*, kao i *P. fluorescens* poboljšao je rast i prinos pšenice u uslovima povišene koncentracije soli (Sohaib et al., 2020). Zahvaljujući sposobnosti da žive u bliskoj vezi sa biljkama, predstavnici *Pseudomonas* koji produkuju ACC deaminazu imaju bitnu ulogu u stimulaciji biljnog rasta i zaštiti od efekata abiotičkog i biotičkog stresa. Ovo ih čini važnim resursom za razvoj održivih rešenja u poljoprivredi i biotehnologiji (Glick i Nascimento, 2021).

Morfološka karakterizacija izolovanih bakterija pokazala je da Gram negativne bakterije (Gn) dominiraju u frakciji endofita i rizosfernih, dok su zemljišni izolati dominantno Gram pozitivni (Gp) (Tabela 16 i 17). Dostupnost supstrata utiče na strukturu i sastav mikrobne zajednice, a odnos Gn:Gp bakterija može biti koristan indikator hemizma organske materije u zemljištu. Fanin et al. (2018) su pokazali da Gn bakterije češće koriste jednostavnija i labilnija C jedinjenja biljnog porekla, dok Gp preferiraju C jedinjenja poreklom iz organske materije zemljišta koja su sporije i teže razgrađiva. Veću zastupljenost Gn u kolekciji endofitnih izolata registrovali su Patil et al. (2014), dok su Arora et al. (2014) dobili sličan Gp:Gn odnos u endorizosferi četiri halofite. Analiziranjem rizosfernih i endofita korena *S. europaea* kultivabilnim pristupom, Szymanska et al. (2016) su primetili da većina pripada Gp i dalje su ukazali na nedoslednosti u podacima vezanim za odnos Gp:Gn bakterija dobijen pomoću tehnika zavisnim od kultivacije. Uočene varijacije mogu biti posledica veličine uzorka, tehnika izolacije ili slučajnosti u odabiru kolonija za prečišćavanje. U ovom istraživanju, potencijalni

nedostatak kultivabilnog pristupa upotpunjen je metagenomskom analizom koja je omogućila određivanje taksonomskog profila i relativne zastupljenosti, čime je dat potpuni prikaz diverziteta bakterijskih zajednica asociiranih sa odabranim halofitama.

Podaci dobijeni tehnikama nezavisnim i zavisnim od kultivacije su usaglašeni što se tiče dominacije Gp bakterija u uzorcima zemljišta (Tabela 16; Prilog 9.1, Tabela P9). Analiza mikrobioma pokazala je da u svim uzorcima endorizosfere dominiraju Gn bakterije razdela Proteobacteria, sa izrazitim udelom u korenu sukulenata, *A. eupatoria* i *H. geniculatum* (Prilog 9.1, Tabela P1). Jedini izuzetak je endorizosfera *P. schwarzenbergiana*, gde je relativna zastupljenost Gp bakterija razdela Actinobacteria i Firmicutes duplo veća od Gn Proteobacteria (Prilog 9.1, Tabela P1). U mikrobiomima rizosfere dominiraju Gp razdeli bakterija, što je najizraženije u rizosferi *H. geniculatum* (Prilog 9.1, Tabela P5). Kod sukulentnih *S. maritima* i *C. annua* predstavnici Proteobacteria dominiraju i u rizosferi. Zbog kompleksnosti prirodnog okruženja rizosferne, a posebno endorizosferne bakterije predstavljaju veći izazov za kultivaciju u laboratorijskim uslovima (Youseif et al., 2021) i često i nakon uspešne izolacije pokazuju smanjenu sposobnost ponovnog rasta. Prilikom izolacije endorizosfernih bakterija u ovom istraživanju je u hranljivi agar koji je korišćen za izolaciju dodavan filtracijom sterilisan ekstrakt korena odgovarajuće biljke. Macerirano tkivo korena sadrži jedinjenja korisna za rast endofita a koja mogu da nedostaju sintetičkim medijumima za kultivaciju (Eevers et al., 2015).

6.3.1. Taksonomska pripadnost HT PGP izolata

Identifikacijom na osnovu sekvenci 16S rRNK najveći diverzitet je utvrđen među endofitnim izolatima, koji su pripadnici osam različitih rodova razdela Proteobacteria i Firmicutes (Tabela 27). Najveći broj identifikovanih izolata pripada halofilnim/halotolerantnim rodovima *Halomonas* (osam) i *Kushneria* (šest) poreklom iz endorizosfere i rizosfere sukulentnih halofita. Predstavnici *Halomonas* tolerišu visoke koncentracije soli i pH vrednosti i uobičajeni su stanovnici u različitim tipovima slanih staništa (Meinzer et al., 2023). Rod *Kushneria*, zajedno sa *Halomonas*, pripada familiji *Halomonadaceae*, taksonomske grupe unutar Gammaproteobacteria, koja je tipična za hiperslana staništa (Mapelli et al., 2013). Rod *Kushneria* je 2009. izdvojen iz roda *Halomonas* (Sanchez-Porro et al., 2009) sa predstavnicima koji mogu da tolerišu do 25% NaCl u podlozi (Meinzer et al., 2023). *Kushneria* su izolovane iz velikog broja slanih i hiperslanih staništa (Zhu et al., 2011; Meinzer et al., 2023) rizosfere i korena halofita (Kearl et al., 2019). Zahvaljujući halotoleranciji i svojstvima stimulacije biljnog rasta (Navarro-Torre et al., 2016; Kearl et al., 2019) predstavnici roda imaju potencijal za primenu u biotehnologiji (Meinzer et al., 2023).

Iz rizosfere sukulentnih halofita izolovani su predstavnici dva dodatna halotolerantna/halofitna roda *Planococcus* i *Halobacillus*. Predstavnici *Halobacillus*, kao i *Halomonas* su halofilne bakterije koji mogu rasti u širokom opsegu koncentracija soli, a imaju raznovrsne zahteve za nutrijentima (Gunde-Cimerman et al., 2018). Sekvence *Halomonas* izolovanih u Slanom Kopovu pokazuju najveći stepen sličnosti (>99%) sa sekvencom *Halomonas songnenensis* NEAU-ST10-39T, umereno halofilnom bakterijom alkalno-slanih zemljišta (Jiang et al., 2014). *Halomonas* sp. ranije je opisan i kao endofita korena halofite *S. brachiata* (Jha et al., 2012). Predstavnici *Halomonas*, *Kushneria* i *Halobacillus* izolovani su iz rizosfere *Salicornia* (Mapelli et al., 2013) i *Arthrocnemum macrostachyum* (Navarro-Torre et al., 2016). Sekvence *Kushneria* 6.1, 14KX1, 16.1 i 16.2 izolovanih u ovom radu pokazale su najveći stepen sličnosti sa sekvencom *K. indalinina* LV_419, umereno halofilnom bakterijom izolovanom iz lista halofita familije Salicornioideae (Mora Ruiz et al., 2015), kojima pripadaju i sukulente analizirane u ovom istraživanju. Sekvenca rizosfernog izolata 7.3 najbližija je sekvenci *K. pakistanensis* NCCP-934 izolovanoj iz rizosfere halofite koja raste u solani (Bangash et al., 2015). Sekvence *Halobacillus* 16.4 i 16KX2 pokazale su visok procenat sličnosti sa sekvencama

Halobacillus andaensis NEAU-ST10-40 i *Halobacillus massiliens* YKM-7 redom. *Halobacillus andaensis* NEAU-ST10-40T je prvobitno izolovan iz slano-alkalnih zemljišta kao umereno halotolerantna bakterija (Wang et al., 2015). Pigmentisana endofita roda *Planococcus* 15K2 izolovana iz korena *C. annua* identifikovana je kao *P. rifietoensis* koji je prethodno opisan kao PGP endofita korena *S. europaea* (Zhao et al., 2016).

Zahvaljujući izuzetnom metaboličkom diverzitetu *Pseudomonas* pokazuju raznovrsne životne stilove u mnogobrojnim tipovima staništa (Alibrandi et al., 2020), uključujući i endofitni (Hardoim, 2015). U prethodnim istraživanjima, *Pseudomonas* je izolovan iz korena *S. europaea* (Szymanska et al., 2016) kao i rizosfere i korena *Suaeda salsa* (Yuan et al., 2016). U okviru ove teze, *Pseudomonas* sp. 15A1 i *Pseudomonas* sp. 15A2 su izolovani iz korena *C. annua*, dok je *Pseudomonas putida* 16A1 izolovan iz korena *S. europaea*, svi koristeći metod izolacije sojeva sa produkcijom ACC deaminaze. Iz rizosfere *A. santonicum* je izolovan *Pseudomonas* 1.1. čija sekvenca 16S rRNK gena je najbližnja sekvenci *Pseudomonas nitroreducens* CPO 16.11.

Predstavnici rodova *Klebsiella* i *Acinetobacter* izolovani u ovom istraživanju su ACC deaminaza produkujući i slabo halotolerantni, sa izuzetkom umereno halotolerantnog *Acinetobacter* 14.2 izolovanim iz *S. maritima*. Predstavnici *Acinetobacter* su nađeni u različitim tipovima staništa, često ekstremnim kao što su hiperslana staništa (Dahal et al., 2017) i uobičajeno su izolovani kao endofite (Alibrandi et al., 2020). Yuan et al. (2016) su registrovali *Acinetobacter* kao dominantan rod u korenu halofite *S. salsa*. Azotofiksirajuće *Klebsiella* su česti endofiti halofitnih biljaka, ređe se mogu naći u slanom zemljištu koje je bez direktnog uticaja biljke (Gao et al., 2022).

Zahvaljujući sposobnosti produkcije endospora u nepovoljnim uslovima sojevi roda *Bacillus* mogu da prežive u najvećem broju prirodnih staništa gde najčešće rastu u uslovima bez soli. Ipak, pojedini izolati su ekstremno halotolerantni (20-25% NaCl) (Gabrabitto et al., 1998). Predstavnici *Bacillus* su izolovani iz zemljišta i endorizosfere *H. geniculatum* (sin. *H. hystrix*) i sekvence njihovih 16S rRNK gena su pokazale najveći stepen sličnosti sa sekvencama više predstavnika vrste *Bacillus megaterium*. Na osnovu filogenetske i komparativno genomske analize taksonomija roda *Bacillus* je revidirana (Gupta et al., 2020) i *Bacillus megaterium* je preimenovan u *Priestia megaterium*, koja je ujedno i tipska vrsta novog *Priestia* roda koji uključuje i *P. aryabhattai*. *P. megaterium* je izolovana iz velikog broja biljaka i zahvaljujući brojnim PGP i svojstvima biokontrole sastavni je deo velikog broja komercijalnih biofertilizatora (Ait Bessai et al., 2023).

Istraživanja halotolerantnih bakterija su dugo bila u senci istraživanja o halofilima. U jednoj od prvih studija o nehalofilnim bakterijama slanih zemljišta (halotolerantnim), Márquez et al. (1987) su najveći broj izolata identifikovali kao *Staphylococcus* i *Bacillus*. Na osnovu filogenetskih analiza Madhaiyan et al. (2020), pet vrsta roda *Staphylococcus* uključujući *S. sciuri* je preklasifikovano u novi rod *Mammaliicoccus*. Rod *Staphylococcus* uključuje vrste koje su izolovane iz različitih okruženja i okarakterisane kao halotolerantne (>15% NaCl) (Oren, 2006) i PGP bakterije (Taj i Challabathula, 2021). Pigmentisana *S. arlettae* HPSSN35C izolovana iz slanog zemljišta pokazala je sposobnost tolerancije 35% NaCl u podlozi (Nanjani i Soni, 2014) dok je *M. sciuri* ET101 (bivši *S. sciuri* ET101) zabeležena u rizosferi *S. europaea* (Taj i Challabathula, 2021). Iz uzoraka zemljišta Slanog Kopova izolovan je veliki broj Gp koka. Identifikacijom je pokazano da pripadaju rodu *Mammaliicoccus* (bivši *Staphylococcus*) i pokazuju najveći sličnost sekvenci 16S rRNK gena sa sekvencama vrste *M. sciuri* (bivši *S. sciuri*) (Tabela 27).

Predstavnici roda *Serratia* 8.2. i 3Z2 u ovoj disertaciji su izolovani iz rizosfere *S. europaea* i zemljišta redom. HT PGP *Serratia* koje ublažavaju efekte stresa solima kod biljaka su prethodno izolovane iz slanog jezera (Singh i Jha, 2016) i rizosfere halofite *Puccinellia tenuiflora* (Guo et al., 2024). Sojevi *Serratia* izolovani u ovom istraživanju pokazali su sposobnost rasta u prisustvu do 7% NaCl u podlozi, dok je *S. rubideae* ED1 izolovana iz korena *Chenopodium quinoa* pokazala sposobnost rasta do 10% NaCl (Mahdi et al., 2021) u podlozi.

Predstavnici *Mammaliococcus* su detektovani samo u uzorcima zemljišta. Pored njih, iz zemljišta su izolovani predstavnici *Bacillus* i jedan predstavnik roda *Serratia*. U rizosferi i posebno endorizosferi sukulenata zabeležen je veći diverzitet halotolerantnih rodova koji su ranije povezivani sa halofitama poput *Kusheria*, *Halobacillus* i *Halomonas*, zajedno sa slabije halotolerantnim predstavnicima *Klebsiella* i *Acinetobacter* kod kojih su opisana brojna PGP svojstva. Najveći broj identifikovanih bakterija u ovom istraživanju pripada rodovima *Halomonas*, *Kushneria* i *Pseudomonas*, što ukazuje na potencijalnu ulogu njihovih predstavnika u prilagođavanju biljaka specifičnim uslovima staništa.

6.3.2. Uticaj povišene koncentracije soli na preživljavanje izolata

Izolati dobijeni u ovom istraživanju pokazuju različit stepen tolerancije povišenih koncentracija soli. Larsen (1986) i kasnije Daoud i Ben Ali (2020) ukazuju da je neophodno napraviti razliku između tolerancije na soli i potrebe za solju kod bakterija, međutim često je teško napraviti jasne granice čak i kod predstavnika istog roda. Pojedini autori koriste termin halotolerantan kako bi opisali sposobnost vrste da toleriše visoke koncentracije soli, što ne isključuje postojanje potrebe za solju (Vreeland, 1987). Halofilni *Halomonas elongata* je prvobitno opisan kao ekstremno halotolerantan, iako zahteva 0,5M NaCl za rast što ga čini pravom halofilnom vrstom (Ventosa, 2008). U većini slučajeva, minimalna koncentracija jona Na^+ je neophodna za rast, odnosno za stvaranje gradijenta Na^+ i procese aktivnog transporta u ćelijskoj membrani (Ventosa et al., 2008). Zahtevi za solju variraju u zavisnosti od genetike vrste, temperature inkubacije kao i dostupnih nutrijenta u medijumu za gajenje (Vreeland 1987; Ventosa et al., 2008). Opseg tolerancije na soli se uobičajeno ispituje pomoću složenih hranljivih podloga, koje zbog sadržaja soli, dovode do pogrešne interpretacije da se neki organizmi klasifikuju kao halotolerantni umesto halofilni (Ventosa et al., 2008). Prema modifikovanoj podeli Kushner (1985) koju je dao Oren (2006), halotolerantnim se smatraju nehalofilni mikroorganizmi koji tolerišu so i ukoliko rastu iznad 2,5M (15%) smatraju se ekstremno halotolerantnim. Larsen (1986) razlikuje nekoliko kategorija halotolerantnih mikroorganizama: netolerantne (tolerišu najmanje koncentracije soli, oko 1%), slabo tolerantne (6-8%), umereno tolerantne (18-20%) i ekstremno halotolerantne (20-30%).

Hranljivi agar (Torlak) na kome je izvršena izolacija sadrži 0,5% NaCl. Sve izolovane bakterije su bile sposobne da rastu na HA podlozi bez dodatnog NaCl što ih čini halotolerantnim bakterijama. Prisusvo 0,5% NaCl u korišćenju podlozi ne isključuje da su neki od izolata, pored halotolerancije i slabo halofilni. Gornja granica tolerancije soli se razlikovala među izolatima. Predstavnici *Mammaliococcus* i *Halobacillus* su pokazali najveće opsege tolerancije (0,5-22 i 0,5-25% NaCl) u ovom istraživanju. Najveći broj izolata iz endorizosfere je umereno do ekstremno halotolerantan, dok je među rizosfernim najmanji broj ekstremno halotolerantnih. Izolati ACC kolekcije iz ove studije su slabo halotolerantni i najveći broj raste u opsegu od 0,5-3% NaCl. U ovom istraživanju, u endorizosferi sukulentnih biljaka i u uzorku zemljišta sa koga su one uzorkovane je najveći broj ekstremno halotolerantnih bakterija (prema klasifikaciji Oren (2006)). Među njima se ističu predstavnici roda *Halobacillus* koji tolerišu do 25% kao i *Halomonas* i *Kushneria* koji rastu do maksimalnih 18% NaCl, zavisno od soja (Tabela 20a). Svi izolovani predstavnici rodova *Pseudomonas* i *Klebsiella* uz *Acinetobacter* 14A2, su tolerisali značajno niže koncentracije soli, što nije iznenađujuće s obzirom da je kriterijum za njihovu izolaciju bio produkcija ACC deaminaze, ne halotolerancija. U zemljištu se ističu predstavnici *Mammaliococcus sciuri* 10Z2 i *Mammaliococcus sciuri* 11Z2, koje rastu pri 20 i 22% NaCl u podlozi (Tabela 18a). Zemljište na obodu slanog jezera, iz koga su izolovani pomenuti predstavnici *Mammaliococcus*, u periodu uzorkovanja (leto) je bilo beličaste do svetlo sive boje prekriveno slojem soli usled isparavanja vode i najslaniji je lokalitet u SRP Slano Kopovo.

6.3.3. Uticaj povišene koncentracije soli na pokretljivost

Pokretljivost omogućava bakterijama interakciju sa spoljašnjom sredinom, potragu za nutrijentima i olakšava preživljavanje (Cappellari et al., 2023). Pokretljivost pruža adaptivnu prednost za izbegavanje nepovoljnih uslova u heterogenim sredinama zaslanjenih zemljišta kao i kolonizaciju rizosfere i rizoplana gde su privučeni biljnim eksudatima (Compant et al., 2010). Prisustvo soli ima različit uticaj na pokretljivost halotolerantnih bakterija. Kod nekih halofilnih bakterija prisustvo soli indukuje pojavu flagele. U slučaju umereno halofilne *Halobacillus halophilus*, pokretljivost i formiranje flagele striktno su uslovljeni prisustvom jona Cl^- u medijumu (Roessler et al., 2002). Halotolerantni *Exiguobacterium* sp. SH31 izolovan iz slane močvare, toleriše 5% NaCl, ali je maksimalna pokretljivost zabeležena samo na 2,5% što je i koncentracija soli optimalna za rast. Kod ove bakterije prisustvo soli ne utiče na pojavu flagele, ali sa povećanjem soli ka gornjoj granici tolerancije, pokretljivost prestaje (Remonsellez et al., 2018). Predstavnicu *Pseudomonas* se kreću pomoću jedne ili više polarnih flagela (Cappellari et al., 2023). U ovom istraživanju kod *Pseudomonas* sojeva (*Pseudomonas* sp. 15A1, *P. putida* 16A1 i *Pseudomonas* sp. 15A2) iz ACC kolekcije povećanje koncentracije soli negativno utiče na pokretljivost (Tabela 25), što je u skladu sa rezultatima koje su dobili Cappellari et al. (2023). Kod ostalih izolata ACC kolekcije pokretljivost je drastično smanjena na gornjoj granici halotolerancije od 3% što pokazuju prečnici kolonija (Tabela 25). Kod 89% testiranih HAL izolata pokretljivost je uočena pri svim testiranim koncentracijama soli. Dijametri kolonija kod 81% sojeva su smanjeni u prisustvu soli u odnosu na prečnik kolonija na podlozi bez dodate soli, što ukazuje da stres solima ima nepovoljan efekat na plivajuću pokretljivost (Tabela 25). Testirane koncentracije soli nisu pokazale negativan efekat na pokretljivost ekstremno halotolerantnih *Halobacillus andaensis* 16.4 i *Halobacillus massilensis* 16KX2 čiji prečnik kolonija se povećava sa koncentracijom soli na 3% i održava na 7% NaCl u podlozi. Kod zemljišnih *Bacillus megaterium* 4Z3 i 6Z3 koji imaju sposobnost rasta do 10% i 12% NaCl pokretljivost se smanjuje sa povećanjem koncentracije soli u podlozi i prestaje pri 7% NaCl. Ansari et al. (2019) su zabeležili negativan efekat povećanja koncentracije soli na plivajuću pokretljivost prilikom testiranja *B. pumilus* FAB10. *B. pumilus* FAB10 toleriše do 6% NaCl u podlozi ali se sa povećanjem koncentracije soli zona pokretljivosti smanjuje za 16% pri maksimalno testiranih 3% NaCl u podlozi. Ovo istraživanje je pokazalo da uticaj povećanja koncentracije soli na pokretljivost bakterija varira među različitim vrstama u zavisnosti od opsega njihove halotolerancije i koncentracije soli u podlozi.

6.3.4. Uticaj povišene koncentracije soli na produkciju pigmenata

Pigmentisane bakterije žive u različitim sredinama, rizosferi, pustinjskom zemljištu, slatkoj i morskoj vodi, sedimentima i kao endofite, ali se produkcija pigmenata vezuje za mikrobe koji naseljavaju slana i ekstremno slana staništa. Česta karakteristika bakterija koje žive u zaslanjenim staništima je produkcija karotenoida koji imaju antioksidativni i antimikrobni potencijal i olakšavaju preživljavanje u uslovima stresa, fotooksidacije i slobodnih radikala (Fariq et al., 2019).

Kolonije najvećeg broja izolata HAL kolekcije iz uzoraka endorizosfere i rizosfere bile su žuto ili narandžasto obojene, bez prodiranja pigmenta u okolnu podlogu, što ukazuje da proizvode karotenoidne. Nerastvorljivi karotenoidi ostaju unutar ćelija ili su sastavni deo ćelijske membrane i utiču na njenu propustljivost za vodu, kiseonik i male molekule (Kharangate-Lad i Bhosle, 2016). Jedan od najvažnijih faktora koji utiče na proizvodnju karotenoida kod halofila jeste količina soli u spoljašnjoj sredini (medijumu za rast), budući da adaptacije na povišene koncentracije soli dovode do promene u metaboličkim putevima (Rezaeeyan et al., 2017). Pored soli, na produkciju karotenoida utiču i izvor ugljenika, prisustvo svetlosti, temperatura kao i dostupnost kiseonika pošto je sinteza karotenoida aeroban proces (Mata-Gomez et al., 2014; Fariq et al., 2019). Bakterije koje stvaraju

pigmentisane kolonije izolovane u ovom istraživanju imaju sposobnost tolerancije visokih koncentracija soli, od najnižih 10% NaCl u podlozi u slučaju izolata 11K2, sve do maksimalnih 25% NaCl kod *Halobacillus massiliensis* 16KX2 (Tabela 20a). I pored velikih opsega halotolerancije, najveći broj testiranih bakterija pokazuje maksimalnu produkciju pigmenta pri 3% NaCl u podlozi. Rezaeeyan et al. (2017) su takođe zabeležili maksimalnu produkciju karotenoida kod halotolerantne *Kocuria* sp QWT-12 pri 3% NaCl u podlozi, iako ona toleriše zaslanjenost do 10% NaCl.

Produkcija pigmentisanih kolonija je naročito zastupljena kod endofita izolovanih iz sukulenatnih biljaka, koje su obligatno halofitne i rastu na delu lokaliteta sa najslanijim zemljištem. Kako bi mogle da prežive, endofite moraju da budu tolerantne na koncentracije soli prisutne u tkivima halofita i sposobne da neutrališu reaktivne vrste kiseonika (ROS) (Otlewska, 2020) čija se produkcija povećava u uslovima abiotičkog stresa, ali i kao deo nespecifičnog odgovora biljke na kolonizaciju endofitama (Liu et al., 2017).

Pigmentisani HT PGP izolati u ovom radu pripadaju rodovima: *Halomonas*, *Kuschneria* i *Halobacillus*. Kolonije *Halobacillus* mogu da budu kremasto bele, blede žute ili svetlo narandžasto obojene (Kharangate-Lad i Bhosle, 2016). *Halobacillus trueperi* MXM-16 izolovan iz mangrova vegetacije proizvodi nerastvorljivi narandžasti pigment iz grupe karotenoida koji pokazuje sposobnost heliranja gvožđa (Kharangate-Lad i Bhosle, 2016). *Halobacillus* je striktno aerobna bakterija kojoj je gvožđe potrebno za aktivnost enzima uključenih u proces aerobne respiracije, pa je dodatno usvajanje gvožđa produkcijom pigmenta dobra strategija za snabdevanje ovim mikronutrijentom (Kharangate-Lad i Bhosle et al., 2016). Patkar et al. (2021) su izolovali karotenoidne pigmente sa visokim sadržajem polifenola i snažnim antioksidativnim svojstvima kod *Halomonas* sp. poreklom iz mangrova vegetacije. Banik et al. (2018) su izolovali dva ekstremno halotolerantna soja (NaCl $\geq$ 25%) iz rizosfere kikirikija sa sposobnošću produkcije karotenoida na podlogama sa 4% i 15% NaCl (0,7M i 2,5M) koji su identifikovani kao predstavnici rodova *Bacillus* i *Halobacillus*.

Uticaj povišene koncentracije soli na produkciju pigmenta se razlikuje i kod predstavnika istog roda. U ovom istraživanju, kod najvećeg broja sojeva *Halomonas* maksimalna pigmentacija je zabeležena pri 3% NaCl, osim kod *H. songnenensis* 15.2 i *H. songnenensis* 16K5 kod kojih je najveća produkcija pigmenta u uslovima bez povišene koncentracije soli. Kod *Halobacillus massiliensis* 16KX2, produkcija karotenoida se povećava sa dodatkom soli, sa maksimumom pri 3% NaCl u podlozi. Slično kao *Halomonas*, predstavnici roda *Kuschneria* pokazuju različitu produkciju pigmenta u zavisnosti od koncentracije soli. Kod rizosfernih *K. indalinina* 6.1 i *K. pakistanensis* 7.3 najveće vrednosti za produkciju pigmenta su pri 7% NaCl u podlozi, dok je kod endofitnih izolata istog roda najveća produkcija pri 3% NaCl. Ispitujući uticaj sredinskih faktora na produkciju pigmenta bakterija ekstremno slanih zemljišta, Fariq et al. (2019) su pokazali da produkcija pigmenta kod *Halomonas aquamarina* MB598 u velikoj meri zavisi od uslova sredine, poput koncentracije soli. Kod *H. aquamarina* MB598 je ustanovljena direktna korelacija između rasta i proizvodnje pigmenta, gde je izolat pokazao maksimalni rast i pigmentaciju na 10% NaCl. Međutim, kod izolata MB597 (*Salinicoccus sesuvii*) i MB592 (*Aquisalibacillus elongatus*) proizvodnja pigmenta nije korelisana sa rastom, već je odstupanje od optimalnih uslova pospešilo pigmentaciju.

Produkcija pigmenta je značajan adaptivni odgovor bakterija na život u sredinama sa povećanom koncentracijom soli. U ovom istraživanju produkcija pigmenta je zavisila od soja, koncentracije soli u podlozi i najizraženija je bila kod endofitnih izolata sukulenatnih halofita, što može predstavljati deo adaptacije na život u unutrašnjosti biljke. Pored toga, karotenoidi su značajni u antioksidativnoj odbrani biljke, a istraživanja ukazuju da endofite možda mogu imati ulogu u povećanju nivoa karotenoida kod biljke, što dodatno povećava zaštitu biljaka od stresa (Ravanello et al., 2003; Furtado et al., 2019).

6.3.5. Svojstva stimulacije biljnog rasta (PGP svojstva) izolata i njihovo ispoljavanje pri povišenim koncentracijama soli

Pored razvijanja vlastitih mehanizama za preživljavanje u uslovima povišenog saliniteta, HT PGP bakterije u određenoj meri povećavaju stepen tolerancije biljaka i pojačavaju efekat biljnih strategija za preživljavanje u stresnim uslovima (Shivarstava i Kumar, 2015). U ovom istraživanju, testirane bakterije ispoljile su višestruka PGP svojstva, čak i u uslovima povišene koncentracije soli, što ukazuje na njihovu potencijalnu ulogu i doprinos u toleranciji stresa biljaka sa kojima su asocirane na zaslanjenom staništu.

6.3.5.1. Uticaj HT PGP na promenu nivoa fitohormona u prisustvu soli

Aktivnost biljnih hormona ima ključnu ulogu u odgovoru biljaka na različite vidove stresa. HT PGP mogu uticati na status biljnih hormona tako što ih sintetišu ili sprečavaju njihovu produkciju (Upadhyay et al., 2011; Etesami i Glick, 2020). Enzim ACC deaminaza deluje kao značajan modulator aktivnosti biljnih hormona što može da pojača fiziološki odgovor biljke prema abiotičkom stresu (Govindasamy et al., 2017). Etilen kontroliše mnoge aspekte biljne fiziologije (Hardoim 2008; Glick, 2014). Kao deo odgovora na različite izvore stresa u spoljašnjoj sredini, nivo etilena u biljkama se ubrzano povećava što može da dovede do zaustavljanja rasta čak i do ćelijske smrti (Glick, 2014). Zahvaljujući aktivnosti enzima ACC deaminaze, bakterije imaju sposobnost da razgrade ACC koji predstavlja direktan prekursor etilena kod biljaka oslobađajući pritom azot i energiju. Delujući direktno na smanjenje nivoa etilena kod biljaka, aktivnost ACC deaminaze je najistaknutija bakterijska PGP karakteristika u ublažavanju štetnih efekata stresa na biljke (Etesami i Beatie, 2018; Etesami i Glick, 2020).

Izolati iz ACC kolekcije su iskoristili 90,3-93,3% ACC poreklom iz DF medijuma za 16h. Sličnu potrošnju ACC iz medijuma su zabeležili Li et al. (2011) kod 14% od 331 testiranih bakterijskih izolata iz rizo i endorizosfere nakon istog perioda inkubacije. Niža potrošnja koja ukazuje na slabiju aktivnost ACC deaminaze je zabeležena kod izolata 10.2 i *P. nitroreducens* 1.1. izolata HAL kolekcije koji su potrošili oko 40% ACC iz podloge za isti period inkubacije.

Identifikovani ACC pozitivni izolati (ACC i HAL kolekcija) u ovom istraživanju pripadaju rodovima *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* i *Serratia*. ACC deaminazna aktivnost kod predstavnika *Pseudomonas* je dobro poznata (Penrose i Glick, 2003; Glick i Nascimento, 2021), dok je ACC deaminazna aktivnost predstavnika *Acinetobacter* zajedno sa *Pseudomonas* ranije zabeležena u radu Govindasamy et al. (2017). Ispitujući diverzitet kolekcije ACC deaminaza produkujućih bakterija iz rizosfere pšenice, Gontia Mishra et al. (2017b) pokazali su da najveći broj izolata pripada rodu *Klebsiella* i *Enterobacter*, uz tri predstavnika roda *Acinetobacter*. Halotolerantne ACC pozitivne bakterije izolovane iz različitih halofita pokazale su potencijal da olakšaju efekte stresa i stimulišu rast halofita i biljaka osetljivih na delovanje povišenog saliniteta (Sgroy et al, 2009; Siddikee et al., 2010; Jha et al., 2012; Zhou et al., 2017).

Produkcija IAA, dominantnog auksina kod biljaka, bitna je odlika HT PGP koja utiče na rast biljaka. Mikrobnii IAA stimuliše rast i grananje korena i izdanka čime se olakšava usvajanje nutrijenta iz zaslanjenog zemljišta što dalje omogućava nastavak razvoja listova koji je bitan za produktivnost biljke u stresnim uslovima (Dodd i Perez Alfonsea, 2012; Etesami i Glick 2020).

Produkcija IAA je zabeležena kod halotolerantnih bakterija izolovanih iz različitih staništa, kao što su obalska zemljišta (Siddikee et al., 2010), rizosfera (Mapelli et al., 2013) ili endorizosfera sukulentne *Salicornia* (Zhao et al., 2016).

Povećanje koncentracije soli ima različit uticaj na produkciju IAA od strane bakterija. U ovom istraživanju, potvrđena je sposobnost produkcije IAA kod pojedinih predstavnika svih identifikovanih rodova, pri čemu najveći broj gubi ovo svojstvo sa povećanjem koncentracije soli. Ranija istraživanja su takođe pokazala da sposobnost produkcije IAA kod rizosfernih izolata opada sa dodatkom soli od 3 i 6% NaCl redom (Uphadyay et al., 2011). Zato poseban značaj imaju sojevi koji zadržavaju sposobnost produkcije IAA u prisustvu povišene koncentracije soli. Takav primer u ovom istraživanju je *H. songnenensis* 16K2, poreklom iz korena *S. europaea*, koji produkuje IAA pri svim testiranim koncentracijama soli. Uticaj povišene koncentracije soli na produkciju IAA zavisi od soja, tako *H. songnenensis* 14KX2 kao i *B. megaterium* 6Z3 zadržavaju sposobnost produkcije IAA pri 3% dok pri 7% NaCl u podlozi gube ovu sposobnost. Slične rezultate su dobili Oliva et al. (2023), koji su pokazali da halotolerantni predstavnici rodova *Bacillus* i *Halomonas* zadržavaju sposobnost produkcije IAA sa povećanjem koncentracije soli, ali se ona smanjuje. Pojedini izolati sintetišu IAA samo u prisustvu soli. Izolovani i okarakterisani u ovom radu, *Acinetobacter calcoaceticus* 14.2 i *Kushneria pakistanensis* 7.3 produkuju IAA samo pri 3% NaCl, što je korisno svojstvo sa potencijalom za primenu u uslovima povećanog saliniteta.

Pored razlika u tome kako produkcija IAA odgovara na promene u koncentraciji soli, sojevi su se međusobno razlikovali po količini produkovane IAA. Najveća produkcija IAA zabeležena je kod predstavnika *Mammaliococcus sciuri* 1Z3 (bivši *Staphylococcus sciuri*) (15,05 µg/ml) u uslovima bez povišene koncentracije soli (Tabela 21a). Produkcija IAA je prethodno opisana kao važan PGP mehanizam mnogih halotolerantnih predstavnika *Staphylococcus*. Taj i Challabathula (2021) su zabeležili produkciju IAA kod halotolerantne *M. sciuri* ET101 i pri 15% NaCl u podlozi, dok su se halotolerantne *Staphylococcus* STN-1, STN-5 i *M. sciuri* SAT-17 pokazale kao značajni producenti IAA (STN-1 20.3 µg/ml; STN-5 22 µg/ml; SAT-17 9,01 µg/ml IAA u uslovima bez povišene koncentracije soli) (Akram et al., 2016; Shahid et al., 2019).

Brojni *in vitro* ogledi su pokazali da inokulacija IAA pozitivnim bakterijama ima stimulativan uticaj na rast različitih useva što je posebne važnosti u uslovima kada je biljka izložena stresu usled povišene koncentracije soli. Inokulacija pšenice halotolerantnim bakterijama koje produkuju IAA uključujući *Halomonas* sp. SL 9 izolovan iz ekstremno zaslanjenih staništa, pozitivno je uticala na rast pšenice gajene na zaslanjenom zemljištu (Tiwari et al., 2011). Halotolerantni IAA produkujući *B. megaterium* S4 je povećao rast klijanaca pšenice u uslovima povišene koncentracije soli (Ait Bessai et al., 2023). *S. sciuri* ET101 koja je pored sinteze IAA pokazala sposobnost sinteze giberelina i ACC deaminaze dovela je do povećanja biomase, stope fotosinteze i sadržaja fotosintetskih pigmenta u uslovima povišene koncentracije soli kod paradajza (*Lycopersicon esculentum*) i pirinča (*Oryza sativa*) (Taj i Challabathula, 2021). Inokulacija halotolerantnim *M. sciuri* SAT-17 (Akram et al., 2016) i *Staphylococcus* STN-1, STN-5 (Shahid et al., 2019) dovela je do smanjenja oksidativnog stresa i povećanja rasta kukuruza u uslovima stresa indukovano solima (Shahid et al., 2019). *P. rifietoensis* 15K2 izolovan u ovom radu produkovao je IAA u uslovima bez povišenih koncentracija soli. Visoka produkcija IAA je zabeležena kod *P. rifietoensis* (264,2 µg/ml IAA) koji je pozitivno uticao na rast i prinos pšenice na zaslanjenom zemljištu (Rajput et al., 2013). Navedeni podaci podržavaju vitalnu ulogu ovog PGP svojstva za rast biljaka u zaslanjenim zemljištima.

IAA zajedno sa ACC deaminazom na koordinisan način stimulišu rast korena (Glick, 2007; Etesami i Glick, 2020). Siddikee et al. (2010) su primetili da halotolerantne bakterije koje produkuju zajedno IAA i ACC deaminazu efikasnije stimulišu izduživanje ćelija i produkciju biomase kod uljane repice od bakterija koje sintetišu samo ACC deaminazu. Među ACC deaminaza produkujućim izolatima u ovom istraživanju, 2A1, 13A4, 13A5, 2Z2 i 1.1. su pokazali sposobnost produkcije IAA, od kojih je

endofitni izolat 13A5 identifikovan kao *Klebsiella oxytoca* a rizosferni 1.1. kao *Pseudomonas nitroreducens* (Tabela 27). Sposobnost produkcije IAA i ACC deaminaze ranije je zabeležena kod halotolerantne *Klebsiella* sp. SBP-8, koja je pokazala ulogu u indukovanoj sistemskoj otpornosti pšenice u uslovima povišene koncentracije soli i temperature (Singh et al., 2015).

6.3.5.2. Uticaj HT PGP na povećanje dostupnosti nutrijenata u prisustvu soli

Zahvaljujući sposobnosti produkcije amonijaka, siderofora i solubilizacije neorganskih jedinjenja, HT PGP bakterije izolovane u okviru ovog istraživanja mogu da povećaju dostupnost esencijalnih biljnih nutijenata kao što su azot, gvožđe, fosfor, kalijum i cink, u uslovima sa i bez povišene koncentracije soli.

Produkcija amonijaka je široko zastupljeno svojstvo PGP bakterija kojim direktno stimulišu biljni rast (Orhan, 2016). Većina testiranih bakterija zadržava ovu sposobnost i pri povećanoj koncentraciji soli u podlozi. Svi sojevi *M. sciuri* 1Z1, 1Z3 i 11Z2, rizosferni *K. indalinina* 6.1 i *K. pakistanensis* 7.3, kao i endofitni predstavnici *K. indalinina* 14KX1 i *Kushneria* sp. 16KX1 izolovani u ovom istraživanju produkuju amonijak pri svim testiranim koncentracijama soli. Rezultati ukazuju da je produkcija amonijaka uobičajena kod predstavnika *Halomonas*, budući da su svi testirani predstavnici pokazali ovo svojstvo i u prisustvu dodatog NaCl. Slične rezultate za produkciju amonijaka kod bakterije *Halomonas* dobili su Mapelli et al. (2013). Svi predstavnici roda *Bacillus* u ovom istraživanju, *B. megaterium* 4Z3, 6Z3 i 13K5, produkuju amonijak u uslovima bez dodate soli. Povećanje koncentracije soli negativno utiče na ovo svojstvo, tako da nijedan predstavnik *Bacillus* nema sposobnost produkcije amonijaka pri 7% NaCl u podlozi. Oliva et al. (2023) su uočili da sa povećanjem koncentracije soli dolazi do smanjenja produkcije amonijaka kod *Bacillus* sp. M21 i M23, dok se kod *Halomonas* sp. QH23 i QH24 produkcija amonijaka odvija samo u prisustvu soli i u pozitivnoj je korelaciji sa njenom koncentracijom. Produkcija amonijaka u HT PGP bakterijama pri povišenim koncentracijama soli je važna za snabdevanje pristupačnim oblikom azota i predstavlja značajnu podršku za rast biljke u uslovima stresa.

Na zaslanjenim zemljištima, biljke su istovremeno pod uticajem povišenih koncentracija soli i smanjene količine dostupnog gvožđa (Fe), što je čest slučaj u slanim sodnim i alkalnim zemljištima bogatim karbonatima širom sveta (Abbas et al., 2018). HT PGP posebno one asocirane sa halofitama, produkuju Fe siderofore (Eteessami i Beattie, 2018; Otlewska, 2020). Rezultati dobijeni u ovom istraživanju pokazuju da sposobnost produkcije siderofora, kao i uticaj povišenih koncentracija soli na ispoljavanje ovog svojstva varira među predstavnicima istog roda. Među sojevima koji pripadaju *Kushneria* i *Halomonas* su predstavnici koji produkuju siderofore u uslovima bez kao i sa dodatom soli. Svi predstavnici *Serratia*, *Mammaliicoccus* i *Pseudomonas* izolovani u ovom istraživanju su istaknuti producenti siderofora pri svim testiranim koncentracijama soli. Produkcija siderofora je ranije potvrđena kod halotolerantne *S. rubidea* ED1 izolovane iz korena kinoa (*Chenopodium quinoa*) sa višestrukim PGP odlikama koje uključuju i produkciju celulaze, amonijaka i IAA (Mahdi et al., 2021). U uslovima bez soli nema produkcije siderofora kod *Bacillus* sp. M21 i M23 i *Halomonas* sp. QH23 i QH24, već samo pri najvišoj testiranoj koncentraciji (3,6% NaCl) (Oliva et al., 2023). Međutim, produkcija siderofora kod predstavnika *Bacillus* izolovanih u ovom istraživanju se dosta razlikuje. *B. megaterium* 6Z3 produkuje siderofore pri svim testiranim koncentracijama soli, dok ostali sojevi *B. megaterium* 4Z3 i 5Z3 nemaju tu sposobnost ni pri jednoj od testiranih koncentracija soli. Ovaj rezultat potvrđuje zaključak Alt Bessai et al. (2023) da uticaj NaCl na ispoljavanje neke PGP odlike nije filogenetski determinisan, već varira među sojevima iste bakterijske vrste. Takođe, prema Oliva et al. (2023) kod jednog soja iste vrste, jedno PGP svojstvo može biti inhibirano, a drugo stimulirano u prisustvu soli, dok kod drugog soja može biti suprotna reakcija.

Fosfor (P) je esencijalni biljni nutrijent neophodan za sve osnovne fiziološke procese kod biljaka. U uslovima visoke pH koji uglavnom vladaju u zaslanjenim zemljištima, fosfati u zemljišnom rastvoru

se lako vezuju za Ca^{2+} prelazeći u nerastvorljiv oblik (Bano i Fatima, 2009; Khan et al., 2010). Bitna osobina HT PGP bakterija asociranih sa halofitama je sposobnost povećanja dostupnosti P biljkama putem solubilizacije neorganskih fosfata (Zhou et al., 2017; Aslam i Ali 2018).

Prisustvo soli je jedan od faktora koji imaju značajan uticaj na solubilizaciju fosfata bakterijama (Mahdi et al., 2021), što se vidi i po rezultatima dobijenim u ovom istraživanju. *Acinetobacter calcoaceticus* 14A2, *Klebsiella aerogenes* 14A5 i *Pseudomonas* sp. 15A2 pokazuju sposobnost solubilizacije fosfata pri 3% NaCl što im ujedno predstavlja i gornju granicu halotolerancije (Tabela 19). Sposobnost solubilizacije fosfata je izražena među predstavnicima *Klebsiella*, što su pokazala i istraživanja Singh et al. (2015) za *Klebsiella* sp. SBP-8 kao i Gontia Mishra et al. (2017) za *Klebsiella* Zn8. Kod predstavika *Pseudomonas* izolovanih u ovom radu, uticaj povišene koncentracije soli na solubilizaciju fosfata zavisio je od soja. Sojevi *Pseudomonas* sp. 15A1 i *P. putida* 16A1 (Tabela 23b) solubilizuju fosfate samo u uslovima bez prisustva povišene koncentracije soli, dok *Pseudomonas* sp. 15A2 zadržava ovo svojstvo i pri 3% NaCl. Rizosferni *P. nitroreducens* 1.1 solubilizuje fosfate pri svim testiranim koncentracijama soli. Solubilizacija fosfata kod rizosfernih sojeva *K. indalinina* 6.1 i *K. pakistanensis* 7.3 zavisi od prisustva soli, dok je endofitna *K. indalinina* 16.1. ispoljila i zadržala ovo svojstvo pri svim testiranim koncentracijama soli. Prethodna istraživanja naglašavaju ulogu *Kushneria* u snabdevanju biljaka fosforom u zaslanjenim staništima. Teles et al. (2024) ističu da je od svih izolata iz rizosfere *Salicornia fruticosa*, izolat iz roda *Kushneria* sp. SS102 pokazao najveću sposobnost solubilizacije fosfata, a da je solubilizacija fosfata često svojstvo predstavnika ovog roda koje se zadržava u uslovima povećane zaslanjenosti pokazali su i Zhu et al. (2011).

Povišene koncentracije soli imaju pozitivan uticaj na solubilizaciju fosfata kod predstavnika *Bacillus* izolovanih u ovom istraživanju. *B. megaterium* 4Z3 solubilizuje fosfate samo u prisustvu dodate soli, dok se u uslovima bez soli prosvetljena zona ne detektuje. Prisustvo soli imalo je pozitivan uticaj na indeks solubilizacije fosfata sojem *B. megaterium* 6Z3 i 13K5 koji se održao i uvećavao sa porastom koncentracije soli (Tabela 21b i 23b). Slične rezultate su dobili Abdelmoteleb i Gonzales-Mendoza (2020) za halotolerantni *B. megaterium* AL-18 koji zadržava svojstvo solubilizacije trikalcijum fosfata pri povišenoj koncentraciji soli sa maksimalnim solubilizacionim indeksom pri 6% NaCl. Fosfat solubilizirajući *B. megaterium* AL-18 stimulusao je rast pasulja (*Phaseolus vulgaris*) u uslovima stresa izazvanog povišenom koncentracijom soli *in vivo* (Abdelmoteleb i Gonzales-Mendoza, 2020).

B. megaterium ima važnu ulogu u snabdevanju biljke fosforom putem kombinacije različitih mehanizama. Ulogu u kruženju fosfora ostvaruje solubilizacijom mineralnih i mineralizacijom organskih oblika u ortofosfate dostupne biljkama (Liu et al., 2023), što uz indirektan uticaj na sastav mikrobiote u rizosferi rezultuje boljim snabdevanjem biljke fosforom u uslovima povišene koncentracije soli (Zhu et al., 2023). U slanim zemljištima u kojima je čest deficit fosfora, *B. megaterium* je dobar kandidat za biofertilizaciju u cilju povećanja produktivnosti i održivog upravljanja zemljištem.

Sposobnost solubilizacije fosfata kod predstavnika *Serratia* se razlikuje između sojeva iste vrste. U ovom istraživanju *S. rubidea* 3Z2 je zadržala sposobnost solubilizacije fosfata na svim testiranim koncentracijama soli, dok je kod rizosferne *S. rubideae* 8.2 ovo svojstvo izostalo čak i u uslovima bez povišene koncentracije soli (Tabela 21b i 22b), pri čemu oba soja tolerišu do 7% NaCl u podlozi. Sposobnost solubilizacije fosfata halotolerantne *Serratia rubidea* ED1 (toleriše do 10% NaCl) opada sa dodatkom soli u istraživanju Mahdi et al. (2021). Ovi podaci pokazuju da povišene koncentracije soli različito utiču na sposobnost solubilizacije fosfata kod halotolerantnih sojeva, predstavnika iste vrste *Serratia*.

Solubilizacija fosfata kod ekstremno halotolerantnih *Mammaliicoccus* (bivši *Staphylococcus*) u ovom istraživanju zavisila je od koncentracije soli i soja. Soj *M. sciuri* 1Z1 solubilizuje fosfate pri svim testiranim koncentracijama soli dok je kod sojeva *M. sciuri* 11Z2 i 1Z3 solubilizacija zabeležena

samo u prisustvu soli (Tabela 21b). Sposobnost *Staphylococcus* da u prisustvu povišenih koncentracija soli solubilizuju fosfate zabeležena je i ranijim istraživanjima. *Staphylococcus* SAT 17 pokazala je sposobnost solubilizacije fosfata do 12% (2M NaCl) u podlozi, ali se ona smanjuje sa povećanjem količine soli (Akram et al., 2016).

U zemljištima u kojima dolazi do povećane akumulacije soli natrijum (Na^+) indukuje nedostatak kalijuma (K^+) (Nawaz et al., 2023). Stoga je uloga bakterija koje solubilizuju kalijum (K) (KSB) veoma značajna zbog dodatno smanjene dostupnosti kalijuma biljkama (Otlewska et al., 2020). Pored toga, kao kofaktor mnogih enzima i neophodan biljni mikroelement, cink (Zn) ima bitnu ulogu u biosintezi IAA i značajnu ulogu u brojnim metaboličkim procesima kod biljaka (Gandhi i Muralidharan, 2016; Otlewska, 2020; Srithaworn et al., 2023), stoga su od posebnog značaja bakterije koje mogu različitim mehanizmina da solubilizuju cink iz mineralnih izvora kao što su ZnO i ZnCO_3 (Gontia Mishra et al., 2017b).

Među sojevima ACC kolekcije *Klebsiella aerogenes* 14A5 i *Acinetobacter calcoaceticus* 14A2 su najistaknutiji sojevi u pogledu solubilizacije kalijuma i cinka, pri čemu imaju i sposobnost solubilizacije fosfata. Kod ovih sojeva, sa dodatkom soli dolazi do smanjenja halo zone u slučaju solubilizacije kalijuma dok se kod solubilizacije cinka veličina halo zone uvećava u prisustvu soli (Tabela 23b). Ranijim istraživanjima pokazano je da su solubilizacija kalijuma i cinka svojstva rasprostranjena među predstavnicima *Klebsiella* i *Acinetobacter*. U istraživanju Gontia Mishra et al. (2017) najveći broj ACC deaminaza pozitivnih PGP bakterija sa ovim svojstvima pripada rodu *Klebsiella*, dok su neki od izolata identifikovani kao predstavnici *Acinetobacter*. Rizosferni i endofitni predstavnici *Klebsiella* su opisane kao KSB (Zhang i Kong 2014; Biswas et al., 2023). Sposobnost solubilizacije kalijuma pri 7% NaCl je zabeležena kod halotolerantnih *Acinetobacter pittii* L1/4 i L3/3 (Ashfaq et al., 2020), a solubilizacija cinka kod *Acinetobacter* sp. AGM3 i AGM 9 izolovanih iz korena pirinča (Gandhi i Muralidharan, 2016). Pored predstavnika *Klebsiella*, Gontia-Mishra et al. (2017), su zabeležili sposobnost solubilizacije cinka kod ACC pozitivnog *Pseudomonas aeruginosa* Zn 9 koji je ispoljio višestruka PGP svojstva uključujući i solubilizaciju kalijuma i fosfata.

ACC deaminaza produkujući *Pseudomonas* sp. 15A1, *Pseudomonas* sp. 15A2 i *P. putida* 16A1 testirani u okviru ove disertacije imaju sposobnost solubilizacije kalijuma i cinka, pri čemu sa dodatkom soli dolazi do smanjenja halo zona. Sposobnost solubilizacije kalijuma pri svim testiranim koncentracijama NaCl uz porast halo zone sa dodatkom soli pokazao je i rizosferni *P. nitroreducens* 1.1 iz HAL kolekcije koji produkuje ACC deaminazu (Tabela 22b; Slika 16). *K. pakistanensis* 7.3 samo u prisustvu soli solubilizuje kalijum, dok se ostali predstavnici *Halomonas* i *Kusheria* u ovoj disertaciji nisu istakli u pogledu solubilizacije kalijuma i cinka. *B. megaterium* 6Z3 pokazao je sposobnost solubilizacije cinka, pri čemu je prečnik halo zone u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom soli. S obzirom na ulogu cinka u ishrani biljaka, bakterije koje solubilizuju cink imaju značajnu ulogu u stimulaciji rasta poljoprivrednih useva što je potvrđeno istraživanjima Mumtaz et al. (2017), gde su sojevi identifikovani kao *Bacillus* sp. ZM20, *Bacillus aryabhattai* ZM31 i *Bacillus subtilis* ZM63 pozitivno uticali na dužinu, suvu i svežu masu korena kukuruza. Tretman mladih biljaka soje *Priestia megaterium* KAH109 i *P. aryabhattai* KEX505 sa sposobnošću solubilizacije cinka i višestrukim PGP odlikama doveo je do značajnog povećanja biomase i prinosa (Srithaworn et al., 2023).

6.3.5.3. Uticaj povišene koncentracije soli na sposobnost produkcije egzopolisaharida (EPS) i formiranje biofilma kod HT PGP izolata

Vezivanjem katjona, bakterijski EPS smanjuju dostupnost Na^+ jona biljkama za usvajanje i pomažu u uslovima povišenih koncentracija soli (Upadhyay et al., 2011). Produkcija EPS i stvaranje biofilma su bitni mehanizmi za preživljavanje halotolerantnih bakterija, ali i važna PGP svojstva za

olakšavanje efekata stresa kod biljaka (Etesami i Beattie, 2018). EPS i biofilmovi omogućavaju PGP bakterijama kolonizaciju korena i stvaraju zaštitni omotač na površini korena koji pruža biljkama zaštitu od isušivanja, stresa izazvanog Na⁺ u slanim uslovima kao i od teških metala kao što je bakar (Qurashi i Sabri, 2012a; Ruppel et al., 2013).

Predstavnici *Bacillus* i *Pseudomonas* se međusobno razlikuju po sposobnosti produkcije EPS i stvaranja biofilma. U ovom istraživanju, endofitni *B. megaterium* 13K5 se ističe po produkciji EPS i biofilma u svim testiranim uslovima, dok su zemljišni *B. megaterium* 5Z3 i 6Z3 slabo biofilm-produkujući, bez sposobnosti produkcije EPS pri 7% NaCl. *H. meridiana* 14KX2 i *H. songnenensis* 16K2, 16K5 i 16K7 se ističu po sposobnosti produkcije EPS i biofilma u prisustvu različitih koncentracija soli (Tabela 23a). Ranijim istraživanjima *H. meridiana* PAa6 je pokazao maksimalnu produkciju biofilma pri 1M NaCl (~6%NaCl) i ispitivana PGP svojstva produkcije biofilma, EPS, kolonizacije korena su bila efikasnija u prisustvu soli u odnosu na *K. indalinina* (HT2) i *H. aquamarina* (ST2) (Qurashi i Sabri, 2012b). Slični rezultati su dobijeni u ovom istraživanju gde su *K. indalinina* 16.1 i 16.2. produkovali EPS u prisustvu soli, ali su manje efikasni u stvaranju biofilma u odnosu na *H. meridiana* 14KX2. U istraživanju Qurashi i Sabri (2012a) kod halotolerantnih *H. variabilis* (HT1) i *Planococcus rifietoensis* (RT4) postoji pozitivna korelaciju između produkcije EPS i biofilma i povećanja koncentracije soli. Ovi sojevi su imali pozitivan uticaj na formiranje agregata u zemljištu i na površini korena (Qurashi i Sabri, 2012a), što ukazuje na još jednu važnu ulogu bakterijskih EPS. Međutim, svojstvo produkcije EPS se takođe ne može vezati za bakterijsku vrstu jer za razliku od gore pomenutog predstavnika *P. rifietoensis*, *P. rifietoensis* 15K2 u ovoj disertaciji je ispoljio višestruka pozitivna PGP svojstva uz slabu sposobnost formiranja biofilma i smanjenu produkciju EPS sa povećanjem koncentracije soli u podlozi. Povećanje koncentracije soli utiče na smanjenje, ali ne dovodi do gubitka sposobnosti testiranih bakterija da produkuju EPS i biofilm, što može da ukaže da su halotolerantne bakterije sposobne da razviju zajednicu u uslovima povišene koncentracije soli, kao i da kolonizuju koren biljaka i čestice zemljišta što je od izuzetne važnosti za potencijalnu aplikaciju.

Uticaj povišene koncentracije soli u ovom istraživanju na ispoljavanje testiranih PGP osobina varirao je među sojevima iste vrste, što je u skladu sa zaključcima Alt Bessai et al. (2023) koji ističu da PGP svojstvo ne zavisi od pripadnosti određenoj vrsti već je odlika pojedinačnog soja. Sa povećanjem koncentracije soli, kod većine izolata je došlo do gubitka ili smanjenje vrednosti ispitivanog parametra, što ukazuje na negativan uticaj soli na ispoljavanje PGP svojstava. I pored toga, izdvajaju se sojevi kod kojih se i prilikom povećanja koncentracije soli zadržava određeno PGP svojstvo i to su upravo izolati koji su kandidati za formiranje kolekcije HT PGP za potencijalnu primenu u sekundarno zaslanjenim zemljištima. Među bakterijama izolovanim iz zemljišta, rizo i endorizosfere biljaka sa zaslanjenog staništa, nakon testiranja PGP osobina, dobijena je kolekcija halotolerantnih bakterija čija PGP svojstva se međusobno dopunjuju i koja predstavlja vredan resurs za dizajn bakterijskog konzorcijuma za potencijalnu primenu.

6.4. Uticaj bakterijske inokulacije na parametre germinacije odabranih biljnih vrsta u uslovima povišene koncentracije NaCl

Brz i ujednačen razvoj snažnih klijanaca omogućava usevima bolje korišćenja resursa, toleranciju abiotičkog i biotičkog stresa i opstanak u nepovoljnim uslovima životne sredine (Cardarelli et al., 2022). Uspesna germinacija je kritičan faktor u biljnoj proizvodnji, jer je zajedno sa ranim rastom najosetljivija razvojna faza biljke, posebno u uslovima stresa solima. Povećana koncentracija soli u zemljištu utiče na morfološke, biohemijske i fiziološke aspekte biljnog rasta. Usevi se razlikuju u pogledu tolerancije na povišen salinitet u zemljištu, većina zadržava sposobnost rasta dok je prinos redukovan (Kaveh et al., 2011; Bhise i Dange, 2019).

Primena HT PGP u inokulaciji semena je tehnologija koja može ublažiti ili eliminisati negativan uticaj povećanog saliniteta na germinaciju. Egzogeni IAA koji proizvode HT PGP bakterije stimuliše rast korenovog sistema olakšavajući apsorpciju hranljivih materija čime pozitivno utiče na klijavost (Ait Bessai et al., 2023). Sposobnost degradacije ACC koji se proizvodi za vreme stresa je važan mehanizam HT PGP kojim se redukuje visoka koncentracija etilena koji inhibitorno deluje na germinaciju (Siddique et al., 2010). Pored toga, bitno svojstvo je produkcija EPS-a, koji doprinose boljoj germinaciji tako što omogućavaju PGP bakterijama da kolonizuju površinu semena (Sagar et al., 2022).

Halotolerantne bakterije odabrane za inokulaciju, *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2, pokazale su višestruka PGP svojstva. *B. megaterium* 6Z3 predstavnik je roda bakterija koje su dobro poznate sa aspekta biofertilizacije i biološke kontrole, toleriše do 12 % NaCl u podlozi i raste u širokom opsegu temperature i pH vrednosti (Tabela 18a i b). Ekološke karakteristike soja *B. megaterium* 6Z3 uz sposobnost produkcije spora su korisne osobine koje ovaj soj izolovan iz slanog zemljišta čine konkurentnim u ispoljavanju korisnih efekata na rast biljke u nepovoljnim uslovima sredine i različitim tipovima zemljišta, posebno u uslovima povišene koncentracije soli. Endofitni *H. songnenensis* 14KX2, izolovan je iz korena sukulente biljke *S. maritima* i raste do 18 % NaCl u podlozi. Kao predstavnik tipičnih halofilnih/halotolerantnih bakterija slanih staništa toleriše veće koncentracije soli i PGP svojstva postaju izraženija sa dodatkom soli (Tabela 20a i b), što ga zajedno sa testiranim svojstvima stimulacije biljnog rasta čine dobrim izborom za primenu u tretmanu semena u uslovima povišene koncentracije soli.

Izabrani sojevi, *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2, pokazali su sposobnost sinteze IAA i pri povišenim koncentracijama soli čime stimulišu klijanje i razvoj korenovog sistema i doprinose rastu klijanaca u ranim fazama rasta (Alt Bessai et al., 2023). Ovi sojevi nemaju sposobnost rasta na DF podlozi sa dodatkom ACC, što ukazuje da ne mogu da razgrađuju ACC. Oba soja imaju mogućnost stvaranja EPS i produkcije biofilma što su korisna svojstva za preživljavanje i kolonizaciju semena i korena. Što se tiče uticaja na snabdevanje biljke nutrijentima, oba soja proizvode amonijak, izvor azota za biljke koji istovremeno može da deluje inhibitorno na fitopatogene gljive (Alt Bassai et al., 2023), kao i siderofore koje vezuju gvožđe i mogu da ga učine dostupnim biljkama za usvajanje. *B. megaterium* 6Z3 za razliku od *H. songnenensis* 14KX2 pokazuje i sposobnost solubilizacije fosfata i cinka. Značaj solubilizacije fosfata je veći u zaslanjenim zemljištima u kojima je količina dostupnog fosfora dodatno umanjena prelaskom u nerastvorljive oblike (Alt Bassai et al., 2023) i činjenica da *B. megaterium* 6Z3 ima sposobnost solubilizacije fosfata može doprineti rastu i razvoju biljke. *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 nisu pokazali sposobnost produkcije hemolizina kao ni produkcije enzima DNaze koja degradira DNK, stoga se smatraju bezbednim za primenu u narednim delovima istraživanja. Budući da testirana svojstva karakterišu humane patogene (Knežević-Vukčević, 1999), njihovo ispitivanje je važno prilikom odabira sojeva za razvoj inokulanta. Ispoljavanje ovih svojstva može da se razlikuje među sojevima iste vrste, stoga testiranje pojedinačnih sojeva osigurava korišćenje mikroorganizama koji ne predstavljaju rizik po zdravlje i životnu sredinu.

Germinacija je kompleksan proces i njena uspešnost se meri determinisanjem vrednosti procenta germinacije (GP), prosečnog vremena germinacije (MGT), germinacijskog indeksa (GI), vigora I i vigora II kao germinacijskih parametara.

Od useva koji su testirani u ovom istraživanju, ječam i pšenica se smatraju usevima tolerantnim na soli dok je suncokret umereno tolerantan (Maas i Grattan, 1999). Tolerancija na soli varira - među usevima i zavisi od tipa i uslova u zemljištu (npr. vrste soli i distribucije kroz profil, sadržaja vode), microbiote zemljišta, sorte i faze rasta biljke, kao i agronomskih praksi pre svega navodnjavanja i načina setve (Maas i Grattan, 1999; Daliacopoulos et al., 2016).

Ograničena dostupnost vode i nakupljanje jona dovode do smanjenog klijanja, uzrokujući brojne promene u enzimskim i hormonalnim aktivnostima semena, što dalje utiče na strukturnu organizaciju embriona tokom klijanja (Kerbab et al., 2021). Odlaganje klijanja i izbijanja klijanca iz zemljišta su jedan od ključnih efekata stresa solima na biljku. Usporavanje klijavosti može imati fatalne posledice po uspostavljanje populacije useva ako se mladi izdanci, koji su već izloženi stresu solima suoče sa dodatnim izvorima abiotičkog stresa kao što je nedostatak vode, visoka temperatura ili narušena struktura zemljišta (Maas i Grattan, 1999).

Jedan od osnovnih parametara za opisivanje uspešnosti germinacije je GP koji predstavlja broj prokljalih semena u odnosu na ukupan broj semena izražen u procentima i odražava vijabilnost semena. U uslovima bez inokulacije, povećanje koncentracije soli nije uticalo na GP ječma u ovom istraživanju, dok je kod pšenice i suncokreta dovelo do smanjenja GP. Povećanje koncentracije soli najviše je uticalo na GP pšenice, smanjujući ga za 35% pri 100 mM NaCl, dok pri 200 mM nije bilo klijanja ni u slučaju inokulisanih semena. GP suncokreta se smanjio za 13,4% pri 100 mM i za 18,8% pri 200 mM kod kontrolnih semena. Slične negativne efekte usled povećanja koncentracije soli na GP pšenice zabeležili su i Lee et al. (2021), kod kojih je GP iznosio samo 16% pri 200 mM NaCl, dok na koncentraciji od 250 mM nije bilo klijavosti (Lee et al., 2021).

U slučaju inokulisanih semena, uticaj odabranih sojeva na GP se razlikovao međusobno, kao i u zavisnosti od koncentracije soli. U uslovima bez dodate soli, efekti inokulacije na GP su zabeleženi kod ječma i pšenice dok je GP kontrolnih semena suncokreta iznosio 90% i nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na tretmane. Pri maksimalnim testiranim koncentracijama soli kod suncokreta (200 mM NaCl) i pšenice (100 mM NaCl), samo inokulacija sa *H. songnenensis* 14KX2 dovela je do povećanja GP dok *B. megaterium* 6Z3 nije imao statistički značajnog uticaja. Međutim, u slučaju ječma oba bakterijska tretmana su dovela do povećanja GP pri 200 mM NaCl (Tabela 28). Efekti inokulacije *H. songnenensis* 14KX2 na GP su vidljivi kod svih testiranih useva i izraženiji su od efekata inokulacije *B. megaterium* 6Z3 pri većim koncentracijama soli, što može biti posledica veće halotolerancije predstavnika *Halomonas*. U ovom istraživanju, inokulacija *B. megaterium* 6Z3 dovela je do povećanja GP pšenice u uslovima bez dodate soli, za razliku od rezultata Kerečki (2023) gde *B. megaterium* 11/3 nije imao statistički značajan efekat na klijavost pšenice pod istim uslovima što ističe ulogu korišćenog soja na efekte inokulacije. Određena istraživanja ukazuju na pozitivan uticaj inokulacije semena na GP useva. Nakon inokulacije sa *B. megaterium* PN89, GP pšenice u radu Lee et al. (2021) je povećan za 6%. Tretman semena dve sorte suncokreta pomoću *Bacillus* sp. KS-54 dovelo je do povećanja GP za 47% i 25% (Den et al., 2021). Različiti efekti inokulacije *B. megaterium* na GP istih kultura ukazuju da PGP potencijal nije filogenetski determinisan već zavisi od specifičnih odlika pojedinačnih sojeva (Ait Bessai et al., 2023), što potvrđuju i rezultati ovog istraživanja.

Međutim, GP prikazuje ukupan broj prokljalih semena (Kader, 2005), ali ne daje podatke o uniformnosti i brzini procesa germinacije. Zato se za potpuniji opis germinacionog procesa koriste dodatni parametri.

MGT je važan germinacijski parametar koji pruža informaciju o prosečnom vremenu za koje grupa semena proklija i odnosi se na broj dana kada se germinacija završava (Kader, 2005). Niže vrednosti MGT znače brzo klijanje i bolji vigor semena, što omogućava raniji razvoj biljke. Još jedan važan parametar za opisivanje germinacije koji pored broja prokljalih semena uzima u obzir brzinu germinacije je GI (Kader et al., 2005). Povećanje vrednosti GI predstavlja pozitivan efekat inokulacije PGP jer ukazuje na bržu germinaciju i vigor semena. Brža germinacija i vigor semena su posebno važni u zaslanjenim zemljištima, gde usporen razvoj klijanca omogućava produženo delovanje stresa solima kao i pridruženo delovanje drugih oblika abiotičkog stresa što smanjuje verovatnoću preživljavanja biljke (Maas i Grattan, 1999; Kerečki, 2023).

Rezultati testa germinacije su pokazali da u prisustvu soli bakterijski tretmani sa *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 dovode do smanjenja vrednost MGT kod ječma i suncokreta, dok kod pšenice promene u MGT nisu zabeležene. Slično, kod ječma i suncokreta oba soja su uticala na povećanje GI u uslovima povišene koncentracije soli, dok je kod pšenice samo tretman *H. songnenensis* 14KX2 imao pozitivan efekat na GI. HT PGP *H. songnenensis* 14KX2 je pokazao bolje rezultate u uslovima veće koncentracije soli što može biti rezultat sposobnosti ovog soja da toleriše veće količine soli (Tabela 20a), pri čemu pokazuje i značajna PGP svojstva. Smanjenje MGT useva kao posledicu inokulacije PGP bakterijama, zabeleženo je kod Kerečki (2023) nakon inokulacije kukuruza sa *B. megaterium* 11/3 (33%) u uslovima bez dodate soli. Prethodna istraživanja su pokazala da je inokulacija semena pšenice i ječma HT PGP bakterijama dobra strategija za povećanje klijavosti i otpornosti klijanaca u uslovima povećanog saliniteta. HT PGP *Halomonas* SL 9 indukuje otpornost prema povećanom salinitetu kod pšenice (Tiwari et al., 2011). Takođe, inokulacija halotolerantnim predstavnicima *Bacillus* sp. i *Oceanibacillus* sp. poboljšala je otpornost pšenice (*Triticum turgidum* subsp. durum) pri 200 mM NaCl (Albdaiwi et al., 2019), dok je inokulacija predstavnicima roda *Pseudomonas* značajno povećala GP ječma (Zaib et al., 2023) kao i GP i GI pšenice (Nadeem et al., 2013) u uslovima povećanog saliniteta.

Kompleksan parametar koji oslikava celokupan potencijal semena za uspešnu germinaciju i razvoj biljaka je vigor semena. Prethodna istraživanja ističu vigor klijanaca kao važan parametar koji odražava kvalitet semena i utiče na uspešnost uspostavljanja klijanaca u različitim uslovima zemljišta (Damodaran et al., 2018).

Rezultati su pokazali da *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 utiču na povećanje vrednosti vigora kod ispitivanih biljnih vrsta. Uticaj inokulacije na vigor I i II postaje izraženiji sa dodatkom soli, odnosno u uslovima stresa. Povećanje vigora semena može da bude posledica produkcije auksina u HT PGP bakterijama koja je kod odabranih sojeva zabeležena i u prisustvu povišenih koncentracija soli. Egzogeni auksin utiče na proces klijanja interakcijom sa apscisinskom kiselinom, giberelinima i putevima posredovanim etilenom (Sorty et al., 2016) čime poboljšava ćelijske odbrambene sisteme pokrećući klijanje čak i uslovima stresa (Kerbab et al., 2021).

Povećanje vigora semena je važan efekat inokulacije PGP bakterijama koji je ključan za bržu germinaciju i razvoj klijanaca omogućavajući im bolje prilagođavanje stresnim uslovima. *H. songnenensis* 14KX2 se pokazao kao odličan izbor za inokulaciju semena u prisustvu povišenih koncentracija soli i ispoljio je značajan efekat na povećanje vigora svih tretiranih semena. U ogledu sa pšenicom, samo je inokulacija *H. songnenensis* 14KX2 imala uticaja na povećanje vigor II u prisustvu soli, dok je kod ječma dovela do povećanja vigor I za 103% pri 100 mM NaCl. Istovremeno, najistaknutiji uticaj na vigor semena zabeležen u ovom radu postignut je inokulacijom semena suncokreta sa *H. songnenensis* 14KX2 pri čemu je došlo do povećanja vigora I za čak 220%.

Tretman *B. megaterium* 6Z3 je doveo do povećanja vigora kod suncokreta i ječma u prisutvu soli, pri čemu je izraženiji efekat ostvario kod ječma (Tabela 28). U radu Kerečki (2023) u uslovima bez povišene koncentracije soli, inokulacija *B. megaterium* 11/3 dovela je do povećanja vigor II kod pšenice, za razliku od *B. megaterium* 6Z3 u ovom istraživanju koja nije imala efekta na vigor II, već samo na vigor I kod pšenice.

Brojna istraživanja potvrđuju pozitivan efekat inokulacije predstavnicima HT PGP *Bacillus* na povećanje vigor I i vigor II poljoprivrednih kultura u uslovima povišenog saliniteta. Inokulacija semena pšenice sa *Lysinibacillus* sp A-16, *Lysinibacillus fusiformis* A-11 i *Bacillus licheniformis* M-16 (Damodaran et al., 2018) kao i *Bacillus atropheus* BR5 (Kerbab et al., 2021) dovela je do povećanja vigor I i vigor II i stimulacije rasta pšenice. Primenom konzorcijuma *Bacillus amyloliquefaciens* BS-56 i BS-10 i *Pseudomonas fluorescens* S-90 u uslovima stresa soli (5% NaCl), Singh et al. (2021) potvrdili su povećanje dužine klijanaca i vigora I za 42,80% i vigora II za 81,23% u odnosu na kontrolu kod prosa (*Echinochloa frumentacea*). Tretman semena pšenice IAA

produkujućim *B. megaterium* PN89 doveo je do povećanja GP, dužine korenskog i nadzemnog dela klijanaca i drugih parametara rasta u odnosu na kontrolu u uslovima povećane koncentracije soli (uključujući i 200 mM NaCl) u radu Lee et al. (2021), koji ističu da ovaj soj može biti korišćen kao biofertilizator za povećanje otpornosti pšenice u uslovima povišene koncentracije soli.

Uticaj bakterijske inokulacije na dužinu i masu testiranih biljaka istaknutiji je sa dodatkom soli. Najveće povećanje dužine klijanaca postignuto je kod suncokreta (167%) inokulacijom *H. songnenensis* 14KX2 pri koncentraciji soli od 200 mM NaCl. Delovanjem oba bakterijska tretmana pri 200 mM NaCl postignuta su povećanja u suvoj masi klijanaca kod pšenice i ječma, dok je kod suncokreta samo tretman *H. songnenensis* 14KX2 povećao suhu masu. Ranijim istraživanjima je pokazan pozitivan uticaj inokulacije na rast i povećanje biomase klijanaca. Tretman semena kukuruza sojem *Bacillus* sp. MGW9 doveo je do povećanja suve mase korena i nadzemnog dela klijanaca od 61,5% i 61,1% u uslovima stresa solima (Li et al., 2021). Inokulacija semena pšenice pomoću pet halotolerantnih sojeva rezultovala je smanjenjem stresa solima i povećanjem dužine klijanaca za 71,7% u odnosu na neinokulisanu kontrolu (Ramados et al., 2013). *Hallobacillus* sp. SL3 i *Bacillus halodenitrificans* PU62 su pokazali preko 90% povećanja u dužini i 17% u suvoj masi u poređenju sa kontrolom pri 320 mM NaCl što ukazuje na značajnu redukciju efekata stresa (Ramados et al., 2013).

PGP svojstva odabranih inokulanata *H. songnenensis* 14KX2 i *B. megaterium* 6Z3, kojima utiču na povećanje dostupnosti nutrijenta (produkcija amonijaka, siderofora, solubilizacija fosfata i cinka) i produkcija auksina kojima direktno ostvaruju efekat na rast su došla do izražaja u uslovima povišene koncentracije soli i dovela do povećanja biomase testiranih biljaka. Efekti inokulacije na parametre germinacije i rast klijanaca odabranih biljaka predstavljaju potvrdu PGP osobina koje su odabrani bakterijski sojevi ostvarili u uslovima povećane koncentracije soli. Oba soja su pokazala izuzetnu sposobnost halotolerancije i otpornosti na visok osmotski pritisak, što ih čini podesnim za preživljavanje tokom procesa proizvodnje biofertilizatora i inokulacije semena.

6.5. Inkapsulacija odabranih halotolerantnih bakterija

Ekološke osobine, PGP svojstva i pozitivni efekti koje su ostvarili na germinaciju semena i rani razvoj klijanaca tri useva u uslovima bez i u prisustvu soli su uticali da se ove bakterije odaberu za proces inkapsulacije radi formulacije za potencijalnu primenu.

6.5.1. Morfološke karakteristike i aktivnost vode (aw) inkapsulata

Interakcija između Na-alginata i sredstva za geliranje (CaCl_2), tj. Ca^{2+} je brzi proces koji omogućava dobijanje inkapsulata u širokom opsegu veličine čestica, oblika i sa relativno velikim udelom aktivne supstance, bez narušavanja strukture inkapsulata (Lević i sar., 2015).

Pojava izduženih čestica je uočena verovatno kao posledica prisustva mehurova vazduha koji su kod manjeg dela čestica ostali u strukturi alginata na početku ili na kraju procesa inkapsulacije kada je dolazilo do ujednačenja/smanjenja protoka rastvora za inkapsulaciju. Sličan sistem (alginat-skrob) su koristili i Schoebitz i sar. (2013) za inkapsulaciju bakterija i njihovo korišćenje u razgradnji fosfata. Sistem se po autorima pokazao kao veoma pogodan za ovu namenu, omogućavajući bolje očuvanje životnih funkcija ćelija, uz dobru aktivnost kada je u pitanju rastvaranje fosfata.

Dodatak materijala koji deluje kao punilac ima pozitivne efekte na sprečavanje skupljanja inkapsulata (Lević i sar., 2015). U ovom radu korišćen je skrob kao dodatak-punilac alginatu. Očuvanje strukture inkapsulata nakon sušenja je od velikog značaja za njihovu dalju primenu jer strukturno stabilni

inkapsulati mogu se ravnomerno dozirati i omogućavaju jednostavnu primenu. Međutim, primećeno je da inkapsulati sušeni procesom liofilizacije imaju mehanička svojstva koja su nepovoljnija u odnosu na inkapsulate sušene u sušnici. Iz ovog razloga nije vršena dalja analiza vijabilnosti ćelija liofilizovanih inkapsulata kod njihovog skladištenja.

Aktivnost vode ima veliki značaj za očuvanje životnih aktivnosti ćelija i generalno se teži da aktivnost vode (a_w vrednost) bude što niža kako bi se ćelije mogle čuvati tokom dužeg vremenskog perioda. Uticaj a_w vrednosti na preživljavanje bakterijskih ćelija je najviše proučavan kod probiotika, gde je očuvanje vijabilnosti ćelija tokom perioda skladištenja od suštinskog značaja za očuvanje kvaliteta i funkcionalnih svojstava proizvoda sa probioticima. Prema dostupnim literaturnim podacima, broj probiotičkih ćelija se smanjuje drastično tokom vremena sa povećanjem a_w vrednosti, pri čemu a_w vrednosti od oko 0,4 su uslovile brzi pad broja živih ćelija (Vesterlund i sar., 2012). Rezultati ostvareni u ovoj tezi ukazuju da su uzorci osušeni u granicama a_w vrednosti koje im obezbeđuju relativno stabilne uslove čuvanja proizvoda i očuvanja vijabilnosti ćelija.

6.5.2. Uticaj procesa inkapsulacije na vijabilnost inkapsulisanih ćelija

Odabir adekvatne formulacije mikrobiološkog preparata je važan faktor koji utiče na efekte primene (Schoebitz et al., 2013). Održati vijabilnost PGP bakterija i konstantnu brojnost tokom skladištenja do upotrebe kao i osigurati preživljavanje u zemljištu nakon aplikacije je izazovno. Direktno unošenje bakterija bez adekvatne zaštite u zemljište može da dovede do naglog opadanja brojnosti i smanjenja efikasnosti preparata usled kompeticije sa autohtonom mikroflorom ili delovanjem abiotičkog stresa (Szopa et al., 2022). U cilju boljeg preživljavanja tokom skladištenja i nakon aplikacije, mikroorganizmi se imobilizuju i pomoću različitih nosača formulišu u mikrobiološki inokulant (Szopa et al., 2022). Inkapsulacija bakterija je efikasna tehnika u zaštiti ćelije od nepovoljnih ekoloških uslova u zemljištu, pruža očuvanje njihove aktivnosti kao PGP, opstanak u zemljištu i bakterijsku kolonizaciju oko korena (Saberri Riseh et al. 2021). Efikasnost tehnike inkapsulacije PGP bakterija potvrđena je ranijim istraživanjima. Nakon tri godine skladištenja na 4 °C, stopa preživljavanja *B. subtilis* NRRL B-30408 i *Pseudomonas corrugata* NRRL B-30409 inkapsulisanih u Na-alginatu iznosila je 10^8 CFU/g pri čemu su zadržale svoja PGP svojstva (Trivedi i Pandey, 2008). Rezultati Trivedi i Pandey (2008), pokazuju da su imobilisane ćelije *Bacillus* na nosaču od alginata podesnije za dugotrajno čuvanje od *Pseudomonas*. Inkapsulacija pruža sporogenim bakterijama dodatni nivo otpornosti na nepovoljne uslove sredine, a nesporogenim bakterijama potencijalno omogućava da očuvaju vijabilnost čime se proširuje mogućnost korišćenja većeg broja PGP ili biokontrolnih sojeva u realnoj proizvodnji u poljskim uslovima (Rojas-Sanchez et al., 2022). *Klebsiella oxytoca* Rs-5 inkapsulisana pomoću alginata značajno je doprinela rastu biljke pamuka u uslovima povišene koncentracije soli u odnosu na neinkapsulisane bakterije istog soja (Wu et al., 2011).

Sojevi *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 koji su pokazali višestruke pozitivne efekte na germinaciju odabranih biljaka u uslovima povišene koncentracije soli inkapsulisani su u sistemu na bazi Ca-alginata i skroba. Biorazgradivost zaštitinih polimera osigurava kontrolisano otpuštanje bakterija u zemljište olakšavajući kolonizaciju (Szopa et al., 2022). Alginat je najčešće korišćeni biopolimer jer je bezbedan (ekološki prihvatljiv), fleksibilan (pogodan za sve vrste mikroorganizama) i ekonomski opravdan (Saberri Riseh et al., 2021; Szopa et al., 2022). Alginati su česte komponente bakterijskih egzopolisaharida koji imaju ulogu u zaštiti mikroorganizama od abiotičkog stresa. Bakterije koje rastu u uslovima suše pojačano luče alginate kao komponentu egzopolisaharida (Sa et al., 2019) koji im omogućavaju formiranje i održavanje biofilmova, prijanjanje i kolonizaciju (Szopa et al., 2022). Alginatni gel koji se formira u prisustvu Ca^{2+} jona destabilizuje se i podložan je degradaciji u kiselim uslovima sredine kao i prilikom izlaganja helirajućim agensima (citrati, fosfati, laktati) i katjonima (Mg^{2+} i Na^+) (Martin et al., 2015). Alginatni inkapsulati su porozni što omogućava

difuziju vlage i drugih tečnosti i izloženost nepovoljnim uslovima tokom sušenja što skraćuje životni vek inkapsulisanih ćelija (Szopa et al., 2022). Ovi nedostaci se prevazilaze mešanjem alginata sa drugim polimerima (Saber Riseh et al 2021) kao što je skrob, koji je korišćen kao punilac kod inkapsulata u ovom istraživanju. U ranijim istraživanjima mešanje alginata sa kukuruznim skrobom poboljšalo je efikasnost tehnologije inkapsulacije različitih bakterijskih ćelija (Martin et al., 2015). U bioinkapsulacionoj matrici, adhezija ćelija na skrob smanjuje fizički uticaj stresa na mikrobne ćelije i značajno poboljšava njihovo preživljavanje (Vassilev et al., 2020). Veća količina skroba doprinosi jačini i manjoj poroznosti alginatno-skrobnih granulata što je značajno za preživljavanje bakterija. Poroznost granulata može da poraste ukoliko imobilisane ćelije imaju sposobnost korišćenja skroba kao nutrijenta (Tal et al., 1999; Vassilev et al., 2020).

Smrtnost ćelija tokom procesa sušenja je kritična tačka procesa inkapsulacije (Schoebitz et Lopez Belchi, 2016). Sušenje predstavlja veliki fizički stres za žive ćelije koji uključuje povećanje osmotskog pritiska i smrt ćelija usled oštećenja ćelijske membrane. Budući da je odabir tehnike sušenja koja se koristi za proizvodnju biofertilizatora glavni faktor koji utiče na vijabilnost mikrobnih ćelija i kasnije na efekat primene u polju, sposobnost izdržavanja visokog osmotskog pritiska treba da bude među glavnim osobinama potencijalnih sojeva kandidata za biođubriva iako nisu predviđena za zaslanjenje uslove (Ait Bessai et al., 2023).

Tokom postupka karakterizacije oba odabrana soja su pokazala izuzetnu sposobnost halotolerancije i samim tim otpornosti na visok osmotski pritisak. Pored toga, odabrane bakterije imale su sposobnost rasta na temperaturi sušenja 35°C što je rezultovalo velikim prinosom vijabilnih ćelija nakon sušenja u sušnici (10^8).

Za proveru pogodnosti primene odgovarajuće metode inkapsulacije, nosača kao i uslova pakovanja i skladištenja, neophodno je pratiti preživljavanje bakterije u inkapsulatu tokom vremena. Nakon godinu dana čuvanja u vakuumiranom pakovanju, kod inkapsulisanih bakterija sušenih u sušnici nije došlo do gubitka vijabilnosti veće od 10%, što ukazuje da su metodologija, odabir nosača i uslovi inkapsulacije optimalni za održavanje i formulaciju testiranih sojeva za potencijalnu aplikaciju. Dobijeni rezultati su pokazali da je temperatura čuvanja imala značajan uticaj na preživljavanje *H. songnenensis* 14KX2 tokom prvih sedam dana, dok nakon šest meseci i godinu dana nije pokazala statistički značajan uticaj. Kod *B. megaterium* 6Z3 uticaj temperature na čuvanje bio je statistički značajan tokom šest meseci, pri čemu je veći broj ćelija nakon šest meseci preživeo čuvanjem na 4 °C. Čuvanje inkapsulata u uslovima bez kiseonika je sprečilo/usporilo oksidativne procese i doprinelo vijabilnosti bakterija tokom perioda čuvanja, što ukazuje da su vakuum pakovanja dobar izbor za očuvanje vijabilnosti inkapsulisanih PGP inokulanata. Ranija istraživanja su pokazala da bakterije u inkapsulatu od alginata mogu preživeti tokom dugog perioda a da pritom zadrže korisna PGP svojstva. Inkapsulisan pomoću alginata, *Pseudomonas fluorescens* F113 Lac ZY čuvan na 4 °C i 28 °C tokom godinu dana zadržao je sposobnost kolonizacije korena i doprineo je otpornosti šećerne repe prema dve fitopatogene gljive (Russo et al., 2001). Inkapsulisane *P. putida* Rs-198 sa stopom preživljavanja preko 80% nakon 50 dana skladištenja su zadržale sposobnost produkcije IAA i giberelina kao i sposobnost kolonizacije i stimulacije rasta pamuka u uslovima stresa solima. Ovi rezultati ukazuju da inkapsulisani mikrobiološki preparati čuvaju vijabilnost i korisna svojstva odabranih bakterija što ih čini dobrim izborom za primenu u poljskim uslovima.

7. ZAKLJUČAK

Istraživanja sprovedena tokom ove doktorske disertacije po prvi put pružaju uvid u diverzitet bakterijskih zajednica povezanih sa biljkama koje rastu na prirodnoj slatini u Srbiji, istovremeno ispitujući potencijal izolovanih HT PGP bakterija za primenu u održivoj poljoprivrednoj proizvodnji.

Na osnovu dobijenih rezultata moguće je izneti sledeće zaključke:

- Biljna vrsta u kombinaciji sa spoljašnjim faktorima utiče na diverzitet i sastav bakterijskih zajednica, što dovodi do razlika u sastavu bakterijskih zajednica okolnog zemljišta, rizosfere i endorizosfere iste biljke, kao i među istim nišama različitih biljaka.

- Na osnovu rezultata taksonomskog profilisanja bakterijskih zajednica povezanih sa slatinskim biljkama putem metabarkodinga može se zaključiti da su razdeli Actinobacteria i Proteobacteria ključne komponente mikrobioma (*core* mikrobiom) zemljišta, rizosfere i endorizosfere analiziranih biljaka (sa izuzetkom endorizosfere *H. geniculatum* u kojoj su dominantni razdeli Proteobacteria i Firmicutes).

- Na nižim taksonomskim nivoima uticaj biljne vrste na sastav bakterijskih zajednica postaje izraženiji, tako da se prisustvo i relativni udeli predstavnika nižih taksonomskih kategorija razlikuju u zavisnosti od biljne vrste.

- Diverzitet rizosfernih zajednica većine analiziranih biljaka je veći od okolnog zemljišta. Usled uticaja blizine korena biljke u rizosferi svih biljaka raste udeo klase Bacilli. Zastupljenost Proteobacteria takođe raste u rizosferi, što je najizraženije kod klase Gammaproteobacteria, čiji udeo se višestruko uvećava u rizosferi svih analiziranih biljaka.

- U uzorcima zemljišta Slanog Kopova prisutni su sledeći rodovi čija zastupljenost nije detektovana u rizosferi: *Blastocatella*, *Bryobacter*, *Pseudonocardia*, NA (Actinobacteria), *Euzebya*, *Rubrobacter*, *Gaiella*, NA (Gaiellales), *Illumatobacter*, NA (Solorubrobacterales), *Mycobacterium*, *Blastococcus*, *Actinoplanes*, NA (Rhodobiaceae), NA (Rhodobacteraceae).

- Diverzitet bakterijskih zajednica u endorizosferi analiziranih biljaka je niži u poređenju sa rizosferom i zemljištem. U svim analiziranim mikrobiomima endorizosfere su detektovani sledeći rodovi: *Nocardioide*s, *Streptomyces*, *Bacillus*, *Devosia*, *Sphingomonas* i NA (Acidimicrobiales) koji se mogu označiti kao integralni deo *core* mikrobioma endorizosfere.

- Bakterijske zajednice rizosfere i endorizosfere *S. maritima*, *S. europaea* i *C. annua* su međusobno slične, dok se istovremeno razlikuju od zajednica ostalih nesukulentnih biljaka.

- Korišćenjem halotolerancije kao kriterijuma za izolaciju, dobijeni su predstavnici tipičnih halotolerantnih/halofilnih rodova (*Halomonas*, *Kusheria*, *Halobacillus*, *Mammalicoccus*), *Planococcus*) i dobijeno je osam slabo halotolerantnih, 27 umereno i osam ekstremno tolerantnih sojeva HAL kolekcije.

- Karakterizacijom je pokazano da 7% halotolerantnih izolata pokazuje svih osam testiranih PGP svojstva, 30% sedam, dok 12% ispoljava šest od testiranih osam PGP svojstava. Produkcija amonijaka (93% izolata), EPS (95%) i stvaranje biofilma (91%) su najzastupljenija PGP svojstva. Sposobnost stvaranja siderofora ima 72% izolata, a manji broj izolata solubilizuje kalijum (28%), fosfate (40%) i cink (28%). Skoro polovina izolata HAL kolekcije pokazala je svojstvo produkcije IAA. Produkcija ACC deaminaze je utvrđena kod 9,7%

halotolerantnih izolata, što pokazuje da ovo svojstvo nije često među ispitivanim PGP bakterijama.

- Korišćenjem sposobnosti produkcije ACC deaminaze kao kriterijuma selekcije, dobijeno je ukupno 15 izolata ACC kolekcije. Izolati koji pripadaju ovoj grupi su pokazali slabu sposobnost halotolerancije, ali izuzetna PGP svojstva, pri čemu je 53% izolata ispoljilo sedam od osam, a 13% izolata svih osam testiranih PGP odlika.

- Sposobnost stvaranja biofilma je zastupljena kod svih ACC deaminaza produkujućih izolata. Pored biofilma, produkcija EPS, siderofora i amonijaka su dominantna PGP svojstva ovih bakterija i sva tri navedena svojstva su zastupljena kod 93% izolata. Sposobnost solubilizacije kalijuma i fosfata pokazalo je 86%, cinka 80%. Dok je sposobnost solubilizacije prisutna kod većeg broja izolata u odnosu na HAL kolekciju, produkcija IAA je svojstvo koje je u manjoj meri zastupljeno, samo kod petine izolata.

- Obe korišćene strategije za izolaciju su bile uspešne i rezultovale su kolekcijom multifunkcionalnih PGP sojeva sa kombinacijom više svojstava kojima mogu delovati na biljni rast i adaptacije na specifične uslove slanog staništa.

- Rezultati ovog istraživanja su pokazali da PGP svojstva nisu karakteristika vrste, već njihovo ispoljavanje zavisi od pojedinačnog soja.

- Uticaj povišenih koncentracija soli ima različit uticaj na ispoljavanje PGP svojstava. Kod većine izolata dolazi do smanjenja ili gubitka svojstva sa povećavanjem koncentracije soli. Međutim, kod 12 predstavnika halotolerantnih izolata PGP svojstva se ispoljavaju samo u prisustvu soli. Među njima se posebno ističu *K. indalinina* 6.1. i *K. pakistanensis* 7.3. Kod *K. indalinina* 6.1 to su svojstva solubilizacije fosfata, kalijuma i cinka, i proizvodnja EPS i biofilma, dok se kod *K. pakistanensis* 7.3 solubilizacija fosfata i kalijuma uz produkciju IAA ispoljavaju samo u prisustvu soli.

- Efekti inokulacije bakterijama na parametre germinacije zavise od primenjenog soja, biljne vrste i koncentracije soli.

- *H. songnenensis* 14KX2 doveo je do statistički značajnog poboljšanja kod dve trećine germinacionih parametara ječma, pri čemu su efekti inokulacije izraženiji u prisustvu soli. Pri 200 mM NaCl došlo je do povećanja procenta germinacije (GP), germinacijskog indeksa (GI), vigora 1, vigora 2, suve mase kao i smanjenja prosečnog vremena germinacije (MGT) inokulisanih semena ječma. Inokulacija semena pšenice sa *H. songnenensis* 14KX2 dovela je do statistički značajnog povećanja 11 od 24 germinaciona parametara. *H. songnenensis* 14KX2 nije ostvario uticaj na prosečno vreme germinacije i vlažnu masu pšenice. Inokulacija suncokreta sa *H. songnenensis* 14KX2 je dovela do najizraženijih efekata pri 200 mM soli, pri čemu su pozitivni efekti inokulacije prisutni kod svih ispitivanih parametara.

- *B. megaterium* 6Z3 je doveo do statistički značajnog povećanja germinacije kod 15 od 24 ispitana parametara kod suncokreta, pri čemu većina efekata na germinaciju postaje izraženija sa povećanjem koncentracije soli. Kod ječma, inokulacija *B. megaterium* 6Z3 je dovela do statistički značajnog efekta na jednak broj germinacijskih parametara, dok je kod pšenice efekat inokulacije bio slabiji u poređenju sa ostalim biljkama. U prisustvu maksimalne testirane koncentracije soli, inokulacija *B. megaterium* 6Z3 imala je izraženije efekte kod ječma i suncokreta, dok je u slučaju pšenice statistički značajne efekte ispoljila samo na vigor I (63%) dužinu (45%) i suhu masu klijanaca (8%).

- Inokulacija semena primenom HT PGP *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 izolovanim iz zemljišta i korena sukulente je dobra strategija koja utiče na poboljšanje germinacije i ranog rasta klijanaca u uslovim povišene koncentracije soli.

- Inkapsulacija HT PGP *B. megaterium* 6Z3 i *H. songnenensis* 14KX2 u alginatno-skrobnom matriksu primenom ekstruzione tehnike je adekvatna tehnika za dobijanje čvrstih bakterijskih inokulanata koja je omogućila zadržavanje visokog procenta vijabilnosti od preko 90% kod oba inkapsulata tokom godinu dana skladištenja na 4 °C i sobnoj temperaturi.

Dobijeni rezultati istraživanja doprinose poznavanju mikrobnih zajednica prirodnih slatina kao i rasvetljavanju njihove uloge u pružanju potpore biljkama koje opstaju u ovakvim ekosistemima. Pored toga, istraživanja u okviru disertacije su rezultovala formiranjem kolekcije okarakterisanih i identifikovanih HT PGP bakterijskih sojeva, koji su pokazali značajan potencijal za primenu u poljoprivrednoj proizvodnji. Sojevi iz kolekcije pokazuju različit stepen tolerancije prema povišenim koncentracijama NaCl i ispoljavaju set karakteristika koje na različit način mogu doprineti boljoj otpornosti biljaka u prisustvu abiotičkog stresa. Primena HT PGP u mikrobiološkom tretmanu semena uz savremene metode inkapsulacije mikrobnih inokulanata, pruža mogućnost za dalji razvoj biotehnoloških rešenja kojima se može značajno doprineti razvoju specijalizovanih proizvoda zasnovanih na mikroorganizmima koji bi potencijalno našli primenu u zemljištima povišenog saliniteta.

8. LITERATURA

- Abbas, H., Patel R. M., Parekh V. B. (2018): Culturable endophytic bacteria from halotolerant *Salicornia brachata* L.: Isolation and plant growth promoting traits. *Indian Journal of Applied Microbiology*, 21 (1): 10-21.
- Abdelmoteleb, A., Gonzalez-Mendoza, D. (2020): Isolation and Identification of Phosphate Solubilizing *Bacillus* spp. from *Tamarix ramosissima* Rhizosphere and Their Effect on Growth of *Phaseolus vulgaris* Under Salinity Stress. *Geomicrobiology Journal*, 37(10): 901–908.
- Abdelfadil, M. R., Patz, S., Kolb, S. et al. (2024): Unveiling the influence of salinity on bacterial microbiome assembly of halophytes and crops. *Environmental Microbiome*, 19: 49.
- Addorisio, S., Shteynberg, R., Dasilva, M., Mixon, J., Mucciarone, K., Vu, L., Arsenault, K., Briand, V., Parker, S., Smith, S., Vise, C., Pina, C., Laranjo, L. (2022): Oxidative Stress Response in Bacteria: A Review. *Fine Focus*, 8: 36-46.
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., Shahzad, S. (2019): Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological research*, 221: 36–49.
- Alberdi, A., Aizpurua, O., Gilbert, M. T. P., Bohmann, K. (2018): Scrutinizing key steps for reliable metabarcoding of environmental samples. *Methods in Ecology and Evolution*, 9: 134-147.
- Albdaiwi, R. N., Khyami-Horani, H., Ayad, J. Y., Alananbeh, K. M., Al-Sayaydeh, R. (2019): Isolation and Characterization of Halotolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria From Durum Wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) Cultivated in Saline Areas of the Dead Sea Region. *Frontiers in Microbiology*, 10:1639.
- Al-Garni, S. M. S., Khan, M. M. A., Bahieldin, A. (2019): Plant growth-promoting bacteria and silicon fertilizer enhance plant growth and salinity tolerance in *Coriandrum sativum*. *Journal of Plant Interactions*, 14(1):386–396.
- Alibrandi, P., Schnell, S., Perotto, S., Cardinale, M. (2020): Diversity and Structure of the Endophytic Bacterial Communities Associated With Three Terrestrial Orchid Species as Revealed by 16S rRNA Gene Metabarcoding. *Frontiers in microbiology*, 11: 604964.
- Alghamdi, A. K., Parween, S., Hirt, H., Saad, M. M. (2023): Complete genome sequence analysis of plant growth-promoting bacterium, *Isophtericola* sp. AK164 isolated from the rhizosphere of *Avicennia marina* growing at the Red Sea coast. *Archives of microbiology*, 205(9): 307.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J. (1990): Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 15:403-410.
- Aidah, N., Engeu, O. P., Baptist, T. J., Muwanika, V. B., Johnson, M., Joel, B. (2023): Diversity of bacterial community in the rhizosphere and bulk soil of *Artemisia annua* grown in highlands of Uganda. *PLoS ONE* 18(3): e0269662.
- Ait Bessai, S., Cruz, J., Carril, P., Melo, J., Santana, M. M., Mouazen, A. M., Cruz, C., Yadav, A. N., Dias, T., Nabti, E. (2023): The Plant Growth-Promoting Potential of Halotolerant Bacteria Is Not Phylogenetically Determined: Evidence from Two *Bacillus megaterium* Strains Isolated from Saline Soils Used to Grow Wheat. *Microorganisms*, 11: 1687.

- Akram, M. S., Shahid, M., Tariq, M., Azeem, M., Javed, M. T., Saleem, S., Riaz, S. (2016): Deciphering *Staphylococcus sciuri* SAT-17 Mediated Anti-oxidative Defense Mechanisms and Growth Modulations in Salt Stressed Maize (*Zea mays* L.). *Frontiers in microbiology*, 7: 867.
- Ansari, F., Ksiksi, T. (2016): A quantitative assessment of germination parameters: The case of *Crotalaria persica* and *Tephrosia apollinea*. *The Open Ecology Journal*, 9: 13-21.
- Ansari, F., Ahmad, I., Pichtel, J. (2019): Growth stimulation and alleviation of salinity stress to wheat by the biofilm forming *Bacillus pumilus* strain FAB10. *Applied Soil Ecology*, 143.
- Aroney, S. T. N., Poole, P. S., Sánchez-Cañizares, C. (2021): Rhizobial Chemotaxis and Motility Systems at Work in the Soil. *Frontiers in plant science*, 12: 725338.
- Arora, S., Vanza, M.J., Mehta, R., Bhuva, C., Patel, P.N. (2014): Halophilic microbes for bio-remediation of salt affected soils. *African Journal of Microbiology Research*, 8: 3070-3080.
- Aslam, F., Ali, B. (2018): Halotolerant bacterial diversity associated with *Suaeda fruticosa* (L.) *forssk.* improved growth of maize under salinity stress. *Agronomy*, 8:131.
- Ashfaq, M. A., Mat Hassan, H., Amir, G., Ahmad, M. (2020): Halotolerant potassium solubilizing plant growth promoting rhizobacteria may improve potassium availability under saline conditions. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192.
- Ayuso-Calles, M., Flores-Félix, J. D., Amaro, F., García-Estévez, I., Jiménez Gómez, A., Guedes de Pinho, P., Escribano-Bailón, M., Rivas, R. (2023): Effect of Rhizobium mechanisms in improving tolerance to saline stress in lettuce plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10: 89.
- Bakker, P. A., Berendsen, R. L., Doornbos, R. F., Wittermans, P. C., Pieterse, C. M. (2013): The rhizosphere revisited: root microbiomics. *Frontiers in plant science*, 4: 165.
- Bangash, A., Ahmed, I., Abbas, S., Kudo, T., Shahzad, A., Fujiwara, T., Ohkuma, M. (2015): *Kushneria pakistanensis* sp. nov., a novel moderately halophilic bacterium isolated from rhizosphere of a plant (*Saccharum spontaneum*) growing in salt mines of the Karak area in Pakistan. *Antonie van Leeuwenhoek*, 107(4): 991–1000.
- Banik, A., Pandya, P., Patel, B., Rathod, C., Dangar, M. (2018): Characterization of halotolerant, pigmented, plant growth promoting bacteria of groundnut rhizosphere and its in-vitro evaluation of plant-microbe proto cooperation to withstand salinity and metal stress. *The Science of the total environment*, 630: 231–242.
- Bano, A., Fatima, M. (2009): Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biology and Fertility of Soils*, 45: 405-413.
- Bashir, Z., Zargar, M.Y., Baba, Z.A., Mohiddin, F. A. (2017): Effect of potassium and phosphorus solubilizing bacteria on growth parameters of chilli (*Capsicum annuum* L.) under Kashmir climatic conditions. *International Journal of Chemical Studies*, 5: 692-695.
- Bashan, Y., de-Bashan, L., Prabhu, S.R., Hernandez, J. (2014): Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant and Soil*, 378: 1-33.
- Bazihizina, N., Barrett-Lennard, E., Colmer, T. (2012): Plant growth and physiology under heterogeneous salinity. *Plant Soil*, 354.

- Bhattacharyya, A., Mavrodi, O., Bhowmik, N., Weller, D., Thomashow, L., Mavrodi, D. (2023): Bacterial biofilms as an essential component of rhizosphere plant-microbe interactions. *Methods in microbiology*, 53: 3–48.
- Bhise, K. K., Dandge, P. B. (2019): Alleviation of salinity stress in rice plant by encapsulated salt tolerant plant growth promoting bacteria *Pantoea agglomerans* strain KL and its root colonization ability. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65(14): 1955–1968.
- Beara, I., Lesjak, M., Orčić, D., Simin, N., Jovin, E., Anačkov, G., Dukic, N. (2011): Phenolic profile and biopotential of *Plantago schwarzenbergiana* Schur. *Planta Medica*, 77.
- Benabdellah, K., Abbas, Y., Abourouh, M., Aroca, R., Azcón, R. (2011): Influence of two bacterial isolates from degraded and non-degraded soils and arbuscular mycorrhizae fungi isolated from semi-arid zone on the growth of *Trifolium repens* under drought conditions: Mechanisms related to bacterial effectiveness. *European Journal of Soil Biology*, 47: 303-309.
- Bensidhoum, L., Ait Bessai, S., Nabti, E. (2019): Restoration of Plant Growth Under Saline Soil by Halotolerant Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). In: Kumar, M., Etesami, H., Kumar, V. (eds), *Saline Soil-based Agriculture by Halotolerant Microorganisms*. Springer, Singapore, pp 23-51.
- Berendsen, R. L., Pieterse, C. M., Bakker, P. A. (2012): The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science*, 17(8): 478–486.
- Berg, G., Smalla, K. (2009): Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS microbiology ecology*, 68(1): 1-13.
- Bjelić, M., Nešić, Lj., Ćirić, V. (2014): Popravka halomorfnihi zemljišta, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.
- Biswas, S., Philip, I., Jayaram, S., Sarojini, S. (2023): Endophytic bacteria *Klebsiella* spp. and *Bacillus* spp. from *Alternanthera philoxeroides* in Madiwala Lake exhibit additive plant growth-promoting and biocontrol activities. *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 21(1): 153.
- Borah, A., Thakur, D. (2020): Phylogenetic and Functional Characterization of Culturable Endophytic Actinobacteria Associated With *Camellia* spp. for Growth Promotion in Commercial Tea Cultivars. *Frontiers in Microbiology*, 11:318.
- Boukhatem, Z.F., Merabet, C. Tsaki, H. (2022): Plant Growth Promoting Actinobacteria, the Most Promising Candidates as Bioinoculants? *Frontiers in Agronomy*, 4:849911.
- Buckley, D. H., Huangyutitham, V., Nelson, T. A., Rumberger, A., Thies, J. E. (2006): Diversity of Planctomycetes in soil in relation to soil history and environmental heterogeneity. *Applied and environmental microbiology*, 72(7): 4522–4531.
- Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Ver Loren van Themaat, E., Ahmadinejad, N., Assenza, F., Rauf, P., Huettel, B., Reinhardt, R., Schmelzer, E., Peplies, J., Gloeckner, F. O., Amann, R., Eickhorst, T., Schulze-Lefert, P. (2012): Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 488(7409): 91–95.
- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Ver Loren van Themaat, E., Schulze-Lefert, P. (2013): Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual review of plant biology*, 64: 807-838.

- Bukin, Y. S., Galachyants, Y. P., Morozov, I. V., Bukin, S. V., Zakharenko, A. S., Zemskaya, T. I. (2019): The effect of 16S rRNA region choice on bacterial community metabarcoding results. *Scientific data*, 6: 190007.
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J., Holmes, S.P. (2016): DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13:581-3.
- Canfora, L., Bacci, G., Pinzari, F., Lo Papa, G., Dazzi, C., et al. (2014): Salinity and Bacterial Diversity: To What Extent Does the Concentration of Salt Affect the Bacterial Community in a Saline Soil? *PLoS ONE* 9(9): e106662.
- Chaudhary, D., Gautam, R., Yousuf, B., Mishra, A., Jha, B. (2015): Nutrients, microbial community structure and functional gene abundance of rhizosphere and bulk soils of halophytes. *Applied Soil Ecology*, 91:16-26.
- Chakraborty, P., Patkar, S., Shinde, Y., Chindarkar, P. (2021): Evaluation of antioxidant potential of pigments extracted from *Bacillus* spp. and *Halomonas* spp. isolated from mangrove rhizosphere. *Biotechnologia*, 102.
- Chen, D.D., Tian, Y., Jiao, J.Y. et al. (2020): Comparative genomics analysis of *Nitriiliruptoria* reveals the genomic differences and salt adaptation strategies. *Extremophiles*, 24: 249–264.
- Chhetri, G., Kim, I., Kang, M., Kim, J., So, Y., Seo, T. (2022): *Devosia rhizoryzae* sp. nov., and *Devosia oryziradicis* sp. nov., novel plant growth promoting members of the genus *Devosia*, isolated from the rhizosphere of rice plants. *Journal of microbiology* (Seoul, Korea), 60(1): 1-10.
- Choi, K. Y., Lee, T. K., Sul, W. J. (2015): Metagenomic Analysis of Chicken Gut Microbiota for Improving Metabolism and Health of Chickens - A Review. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 28(9): 1217-1225.
- Christakis, C.A, Daskalogiannis, G., Chatzaki, A., Markakis, E.A., Mermigka, G., Sagia, A., Rizzo, G.F., Catara, V., Lagkouvardos, I., Studholme, D.J., Sarris, P.F. (2021): Endophytic Bacterial Isolates From Halophytes Demonstrate Phytopathogen Biocontrol and Plant Growth Promotion Under High Salinity. *Frontiers in Microbiology*, 12:681567.
- Cincović T., Kojić M. (1976): Poales — Poaceae. In: Josifović, M. (Ed.), 1970-1986. *Flora Republike Srbije*, V, SANU, Beograd.
- Cappellari, L.d.R., Bogino, P.C., Nievas, F., Giordano, W., Banchio, E. (2023): Exploring the Differential Impact of Salt Stress on Root Colonization Adaptation Mechanisms in Plant GrowthPromoting Rhizobacteria. *Plants*, 12: 4059.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Peña, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., et al. (2010): QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7: 335-336.
- Cappuccino, J. G., Sherman, N. (2005): *Microbiology: a laboratory manual*. 6th Edition, Pearson Education, California City, pp. 477.
- Cardarelli, M., Woo, S.L., Roupael, Y., Colla, G. (2022): Seed Treatments with Microorganisms Can Have a Biostimulant Effect by Influencing Germination and Seedling Growth of Crops. *Plants*, 11: 259.

- Cárdenas-Pérez, S., Rajabi Dehnavi, A., Leszczyński, K., Lubińska-Mielińska, S., Ludwiczak, A., Piernik, A. (2022): *Salicornia europaea* L. Functional Traits Indicate Its Optimum Growth. *Plants* (Basel), 11(8):1051.
- Castiglione, A.M., Mannino, G., Contartese, V., Berteà, C.M., Ertani, A. (2021): Microbial Biostimulants as Response to Modern Agriculture Needs: Composition, Role and Application of These Innovative Products. *Plants*, 10: 1533.
- Cole, J. R., Q. Wang, et al. (2009): The ribosomal database project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, 37: 141-145.
- Coleman-Derr, D., Tringe, S. G. (2014): Building the crops of tomorrow: advantages of symbiont-based approaches to improving abiotic stress tolerance *Frontiers in Microbiology*, 5.
- Colombo, E. M., Kunova, A., Pizzatti, C., Saracchi, M., Cortesi, P., Pasquali, M. (2019): Selection of an Endophytic *Streptomyces* sp. Strain DEF09 From Wheat Roots as a Biocontrol Agent Against *Fusarium graminearum*. *Frontiers in microbiology*, 10: 2356.
- Compant, S., Clément, C., Sessitsch, A. (2010): Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 42 (5): 669–678.
- Compant, S., Samad, A., Faist, H., Sessitsch, A. (2019): A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *Journal of advanced research*, 19: 29–37.
- Correa-Llantén, D. N., Amenábar, M. J., Blamey, J. M. (2012): Antioxidant capacity of novel pigments from an Antarctic bacterium. *Journal of microbiology* (Seoul, Korea), 50(3): 374–379.
- Corbineau, F., Xia, Q., Bailly, C., El-Maarouf-Bouteau, H. (2014): Ethylene, a key factor in the regulation of seed dormancy. *Frontiers in plant science*, 5: 539.
- Costa, O.Y.A., Raaijmakers, J.M., Kuramae, E.E. (2018): Microbial extracellular polymeric substances: Ecological function and impact on soil aggregation. *Frontiers in. Microbiology*, 9:1636.
- Dagar, J. Y., Rajender, S. A., Singh, N. (2019): Historical Perspectives and Dynamics of Nature, Extent, Classification and Management of Salt-affected Soils and Waters. In *Research Developments in Saline Agriculture*, Springer, Singapore, 3-52.
- Dahal, R. H., Chaudhary, D. K., Kim, J. (2017): *Acinetobacter halotolerans* sp. nov., a novel halotolerant, alkalitolerant, and hydrocarbon degrading bacterium, isolated from soil. *Archives of microbiology*, 199(5): 701–710.
- Daliakopoulos, I. N., Tsanis, I. K., Koutroulis, A., Kourgialas, N. N., Varouchakis, A. E., Karatzas, G. P., Ritsema, C. J. (2016): The threat of soil salinity: A European scale review. *The Science of the total environment*, 573: 727–739.
- Dajic, Z. (2006): Salt stress - salinity and tolerance mechanisms in plants. In: Madhava Rao, K.V., Raghavendra, A.S. and Reddy, K. J. (eds.), *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants*. Springer. pp. 41-99.
- Dajić Stevanović, Z., Ačić, S., Luković, M., Zlatković, I., Vasin, J., Topisirović, G., Šilc, U. (2016): Classification of continental halophytic grassland vegetation of Southeastern Europe. *Phytocoenologia*, 6646(3): 317-331.
- Danhorn, T., Fuqua, C. (2007): Biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annual review of microbiology*, 61: 401-422.

- Damodaran, T., Mishra, V.K., Jha, S.K. (2019): Identification of Rhizosphere Bacterial Diversity with Promising Salt Tolerance, PGP Traits and Their Exploitation for Seed Germination Enhancement in Sodic Soil. *Agricultural Research*, 8: 36–43.
- Daoud, L., Ali, M. (2020): Halophilic microorganisms: Interesting group of extremophiles with important applications in biotechnology and environment. In book: *Physiological and Biotechnological Aspects of Extremophiles*, Chapter: 5, pp.51-64.
- Dhungana, I., Kantar, M.B., Nguyen, N.H. (2023): Root exudate composition from different plant species influences the growth of rhizosphere bacteria. *Rhizosphere*, 25:100645.
- Den, N.Z.U., Bukhari, S.A., Iftikhar, T.; Mustafa, G. (2021): Biochemical and phenolic acid profiling of sunflower hybrid varieties' seeds treated with different bio-priming agents. *Pakistan Journal of Botany*, 53:981–989.
- Dodd, I. C., Pérez-Alfocea, F. (2012): Microbial amelioration of crop salinity stress. *Journal of experimental botany*, 63(9): 3415–3428.
- Donati, I., Paoletti, S. (2009): Material Properties of Alginates. In: Rehm, B. (eds) *Alginates: Biology and Applications*. Microbiology Monographs, vol 13. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Dong, Y., Zhang, J., Chen, R., Zhong, L., Lin, X., Feng, Y. (2022): Microbial Community Composition and Activity in Saline Soils of Coastal Agro-Ecosystems. *Microorganisms*, 10(4): 835.
- Drogue B., Sanguin H., Borland S., Picault N., Prigent-Combaret C., Wisniewski-Dyé F. (2013): In: *Networking and plasticity of microbiol communities: the secret to success: 12th Symposium on Bacterial Genetics and Ecology (BAGECO12)*, Ljubljana, Slove nie, 9-13 June 2013. Symposium on Bacterial Genetics and Ecology, Ljubljana (Slovenija).
- Dutta, B., Datta, A., Dey, A., Ghosh, A. K., Bandopadhyay, R. (2023): Establishment of seed biopriming in salt stress mitigation of rice plants by mangrove derived *Bacillus* sp. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 48: 102626.
- Dworkin, M., Foster, J.W. (1958): Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *Journal of Bacteriology*, 75: 592–601.
- Dorđević, R. A., Radmanović, B. S. (2018): *Pedologija-drugo izmenjeno i dopunjeno izdanje*, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd, Srbija.
- Ebersp cher, J., Lingens, F. (2006): The Genus *Phenylobacterium*. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, KH., Stackebrandt, E. (eds), *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY.
- Ebrahimi, A. N., Or, D. (2014): Microbial dispersal in unsaturated porous media: Characteristics of motile bacterial cell motions in unsaturated angular pore networks, *Water Resources Research*, 50:7406-7429.
- Eevers, N., Gielen, M., Sánchez-López, A., Jaspers, S., White, J. C., Vangronsveld, J., Weyens, N. (2015): Optimization of isolation and cultivation of bacterial endophytes through addition of plant extract to nutrient media. *Microbial biotechnology*, 8(4): 707-715.
- Egamberdieva, D., Kucharova, Z. (2009): Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biology and Fertility of Soils*, 45: 563-571.
- Egamberdieva, D. (2012): Colonization of *Mycobacterium phlei* in the rhizosphere of wheat grown under saline conditions, *Turkish Journal of Biology*, 36(5).

- Egamberdieva, D., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S.D., Mishra, J., Arora, N.K. (2019): Salt-Tolerant Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Enhancing Crop Productivity of Saline Soils. *Front. Microbiol.* 10:2791.
- Eliáš Jun, P., Dítě, D., Šuvada, R., Píš, V., Ikrényi, I. (2013): *Hordeum geniculatum* in the Pannonian Basin: Ecological requirements and grassland vegetation on salt-affected soils, *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology: Official Journal of the Societa Botanica Italiana*.
- Estefania, C.A., Ligia, S.L. (2018): Immobilized *Bacillus Subtilis* by Ionic Gelation as Biocontrol Alternative of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Indian Journal of Animal Research*, 52: 655–660.
- Etesami, H., Emami, S., Alikhani, H., (2017): Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects-A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 17.
- Etesami, H., Beattie, G.A. (2018): Mining Halophytes for Plant Growth-Promoting Halotolerant Bacteria to Enhance the Salinity Tolerance of Non-halophytic Crops. *Frontiers in Microbiology*, 9, 148.
- Etesami, H., Glick, B.R. (2020): Halotolerant plant growth–promoting bacteria: Prospects for alleviating salinity stress in plants, *Environmental and Experimental Botany*, 178, 104124.
- European Commission (2021): Directorate-General for Environment, *EU soil strategy for 2030-Towards healthy soils for people and the planet*, Publications Office, <https://data.europa.eu/doi/10.2779/02668>.
- FAO, (2011): The State of the World’s Land and Water Resources for Food and Agriculture: Managing Systems at Risk. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO, (2018): More information on Salt-affected soils. URL. <http://www.fao.org/soils-port al/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/more-information-on-salt-affected-soils/en/>.
- FAO, 2021a. Global Map of Salt Affected Soils Version 1.0. <https://www.fao.org/soils-po rtal/data-hub/soil-maps-and-databases/global-map-of-salt-affected-soils/en/>.
- Fadiji, A.E., Babalola, O.O. (2020): Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8:467.
- Faddetta, T., Polito, G., Abbate, L., Alibrandi, P., Zerbo, M., Caldiero, C., Reina, C., Puccio, G., Vaccaro, E., Abenavoli, M.R., et al. (2023): Bioactive Metabolite Survey of Actinobacteria Showing Plant Growth Promoting Traits to Develop Novel Biofertilizers. *Metabolites*, 13: 374.
- Fageria, N. K., Gheyi, H. R., Moreira, A. (2011): Nutrient bioavailability in salt affected soils. *Journal of Plant Nutrition*, 34(7), 945–962.
- Fan, P., Feng, J., Jiang, P., Chen, X., Bao, H., Nie, L., Jiang, D., Lv, S., Kuang, T., Li, Y. (2011): Coordination of carbon fixation and nitrogen metabolism in *Salicornia europaea* under salinity: Comparative proteomic analysis on chloroplast proteins. *Proteomics*, 11(22): 4346–4367.
- Fan P., Chen D., He Y., Zhou Q., Tian Y., Gao L. (2016): Alleviating salt stress in tomato seedlings using *Arthrobacter* and *Bacillus megaterium* isolated from the rhizosphere of wild plants grown on saline–alkaline lands. *International Journal of Phytoremediation*, 18 (11): 1113–1121.

- Fanin, N., Kardol, P., Farrell, M., Nilsson, M.-C., Gundale, M.J., Wardle, D.A. (2018): The ratio of Gram-positive to Gram-negative bacterial PLFA markers as an indicator of carbon availability in organic soils, *Soil Biology and Biochemistry*, 128: 111-114.
- Fariq, A., Yasmin, A., Jamil, M. (2019): Production, characterization and antimicrobial activities of bio-pigments by *Aquisalibacillus elongatus* MB592, *Salinicoccus sesuvii* MB597, and *Halomonas aquamarina* MB598 isolated from Khewra Salt Range, Pakistan. *Extremophiles: life under extreme conditions*, 23(4):435–449.
- Farias, M. E., Revale, S., Mancini, E., Ordoñez, O., Turjanski, A., Cortez, N., Vazquez, M. P. (2011): Genome sequence of *Sphingomonas* sp. S17, isolated from an alkaline, hyperarsenic, and hypersaline volcano-associated lake at high altitude in the Argentinean Puna. *Journal of bacteriology*, 193(14), 3686–3687.
- Feng, H., Fu, R., Luo, J., Hou, X., Gao, K., Su, L., Xu, Y., Miao, Y., Liu, Y., Xu, Z., Zhang, N., Shen, Q., Xun, W. and Zhang, R. (2023): Listening to plant's Esperanto via root exudates: reprogramming the functional expression of plant growth-promoting rhizobacteria. *New Phytologist*, 239: 2307-2319.
- Ferreira, M.J., Cunha, A., Figueiredo, S., Faustino, P., Patinha, C., Silva, H., Sierra-Garcia, I.N. (2021): The Root Microbiome of *Salicornia ramosissima* as a Seedbank for Plant-Growth Promoting Halotolerant Bacteria. *Applied Sciences*, 11, 2233.
- Ferreira, M. J., Sierra-Garcia, I. N., Louvado, A., Gomes, N. C. M., Figueiredo, S., Patinha, C., Pinto, D. C. G. A., Cremades, J., Silva, H., Cunha, Â. (2023): Domestication shapes the endophytic microbiome and metabolome of *Salicornia europaea*. *Journal of applied microbiology*, 134(8), 1xad178.
- Figuerola, L.O., Schwarz, B., Richards, A.M. (2015): Structural characterization of amphiphilic siderophores produced by a soda lake isolate, *Halomonas* sp. SL01, reveals cysteine-, phenylalanine- and proline-containing head groups. *Extremophiles*, 19:1183-92.
- Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B. (2007): Toward An Ecological Classification Of Soil Bacteria. *Ecology*, 88: 1354-1364.
- Finkel, O. M., Castrillo, G., Herrera Paredes, S., Salas González, I., Dangl, J. L. (2017): Understanding and exploiting plant beneficial microbes. *Current opinion in plant biology*, 38, 155–163.
- Fiodor, A., Ajijah, N., Dziewit, L., Pranaw, K. (2023): Biopriming of seed with plant growth-promoting bacteria for improved germination and seedling growth. *Frontiers in microbiology*, 14, 1142966.
- Flowers, T.J., Colmer, T.D. (2008): Salinity tolerance in halophytes[†]. *New Phytologist*, 179: 945-963.
- Foesel, B. U., Rohde, M., Overmann, J. (2013): *Blastocatella fastidiosa* gen. nov., sp. nov., isolated from semiarid savanna soil - the first described species of Acidobacteria subdivision 4. *Systematic and applied microbiology*, 36(2): 82–89.
- Franke-Whittle, I.H., Manici, L.M., Insam, H. et al. (2015): Rhizosphere bacteria and fungi associated with plant growth in soils of three replanted apple orchards. *Plant Soil*, 395: 317–333.
- Furtado, B. U., Gołębiewski, M., Skorupa, M., Hulisz, P., & Hryniewicz, K. (2019): Bacterial and Fungal Endophytic Microbiomes of *Salicornia europaea*. *Applied and environmental microbiology*, 85(13): e00305-19.

- Furtado, B.U., Hryniewicz, K. (2021): Halophyte–Endophyte Interactions: Linking Microbiome Community Distribution and Functionality to Salinity. In: Shrivastava, N., Mahajan, S., Varma, A. (eds) Symbiotic Soil Microorganisms. Soil Biology, vol 60. Springer, Cham.
- Gajić M. (1972): Rosales-Rosaceae. In: Josifović, M. (Ed.), 1970-1986. Flora Republike Srbije., V, SANU, Beograd
- Gajić, M. (1975): Familija Asteraceae, Dumortier; Compositae Adans. In: Josifović, M. (Ed.), 1970-1986. Flora Republike Srbije., V, SANU, Beograd.
- Gandhi, A., Muralidharan, G. (2016): Assessment of zinc solubilizing potentiality of *Acinetobacter* sp. isolated from rice rhizosphere. European Journal of Soil Biology, 76: 1-8.
- Gamalero, E., Bona, E., Todeschini, V., Lingua, G. (2020): Saline and Arid Soils: Impact on Bacteria, Plants, and their Interaction. Biology, 9(6): 116.
- Gao, L., Huang, Y., Liu, Y., Mohamed, O. A. A., Fan, X., Wang, L., Li, L., Ma, J. (2022): Bacterial Community Structure and Potential Microbial Coexistence Mechanism Associated with Three Halophytes Adapting to the Extremely Hypersaline Environment. Microorganisms, 10(6): 1124.
- Garabito, M.J., Márquez, M. C., Ventosa, A. (1998): Halotolerant *Bacillus* diversity in hypersaline environments. Canadian Journal of Microbiology, 44(2): 95-102.
- Gilligan, P.H., (2013): Identification of Pathogens by Classical Clinical Tests. In: Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F. (eds), The Prokaryotes, Springer, Berlin, Heidelberg, pp 57-89.
- Glick, B.R. (1995): The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41(2): 109-117.
- Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., McConkey, B. (2007): Promotion of Plant Growth by Bacterial ACC Deaminase. Critical Reviews in Plant Sciences, 26(5-6): 227–242.
- Glick, B.R. (2012): Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica, 2012, 963401.
- Glick B. R. (2014): Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. Microbiological research, 169(1): 30-39.
- Glick, B. R., Nascimento, F. X. (2021): *Pseudomonas* 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) Deaminase and Its Role in Beneficial Plant-Microbe Interactions. Microorganisms, 9(12): 2467.
- Goldstein, A. H. (1986): Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. American Journal of Alternative Agriculture, 1: 51-57.
- Goswami, M., Deka, S. (2020): Isolation of a novel rhizobacteria having multiple plant growth promoting traits and antifungal activity against certain phytopathogens. Microbiological research, 240: 126516.
- Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Tiwari, S. (2017): Zinc solubilizing bacteria from the rhizosphere of rice as prospective modulator of zinc biofortification in rice. Rhizosphere, 3: 185-190.
- Gontia-Mishra, I., Sapre, S., Kachare, S. et al. (2017b): Molecular diversity of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase producing PGPR from wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere. Plant Soil, 414: 213–227.

- Gonzalez-Pimentel, J.L., Martin-Pozas, T., Jurado, V., Laiz, L., Fernandez-Cortes, A., Sanchez-Moral, S., Saiz-Jimenez, C. (2023): The Marine Bacterial Genus *Euzebya* Is Distributed Worldwide in Terrestrial Environments: A Review. *Applied Sciences*, 13: 9644.
- Gong, Y., Bai, J. L., Yang, H. T., Zhang, W. D., Xiong, Y. W., Ding, P., Qin, S. (2018): Phylogenetic diversity and investigation of plant growth-promoting traits of actinobacteria in coastal salt marsh plant rhizospheres from Jiangsu, China. *Systematic and applied microbiology*, 41(5): 516–527.
- Govindasamy, V., Raina, S. K., George, P., Kumar, M., Rane, J., Minhas, P. S., Vittal, K. P. R. (2017): Functional and phylogenetic diversity of cultivable rhizobacterial endophytes of sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 110(7): 925–943.
- Grigore, M., Toma, C. (2007): Histo-anatomical strategies of Chenopodiaceae halophytes: Adaptive, ecological and evolutionary implications. *WSEAS Trans Biol Biomed.* 12(4).
- Grigore, M., Toma, C. (2010): A Proposal For A New Halophytes Classification, Based On Integrative Anatomy Observations. *Muzeul Olteniei Craiova. Studii și Comunicări, Științele Naturii.* 26: 45-50.
- Guimarães, D.P., Costa, F.A.A., Rodrigues, M.I., Maugeri, F. (1999): Optimization of dextran synthesis and acidic hydrolysis by surface response analysis. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 16:129-139.
- Guo, L., Han,Ch., Liu,T., Wang,Y., Sun, P., Pang, Q., Zhang, X., Xiang,W., Zhao, J. (2024): Integrated physiological, biochemical and transcriptomic analyses reveal the mechanism of salt tolerance induced by a halotolerant *Serratia* sp. NTN6 in maize. *Environmental and Experimental Botany*, 221: 105724.
- Gupta, S., Pandey, S. (2019): ACC Deaminase Producing Bacteria With Multifarious Plant Growth Promoting Traits Alleviates Salinity Stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Frontiers in Microbiology*, 10:1506.
- Gupta, R. S., Patel, S., Saini, N., Chen, S. (2020): Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel *Bacillaceae* genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the Subtilis and Cereus clades of species. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(11): 5753–5798.
- Gupta, A., Singh, A. N., Tiwari, R. K., Sahu, P. K., Yadav, J., Srivastava, A. K., Kumar, S. (2023): Salinity Alleviation and Reduction in Oxidative Stress by Endophytic and Rhizospheric Microbes in Two Rice Cultivars. *Plants (Basel, Switzerland)*, 12(5): 976.
- Gunde-Cimerman, N., Plemenitaš, A., Oren, A. (2018): Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations. *FEMS Microbiol Reviews*, 42: 353–375.
- He, Y., Ye, B.C., Wang, J., Guan, X., Zhang, J. (2016): Viability evaluation of alginate-encapsulated *Pseudomonas putida* Rs-198 under simulated salt-stress conditions and its effect on cotton growth. *European Journal of Soil Biology*. 75: 135-141.
- Himaman, W., Suksaard, P., Mingma, R., Matsumoto, A., Duangmal, K. (2017): *Cryptosporangium eucalypti* sp. nov., an actinomycete isolated from *Eucalyptus camaldulensis* roots. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(8): 3077–3082.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001): PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9 pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.

- Hamed, J., Mohammadipanah, F., Panahi, H.K.S. (2015): Biotechnological Exploitation of Actinobacterial Members. In: Maheshwari, D., Saraf, M. (eds), Halophiles. Sustainable Development and Biodiversity, vol 6. Springer, Cham.
- Hartmann, A., Schmid, M., Van Tuinen, D., Berg, G. (2009): Plant-driven selection of microbes. *Plant Soil* 321: 235–257.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Elsas, J. D. (2008): Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in microbiology*, 16(10): 463–471.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., Sessitsch, A. (2015): The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Defining Functioning of Microbial Endophytes. *Microbiology and molecular biology reviews*, 79(3): 293–320.
- Hassani, M.A., Durán, P., Hacquard, S. (2018): Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome* 6: 58.
- Honfi, P., Eisa, E.A., Tilly-Mándy, A., Kohut, I., Ecseri, K., Mosonyi, I.D. (2023): Salt Tolerance of *Limonium gmelinii* subsp. *hungaricum* as a Potential Ornamental Plant for Secondary Salinized Soils. *Plants*, 12:1807.
- Huang, Y. (2018): Comparison of rhizosphere and endophytic microbial communities of Chinese leek through high-throughput 16S rRNA gene Illumina sequencing. *Journal of Integrative Agriculture*, 17: 359–367.
- Ianovici, N. (2011): Histoanatomical And Ecophysiological Studies On Some Halophytes From Romania - *Plantago Schwarzenbergiana*. *Annals of West University of Timișoara, ser. Biology*, 14: 53-64.
- International Seed Testing Association (ISTA) (2014): Seed vigour testing. International rules for seed testing. <https://www.seedtest.org>.
- Iqbal, N., Khan, N. A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A., Khan, M. I. R. (2017): Ethylene role in plant growth, development, and senescence: interaction with other phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 8: 475.
- Irizarry, I., White, J.F. (2017): Application of bacteria from non-cultivated plants to promote growth, alter root architecture and alleviate salt stress of cotton, *Journal of Applied Microbiology*, 122 (4): 1110–1120.
- Islam, Z. F., Cordero, P. R. F., Feng, J., Chen, Y. J., Bay, S. K., Jirapanjawat, T., Gleadow, R. M., Carere, C. R., Stott, M. B., Chiri, E., Greening, C. (2019): Two Chloroflexi classes independently evolved the ability to persist on atmospheric hydrogen and carbon monoxide. *The ISME journal*, 13(7): 1801–1813.
- Janakiev, T. (2019): Mikrobiom šljive (*Prunus domestica* L.) i potencijal odabranih izolata za biokontrolu patogenih šljive, Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Janković M., Gajić M. (1974): Familije Scrophulariales - Plantaginaceae. In: Josifović, M. (Ed.), 1970-1986. *Flora Republike Srbije*, V, SANU, Beograd.
- Jeffries, C. D., Holtman, F., Guse, D.G. (1957): Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acids. *Journal of Bacteriology*, 73 (4):590-1.

- Jha, C.K., Aeron, A., Patel, B.V., Maheshwari, D.K., Saraf, M. (2011): *Enterobacter*: Role in Plant Growth Promotion. In: Maheshwari, D. (eds) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Jha, B., Gontia, I., Hartmann, A. (2012): The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. *Plant Soil* 356: 265–277.
- Ji, C., Liu, Z., Hao, L., Song, X., Wang, C., Liu, Y., Li, H., Li, C., Gao, Q., Liu, X. (2020): Effects of *Enterobacter cloacae* HG-1 on the Nitrogen-Fixing Community Structure of Wheat Rhizosphere Soil and on Salt Tolerance. *Frontiers in plant science*, 11: 1094.
- Jiménez-Gómez, A., Saati-Santamaría, Z., Kostovcik, M., Rivas, R., Velázquez, E., Mateos, P.F., Menéndez, E., García-Fraile, P. (2020): Selection of the Root Endophyte *Pseudomonas brassicacearum* CDVBN10 as Plant Growth Promoter for *Brassica napus* L. *Crops. Agronomy*, 10: 1788.
- Jiang, Z.M., Mou, T., Sun, Y., Su, J., Yu, L.Y., Zhang Y.Q. (2023): Environmental distribution and genomic characteristics of *Solirubrobacter*, with proposal of two novel species. *Frontiers in Microbiology*, 14:1267771.
- Jiang, J., Pan, Y., Hu, S., Zhang, X., Hu, B., Huang, H., Hong, S., Meng, J., Li, C., Wang, K. (2014): *Halomonas songnenensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from saline and alkaline soils. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 64(5): 1662–1669.
- Jovčić, B., Begović, J., Lozo, J., Topisirović, L., Kojić, M. (2009): Dynamic of sodium dodecyl sulfate utilization and antibiotic susceptibility of strain *Pseudomonas* sp. ATCC19151, *Archive of Biological Science* 61: 159–165.
- Kabore, O.D., Godreuil, S., Drancourt, M. (2020): Planctomycetes as Host-Associated Bacteria: A Perspective That Holds Promise for Their Future Isolations, by Mimicking Their Native Environmental Niches in Clinical Microbiology Laboratories. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10: 519301.
- Kader, M. A. (2005): A comparison of seed germination calculation formulae and the associated interpretation of resulting data. *Journal and Proceeding of the Royal Society of New South Wales*, 138: 65–75.
- Kapadia, C., Patel, N., Rana, A., Vaidya, H., Alfarraj, S., Ansari, M.J., Gafur, A., Poczai, P., Sayyed, R.Z. (2022): Evaluation of Plant Growth-Promoting and Salinity Ameliorating Potential of Halophilic Bacteria Isolated From Saline Soil. *Frontiers in Plant Science*, 13:946217.
- Karličić, V. (2017): Bakterije stimulatori biljnog rasta kao potencijal u ekoremedijaciji oštećenih zemljišta. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Karmakar, J., Goswami, S., Pramanik, K., Maiti, T. K., Kar, R. K., Dey, N. (2021): Growth promoting properties of *Mycobacterium* and *Bacillus* on rice plants under induced drought. *Plant Science Today*, 8(1): 49–57.
- Kaveh, H., Nemati, H., Farsi, M., Jartoodeh, S.V. (2011): How salinity affect germination and emergence of tomato lines. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 5:159–163.
- Kawash, J., Oudemans, P. V., Erndwein, L., Polashock, J. J. (2023): Assessment and comparison of rhizosphere communities in cultivated *Vaccinium* spp. provide a baseline for study of causative agents in decline. *Frontiers in plant science*, 14: 1173023.

- Kaymakanova, M. (2009): Effect of Salinity on Germination and Seed Physiology in Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 23(1): 326–329.
- Kearl, J., McNary, C., Lowman, J. S., Mei, C., Aanderud, Z. T., Smith, S. T., West, J., Colton, E., Hamson, M., Nielsen, B. L. (2019): Salt-Tolerant Halophyte Rhizosphere Bacteria Stimulate Growth of Alfalfa in Salty Soil. *Frontiers in microbiology*, 10: 1849.
- Kerbab, S., Silini, A., Chenari Bouket, A., Cherif-Silini, H., Eshelli, M., El Houda Rabhi, N., Belbahri, L. (2021): Mitigation of NaCl Stress in Wheat by Rhizosphere Engineering Using Salt Habitat Adapted PGPR Halotolerant Bacteria. *Applied Science*, 11: 1034.
- Kerečki, S., Pećinar, I., Karličić, V., Mirković, N., Kljujev, I., Raičević, V., Jovičić-Petrović, J. (2022): *Azotobacter chroococcum* F8/2: a multitasking bacterial strain in sugar beet biopriming, *Journal of Plant Interactions*, 17: 719-730.
- Kerečki, S. (2023): Mikrobiološki tretman semena u održivoj biljnoj proizvodnji. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Kielak, A. M., Barreto, C. C., Kowalchuk G. A., van Veen J. A., Kuramae E. E. (2016): The Ecology of Acidobacteria: Moving beyond Genes and Genomes. *Frontiers in Microbiology*, 7.
- Kim, S.J., Moon, J.Y., Lim, J. M. Hamada, M., Ahn, J.H. Weon, H.Y. Suzuki, K.I., Kwon, S.W. (2015): *Jatrophihabitans soli* sp. nov., isolated from soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65.
- Kloepper, J. W., Schroth, M. N. (1978): Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. In: *Proceedings of the fourth international conference on plant pathogenic bacteria*. Gilbert-Clarey, Tours, France, 2: 879-82.
- Kharangate-Lad, A., Bhosle, S. (2016): Studies on Siderophore and Pigment Produced by an Adhered Bacterial Strain *Halobacillus trueperi* MXM-16 from the Mangrove Ecosystem of Goa, India. *Indian journal of microbiology*, 56(4): 461–466.
- Kharshandi, F., Khyllap, A., Kayang, H. (2021): Plant Growth-Promoting Rhizobacteria of *Curcuma longa* L. and Their Impact on its Growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 91: 769–776.
- Khan, M. S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., Wani, P. A. (2010): Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 56(1): 73–98.
- Khan, A., Singh, A. V. (2021): Multifarious effect of ACC deaminase and EPS producing *Pseudomonas* sp. and *Serratia marcescens* to augment drought stress tolerance and nutrient status of wheat. *World journal of microbiology & biotechnology*, 37(12): 198.
- Khan, F., Siddique, A.B., Shabala, S., Zhou, M., Zhao, C. (2023): Phosphorus Plays Key Roles in Regulating Plants' Physiological Responses to Abiotic Stresses. *Plants*, 12: 2861.
- Knežević-Vukčević, J., Simić D. (1999): *Metode u mikrobiologiji-praktikum*. Beograd.
- Kong, D., Xia, Z., Gao, Y., Zhou, Y., Jiang, X., Xu, P., Guo, W., Ruan, Z. (2022): *Sporosarcina jiandibaonis* sp. nov., isolated from saline soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 72(2).
- Kour, D., Rana, K. L., Kaur, T., Yadav, N., Halder, S., Yadav, A. N., Ghosh Sachan, S., Saxena, A. (2020): Potassium solubilizing and mobilizing microbes: Biodiversity, mechanisms of solubilization, and biotechnological implication for alleviations of abiotic stress.

- Krause, A., Ramakumar, A., Bartels, D., Battistoni, F., Bekel, T., Boch, J., Böhm, M., Friedrich, F., Hurek, T., Krause, L., et al. (2006): Complete genome of the mutualistic, N₂-fixing grass endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. *Nature Biotechnology*, 24:1385-1391.
- Kulichevskaya, I. S., Suzina, N. E., Liesack, W., Dedysh, S. N. (2010): *Bryobacter aggregatus* gen. nov., sp. nov., a peat-inhabiting, aerobic chemo-organotroph from subdivision 3 of the Acidobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60(2): 301-306.
- Kumawat, C., Kumar, A., Parshad, J., Sharma, S.S., Patra, A., Dogra, P., Yadav, G.K., Dadhich, S.K., Verma, R., Kumawat, G.L. (2022): Microbial Diversity and Adaptation under Salt-Affected Soils: A Review. *Sustainability*, 14(15): 9280.
- Kumar Arora, N., Fatima, T., Mishra, J., Mishra, I., Verma, S., Verma, R., Verma, M., Bhattacharya, A., Verma, P., Mishra, P., Bharti, C. (2020): Halo-tolerant plant growth promoting rhizobacteria for improving productivity and remediation of saline soils. *Journal of advanced research*, 26: 69–82.
- Lakshmanan, V., Shantharaj, D., Li, G., Seyfferth, A. L., Sherrier, D. J., Bais, H. P. (2015): A natural rice rhizospheric bacterium abates arsenic accumulation in rice (*Oryza sativa* L). *Planta*, 242: 1037-1050.
- Lane, D.J. (1991): 16S/23S rRNA Sequencing. In Stackebrandt E, Goodfellow M, (eds), *Nucleic acid techniques in bacterial systematic*. John Wiley and Sons; New York (NY) pp. 115-175.
- Larsen, H. (1986): Halophilic and halotolerant microorganisms-an overview and historical perspective, *FEMS Microbiology Reviews*, 2 (3-7).
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J., Higgins, D. G. (2007): Clustal W and Clustal X version 2. *Bioinformatics*, 23: 2947-2948.
- Lee, D.G., Lee, J.M., Choi, C.G. Lee, H., Moon, L.C., Chung, N. (2021): Effect of plant growth-promoting rhizobacterial treatment on growth and physiological characteristics of *Triticum aestivum* L. under salt stress. *Applied Biological Chemistry*, 64, 89.
- Lević, S., Lijaković, I.P., Đorđević, V., Rac, V., Rakić, V., Knudsen, T.Š., Pavlović, V., Bugarski, B., Nedović, V. (2015): Characterization of sodium alginate/D-limonene emulsions and respective calcium alginate/D-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food Hydrocolloids*, 45, 111-123.
- Li, J., Zhao, G. Z., Huang, H. Y., Qin, S., Zhu, W. Y., Xu, L. H., Li, W. J. (2009): *Kineospora mesophila* sp. nov., isolated from surface-sterilized stems of *Tripterygium wilfordii*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(12): 3150–3154.
- Li, Z., Chang, S., Lin, L., Li, Y., An, Q. (2011): A colorimetric assay of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) based on ninhydrin reaction for rapid screening of bacteria containing ACC deaminase. *Letters in Applied Microbiology*, 53: 178–185.
- Li, Y., Kong, Y., Teng, D., Zhang, X., He, X., Zhang, Y., Lv, G. (2018): Rhizobacterial communities of five co-occurring desert halophytes. *PeerJ*, 6:e5508.
- Li, H., Yue, H., Li, L., Liu, Y., Zhang, H., Wang, J., Jiang, X. (2021): Seed biostimulant *Bacillus* sp. MGW9 improves the salt tolerance of maize during seed germination. *AMB Express*, 11(1): 74.
- Li, X., Chu, C., Ding, S., Wei, H., Wu, S., Xie, B. (2022): Insight into how fertilization strategies increase quality of grape (Kyoho) and shift microbial community. *Environmental science and pollution research international*, 29(18): 27182–27194.

- Liotti, R. G., da Silva Figueiredo, M. I., da Silva, G. F., de Mendonça, E. A. F., Soares, M. A. (2018): Diversity of cultivable bacterial endophytes in *Paullinia cupana* and their potential for plant growth promotion and phytopathogen control. *Microbiological research*, 207: 8-18.
- Liu, Y., Jin, J. H., Liu, Y. H., Zhou, Y. G., Liu, Z. P. (2010): *Dongia mobilis* gen. nov., sp. nov., a new member of the family Rhodospirillaceae isolated from a sequencing batch reactor for treatment of malachite green effluent. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60(12): 2780–2785.
- Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M. J., Schenk, P. M. (2017): Inner Plant Values: Diversity, Colonization and Benefits from Endophytic Bacteria. *Frontiers in microbiology*, 8: 2552.
- Liu, J. M., Liang, Y. T., Wang, S. S., Jin, N., Sun, J., Lu, C., Sun, Y. F., Li, S. Y., Fan, B., Wang, F. Z. (2023): Antimicrobial activity and comparative metabolomic analysis of *Priestia megaterium* strains derived from potato and dendrobium. *Scientific reports*, 13(1): 5272.
- Lozupone, C. A., Knight, R. (2007): Global patterns in bacterial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(27): 11436–11440.
- Lorenzi, A.S., Bonatelli, M.L., Chia, M.A., Peressim, L., Quecine, M.C. (2022): Opposite Sides of *Pantoea agglomerans* and Its Associated Commercial Outlook. *Microorganisms*, 10: 2072.
- Lu, C.Y., Dong, L., Wang, D. et al. (2022): *Dongia deserti* sp. nov., Isolated from the Gurbantunggut Desert Soil. *Current Microbiology*, 79: 342.
- Luo, G., Shi, Z., Wang, H., & Wang, G. (2012). *Skermanella stibiirens* sp. nov., a highly antimony-resistant bacterium isolated from coal-mining soil, and emended description of the genus *Skermanella*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(6): 1271–1276.
- Luković, M. (2019): Vegetacija zaslanjenih staništa Srbije sa procenom održivog korišćenja i očuvanja. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Srbija.
- Luković, M., Veljović, S., Kostić, M. (2022): Edible Inland Halophytes: Potential Ingredient Of Innovative Gastronomic Products With Increased Nutrition Value; “XXVII Savetovanje O Biotehnologiji” Zbornik radova.
- Lynch, J.M. (1990): *The Rhizosphere*. Wiley-Interscience, Chichester, UK.
- Ma, B., Gong, J. (2013): A meta-analysis of the publicly available bacterial and archaeal sequence diversity in saline soils. *World journal of microbiology & biotechnology*, 29(12): 2325–2334.
- Maas, E.V., Grattan, S.R. (1999): Crop Yields as Affected by Salinity. In: R.W. Skaggs and J. Schilfhaarde (eds) *Agricultural Drainage*, 38: 55-108.
- Malik, A., Mor, V.S., Tokas, J., Punia, H., Malik, S., Malik, K., Sangwan, S., Tomar, S., Singh, P., Singh, N. (2021): Biostimulant-Treated Seedlings under Sustainable Agriculture: A Global Perspective Facing Climate Change. *Agronomy*, 11: 14.
- Madhaiyan, M., Wirth, J. S., Saravanan, V. S. (2020): Phylogenomic analyses of the *Staphylococcaceae* family suggest the reclassification of five species within the genus *Staphylococcus* as heterotypic synonyms, the promotion of five subspecies to novel species, the taxonomic reassignment of five *Staphylococcus* species to *Mammaliococcus* gen. nov., and the formal assignment of *Nosocomiicoccus* to the family *Staphylococcaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(11): 5926–5936.

- Mahdi, I., Mohamed, H., Abdelmounaaim, A., Latefa, B. (2021): Halotolerant Endophytic Bacterium *Serratia rubidaea* ED1 Enhances Phosphate Solubilization and Promotes Seed Germination. *Agriculture*, 11 (3): 224.
- Mahmood, A., Turgay, O. C., Farooq, M., Hayat, R. (2016): Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: A review. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8).
- Mahmud, F. M. A., Islam, M. A., Rubel, M. H., Mukharjee, S. K., Kumar, M., Bhattacharya, P., & Ahmed, F. (2023): Effects of halotolerant rhizobacteria on rice seedlings under salinity stress. *The Science of the total environment*, 892: 163774.
- Mapelli, F., Marasco, R., Rolli, E., Barbato, M., Cherif, H., Guesmi, A., et al. (2013): Potential for plant growth promotion of rhizobacteria associated with *Salicornia* growing in Tunisian hypersaline soils. *Biomed Research International*, 2013:248078.
- Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B. R. (2004): Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant physiology and biochemistry*, 42(6): 565–572.
- Marquez, M. C., Ventosa A., Ruiz-Berraquero, F. (1987): A Taxonomic Study of Heterotrophic Halophilic and Non-halophilic Bacteria from a Solar Saltern. *The Journal of General Microbiology*, 133: 45-56.
- Marques, A., Pires, C., Moreira, H., Rangel, A., Castro, P. (2010): Assessment of the plant growth promotion abilities of six bacterial isolates using *Zea mays* as indicator plant. *Soil Biology & Biochemistry*, 42.
- Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., Morales, M. E. (2015): Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 27: 15-25.
- Matilla, M.A., Espinosa-Urgel, M., Rodríguez-Herva, J.J. et al. (2007): Genomic analysis reveals the major driving forces of bacterial life in the rhizosphere. *Genome Biology*, 8, R179.
- Maxton, A., Singh, P., Masih, S. A. (2017): ACC deaminase-producing bacteria mediated drought and salt tolerance in *Capsicum annuum*. *Journal of Plant Nutrition*, 41(5): 574–583.
- McDonald, M.B. (1999): Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology*, 27:177–237.
- Meinzer, M., Ahmad, N., Nielsen, B. L. (2023): Halophilic Plant-Associated Bacteria with Plant-Growth-Promoting Potential. *Microorganisms*, 11(12), 2910.
- Menendez, E., Carro, Lorena. (2019): Actinobacteria and Their Role as Plant Probiotics. In: Giri, B., Prasad, R., Wu, Q.S., Varma, A. (eds) *Biofertilizers for sustainable agriculture and environment*. *Soil Biology* 55, Springer Nature Switzerland AG.
- Mesa-Marín, J., Pérez-Romero J. A., Redondo-Gómez S., Pajuelo E., Rodríguez-Llorente, I., Mateos-Naranjo, E. (2020): Impact of Plant Growth Promoting Bacteria on *Salicornia ramosissima* Ecophysiology and Heavy Metal Phytoremediation Capacity in Estuarine Soils; *Frontiers in Microbiology*, 11;
- Michl, K., Berg, G., Cernava, T. (2023): The microbiome of cereal plants: The current state of knowledge and the potential for future applications. *Environmental Microbiome*, 18, 28.
- Misra, S., Chauhan, P. S. (2020): ACC deaminase-producing rhizosphere competent *Bacillus* spp. mitigate salt stress and promote *Zea mays* growth by modulating ethylene metabolism. *3 Biotech*, 10(3): 119.

- Mitra, D., Montal, R., Khoshru, B., Senapati, A., Radha T.K., Manakur, B., Uniyal, N., Myo, E.M. et al. (2022): Actinobacteria-enhanced plant growth, nutrient acquisition, and crop protection: Advances in soil, plant, and microbial multifactorial interactions, *Pedosphere*, 32(1): 149-170.
- Mohr, K. I., Garcia, R. O., Gerth, K., Irschik, H., Müller, R. (2012): *Sandaracinus amylolyticus* gen. nov., sp. nov., a starch-degrading soil myxobacterium, and description of Sandaracinaceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 62(5): 1191–1198.
- Mora-Ruiz, M.delR., Font-Verdera, F., Díaz-Gil, C., Urdiain, M., Rodríguez-Valdecantos, G., González, B., Orfila, A., Rosselló-Móra, R. (2015): Moderate halophilic bacteria colonizing the phylloplane of halophytes of the subfamily Salicornioideae (Amaranthaceae). *Systematic and applied microbiology*, 38(6): 406–416.
- Mora-Ruiz, M.delR., Font-Verdera, F., Orfila, A., Rita, J., Rosselló-Móra, R. (2016): Endophytic microbial diversity of the halophyte *Arthrocnemum macrostachyum* across plant compartments. *FEMS microbiology ecology*, 92(9), fiw145.
- Moran, J., McGrath, C. (2021): Comparison of Methods for Mapping Rhizosphere Processes in the Context of Their Surrounding Root and Soil Environments. *BioTechniques*, 71(6): 604–614.
- Muhammad, M. H., Idris, A. L., Fan, X., Guo, Y., Yu, Y., Jin, X., Qiu, J., Guan, X., Huang, T. (2020): Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. *Frontiers in microbiology*, 11: 928.
- Mukherjee, P., Mitra, A., Roy, M. (2019): *Halomonas* rhizobacteria of *Avicennia marina* of Indian sundarbans promote rice growth under saline and heavy metal stresses through exopolysaccharide yuaproduction. *Frontiers in Microbiology*, 10:1207.
- Munns, R., Tester, M. (2008): Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, 59: 651–681.
- Mumtaz, M. Z., Ahmad, M., Jamil, M., Hussain, T. (2017): Zinc solubilizing *Bacillus* spp. potential candidates for biofortification in maize. *Microbiological research*, 202, 51–60.
- Muruzović, Ž. M., Mladenović, G. K., Stefanović, D. O., Vasić M. S, Čomić, R. Lj. (2016): Extracts of *Agrimonia eupatoria* L. as sources of biologically active compounds and evaluation of their antioxidant, antimicrobial, and antibiofilm activities, *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, (3): 539-547.
- Mwando, E., Angessa, T. T., Han, Y., Li, C. (2020): Salinity tolerance in barley during germination-homologs and potential genes. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 21(2): 93-121.
- Nadeem, S.M., Zahir, Z.A., Naveed, M. et al. (2013): Mitigation of salinity-induced negative impact on the growth and yield of wheat by plant growth-promoting rhizobacteria in naturally saline conditions. *Annals of Microbiology*, 63: 225–232.
- Nanjani, S.G. Soni, H.P. (2014): Characterization of an extremely halotolerant *Staphylococcus arlettae* HPSSN35C isolated from Dwarka Beach, India. *Journal of Basic Microbiology*, 54: 843-850.
- Naseem, H., Ahsan, M., Shahid, M. A., Khan, N. (2018): Exopolysaccharides producing rhizobacteria and their role in plant growth and drought tolerance. *Journal of basic microbiology*, 58(12): 1009–1022.
- Nautiyal, C. S. (1999): An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170: 265-270.

- Navarro-Torre, S., Barcia-Piedras, J. M., Mateos-Naranjo, E., Redondo-Gómez, S., Camacho, M., Caviedes, M. A., et al. (2017): Assessing the role of endophytic bacteria in the halophyte *Arthrocnemum macrostachyum* salt tolerance. *Plant Biology*, 19: 249–256.
- Nawaz, A., Shahbaz, M., Asadullah, M., Imran, A., Marghoob, M.U., Imtiaz, M., Mubeen, F. (2020): Potential of Salt Tolerant PGPR in Growth and Yield Augmentation of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Saline Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- Nawaz, A., Qamar, Z.U., Marghoob, M.U., Imtiaz, M., Imran, A., Mubeen, F. (2023): Contribution of potassium solubilizing bacteria in improved potassium assimilation and cytosolic K⁺/Na⁺ ratio in rice (*Oryza sativa* L.) under saline-sodic conditions. *Frontiers in Microbiology*, 14:1196024.
- Negacz, K., Malek, Ž., de Vos, A., Vellinga, P. (2022): Saline soils worldwide: Identifying the most promising areas for saline agriculture, *Journal of Arid Environments*, 203:104775
- Neilands J. B. (1981): Iron absorption and transport in microorganisms. *Annual review of nutrition*, 1, 27-46.
- Oliva, G., Di Stasio, L., Vigliotta, G., Guarino, F., Cicatelli, A., Castiglione, S. (2023): Exploring the Potential of Four Novel Halotolerant Bacterial Strains as Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) under Saline Conditions. *Applied Science*, 13: 4320.
- Oren, A. (2006): Life at High Salt Concentrations. In: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, KH., Stackebrandt, E. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, New York, NY.
- Orhan, F. (2016): Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*). *Brazilian Journal of Microbiology*, 47 (3): 621–627.
- Otlewska, A., Migliore, M., Dybka-Stępień, K., Manfredini, A., Struszczyk-Świta, K., Napoli, R., Białkowska, A., Canfora, L., Pinzari, F. (2020): When Salt Meddles Between Plant, Soil, and Microorganisms. *Frontiers in Plant Science*, 11:553087.
- Palma, V., Gutiérrez, M. S., Vargas, O., Parthasarathy, R., & Navarrete, P. (2022): Methods to Evaluate Bacterial Motility and Its Role in Bacterial-Host Interactions. *Microorganisms*, 10(3):563.
- Paluch, Z., Biriczová, L., Pallag, G., Carneiro Marques, E., Vargová, N., Kmoníčková, E. (2020): The therapeutic effects of *Agrimonia eupatoria* L. *Physiological research*, 69(4): S555–S571.
- Palleroni, N. J., Port, A. M., Chang, H. K., Zylstra, G. J. (2004): *Hydrocarboniphaga effusa* gen. nov., sp. nov., a novel member of the gamma-Proteobacteria active in alkane and aromatic hydrocarbon degradation. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54 (4): 1203–1207.
- Paparella, S., Araujo, S. S., Rossi, G., Wijayasinghe, M., Carbonera, D., Balestrazzi, A. (2015): Seed priming: state of the art and new perspectives. *Plant Cell Reports*, 34: 1281-1293
- Parida, A. K., Das, A. B. (2005): Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3): 324–349.
- Patil, A.D., Mahadevaswamy, K.T. (2014): Diversity among the salt tolerant rhizobacteria of Tungabhadra Command area. *Mycrobiology*, 3(12): 2493–2496.
- Patkar, S., Shinde, Y., Chindarkar, P., Chakraborty, P. (2021): Evaluation of antioxidant potential of pigments extracted from *Bacillus* spp. and *Halomonas* spp. isolated from mangrove rhizosphere. *Biotechnologia*, 102(2): 157–169.

- Patten, C.L., Glick, B.R. (2002): Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 48: 3795–801.
- Paul, D., Lade, H. (2014): Plant-growth-promoting rhizobacteria to improve crop growth in saline soils: A review. *Agronomy for Sustainable Development*.
- Paulo, M.E., Vasconcelos, P.M., Oliveira, S.I., Affe, M.H., Nascimento, R., De Melo, S.I., De Abreu Roque, M.R, De Assis, S.A. (2012): An alternative method for screening lactic acid bacteria for the production of exopolysaccharides with rapid confirmation. *Food Science and Technology*, 32:710-714.
- Paz, A. M., Amezketa, E., Canfora, L., Castanheira, N., Falsone, G., Gonçalves, M. C., Gould, I., Hristov, B., Mastroianni, M., Ramos, T., Thompson, R., Costantini, E. A. (2023): Salt-affected soils: field-scale strategies for prevention, mitigation, and adaptation to salt accumulation. *Italian Journal of Agronomy*, 18(2).
- Penrose, M.D., Glick, R.B. (2003): Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118:10-15.
- Peng, M., Wang, C., Wang, Z., Huang, X., Zhou, F., Yan, S., & Liu, X. (2022): Differences between the effects of plant species and compartments on microbiome composition in two halophyte *Suaeda* species. *Bioengineered*, 13(5): 12475–12488.
- Poupin, M. J., Ledger, T., Roselló-Móra, R., González, B. (2023): The *Arabidopsis* holobiont: a (re)source of insights to understand the amazing world of plant-microbe interactions. *Environmental microbiome*, 18(1): 9.
- Pohlner, M., Dlugosch, L., Wemheuer, B., Mills, H., Engelen, B. Reese, B.K. (2019): The Majority of Active Rhodobacteraceae in Marine Sediments Belong to Uncultured Genera: A Molecular Approach to Link Their Distribution to Environmental Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 10: 659.
- Preston, G.M. (2004): Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 359:907-18.
- Qiu, L., Kong, W., Zhu, H., Zhang, Q., Banerjee, S., Ishii, S., Sadowsky, M. J., Gao, J., Feng, C., Wang, J., Chen, C., Lu, T., Shao, M., Wei, G., Wei, X. (2022): Halophytes increase rhizosphere microbial diversity, network complexity and function in inland saline ecosystem. *The Science of the total environment*, 831: 154944.
- Qin, S., Zhang, Y.J., Yuan, B., Xu, P.-Y., Xing, K., Wang, J., et al. (2014): Isolation of ACC deaminase-producing habitat-adapted symbiotic bacteria associated with halophyte *Limonium sinense* (Girard) Kuntze and evaluating their plant growth-promoting activity under salt stress. *Plant Soil*, 374: 753–766.
- Qurashi A. W., Sabri A. N. (2012a). Bacterial exopolysaccharide and biofilm formation stimulate chickpea growth and soil aggregation under salt stress. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43: 1183–1191.
- Qurashi, A. W., Sabri, A. N. (2012b): Biofilm formation in moderately halophilic bacteria is influenced by varying salinity levels. *Journal of Basic Microbiology*, 52: 566–572.
- Rajawat, M.V.S., Singh, S., Tyagi, S.P., Saxena, A.K. (2016): A Modified Plate Assay for Rapid Screening of Potassium-Solubilizing Bacteria. *Pedosphere*, 26: 768-773.

- Rajput, L., Imran, A., Mubeen, F., Hafeez, F.Y. (2013): Salt-tolerant PGPR strain *Planococcus rifietoensis* promotes the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum*) cultivated in saline soil. *Pakistan Journal of Botany*, 45:1955–1962
- Ramadoss, D., Lakkineni, V. K., Bose, P., Ali, S., Annapurna, K. (2013): Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats. *SpringerPlus*, 2(1), 6.
- Rana, R., Madhavan, V. N., Saroha, T., Bansal, K., Kaur, A., Sonti, R. V., Patel, H. K., Patil, P. B. (2022): *Xanthomonas indica* sp. nov., a Novel Member of Non-Pathogenic Xanthomonas Community from Healthy Rice Seeds. *Current microbiology*, 79(10): 304.
- Rath, K., Rousk, J. (2014): Salt effects on the soil microbial decomposer community and their role in organic carbon cycling: A review. *Soil Biology and Biochemistry*, 81.
- Rathore, S., Desai, P.M., Liew, C.V., Chan, L.W., Heng, P.W.S. (2013): Microencapsulation of Microbial Cells. *Journal of Food Engineering*, 116: 369–381.
- Ravanello, M. P., Ke, D., Alvarez, J., Huang, B., Shewmaker, C. K. (2003): Coordinate expression of multiple bacterial carotenoid genes in canola leading to altered carotenoid production. *Metabolic engineering*, 5(4): 255–263.
- Rezaeeyan, Z., Safarpour, A., Amoozegar, A. M., Babavalian, H., Tebyanian, H., Shakeri, F. (2017): High carotenoid production by a halotolerant bacterium, *Kocuria* sp. strain qwt-12 and anticancer activity of its carotenoid. *EXCLI Journal*, 16:840-851.
- Reinhold, B., Hurek, T., Gillis, M., Hoste, B., Vancanneyt, M., Kersters, K., Ley, J. (1993): *Azoarcus* gen. nov., Nitrogen-fixing Proteobacteria associated with roots of Kallar Grass (*Leptochloa fusca* (L.) Kunth), and description of two species, *Azoarcus indigens* sp. nov. and *Azoarcus communis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 43.
- Reinhold-Hurek, B., B nger, W., Burbano, C. S., Sabale, M., Hurek, T. (2015): Roots shaping their microbiome: global hotspots for microbial activity. *Annual review of phytopathology*, 53: 403–424.
- Remonsellez, F., Castro-Severyn, J., Pardo-Est , C., Aguilar, P., Fortt, J., Salinas, C., Barahona, S., León, J., Fuentes, B., Areche, C., Hernández, K.L., Aguayo, D. and Saavedra, C.P. (2018): Characterization and salt response in recurrent halotolerant *Exiguobacterium* sp. SH31 isolated from sediments of Salar de Huasco, Chilean Altiplano. *Frontiers in Microbiology*, 9:2228.
- Rengasamy, P. (2006): World salinization with emphasis on Australia. *Journal of experimental botany*, 57(5): 1017–1023.
- Richards, L.A. (1954): Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. *Soil Science*, 78:154.
- Riesenfeld, C. S., Schloss, P. D., Handelsman, J. (2004): Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. *Annual review of genetics*, 38: 525–552.
- Roessler, M., Muller, V. (2002): Chloride, a new environmental signal molecule involved in gene regulation in a moderately halophilic bacterium, *Halobacillus halophilus*. *Journal of Bacteriology*, 184: 6207–6215.
- Rolfe, S. A., Griffiths, J., Ton, J. (2019): Crying out for help with root exudates: adaptive mechanisms by which stressed plants assemble health-promoting soil microbiomes. *Current opinion in microbiology*, 49: 73–82.
- Rojas-Sánchez, B., Guzmán-Guzmán, P., Morales-Cede o, L.R., Orozco-Mosqueda, M.d.C., Saucedo-Martínez, B.C., Sánchez-Y  ez, J.M., Fadiji, A.E., Babalola, O.O., Glick, B.R., Santoyo,

- G. (2022): Bioencapsulation of Microbial Inoculants: Mechanisms, Formulation Types and Application Techniques. *Applied Biosciences*,1:198–220.
- Rozema, J., Schat, H. (2013): Salt tolerance of halophytes, research questions reviewed in the perspective of saline agriculture. *Environmental and Experimental Botany*, 92 (69): 83-95.
- Rosenblueth, M., Martínez-Romero, E. (2006): Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular plant-microbe interactions*, 19(8): 827–837.
- Rodríguez-Llorente, I.D., Pajuelo, E., Navarro-Torre, S., Mesa-Marín, J., Caviedes, M.A. (2019): Bacterial Endophytes from Halophytes: How Do They Help Plants to Alleviate Salt Stress? In: Kumar, M., Etesami, H., Kumar, V. (eds) *Saline Soil-based Agriculture by Halotolerant Microorganisms*. Springer, Singapore. pp147-160.
- Romero, F., Hilfiker, S., Edlinger, A., Held, A., Hartman, K., Labouyrie, M., van der Heijden, M. G. A. (2023): Soil microbial biodiversity promotes crop productivity and agro-ecosystem functioning in experimental microcosms. *The Science of the total environment*, 885: 163683.
- Ruppel, S., Franken, P., Witzel, K. (2013): Properties of the halophyte microbiome and their implications for plant salt tolerance. *Functional plant biology*, 40(9): 940–951.
- Ruppert, Krista., Kline, R., Rahman, Md. (2019): Past, present, and future perspectives of environmental DNA (eDNA) metabarcoding: A systematic review in methods, monitoring, and applications of global eDNA. *Global Ecology and Conservation*, 17:e00547.
- Russo, A., Basaglia, M., Tola, E., Casella, S. (2001): Survival, root colonization and biocontrol capacities of *Pseudomonas xuoescens* F113 LacZY in dry alginate microbeads. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 27: 337–342.
- Sá, C., Cardoso, P., Figueira, E. (2019): Alginate as a feature of osmotolerance differentiation among soil bacteria isolated from wild legumes growing in Portugal. *The Science of the total environment*, 681: 312-319.
- Saberi Riseh, R., Ebrahimi-Zarandi, M., Gholizadeh Vazvani, M., Skorik, Y.A. (2021): Reducing Drought Stress in Plants by Encapsulating Plant Growth-Promoting Bacteria with Polysaccharides. *International Journal of Molecular Science*, 22: 12979.
- Saad, M.M., Abo-Koura, H.A., Bishara, M.M., Gomaa, I.M. (2020): Microencapsulation: Toward the Reduction of the Salinity Stress Effect on Wheat Plants Using NPK Rhizobacteria. *Biotechnology Journal International*, 23: 1-18.
- Sagar, A., Rai, S., Ilyas, N., Sayyed, R.Z., Al-Turki, A.I., El Enshasy, H.A., Simarmata, T. (2022): Halotolerant Rhizobacteria for Salinity-Stress Mitigation: Diversity, Mechanisms and Molecular Approaches. *Sustainability*, 14: 490.
- Saccá, M.L., Barra Caracciolo, A., Di Lenola, M., Grenni, P. (2017): Ecosystem Services Provided By Soil Microorganisms. In: Lukac, M., Grenni, P., Gamboni, M. (eds) *Soil Biological Communities and Ecosystem Resilience. Sustainability in Plant and Crop Protection*. Springer, Cham.
- Sagar, A., Rai, S., Ilyas, N., Sayyed, R.Z., Al-Turki, A.I., El Enshasy, H.A., Simarmata, T. (2022): Halotolerant Rhizobacteria for Salinity-Stress Mitigation: Diversity, Mechanisms and Molecular Approaches. *Sustainability*,14: 490.
- Saleh, M., Sarhan, M., Ahmed, E., Hamza, M., Abbas, M., Othman, A., Youssef, H., Morsi, A., Youssef, G., El-Tahan, M., Amer, W., Fayez, M., Ruppel, S., Hegazi, N. (2017): A novel plant-based-

- sea water culture media for in vitro cultivation and in situ recovery of the halophyte microbiome. *Journal of Advanced Research*, 8: 577-590.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. (1989): *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor, NY, Cold Spring Harbor Laboratory.
- Sanger, F. N. S., Coulson, A.R. (1977): DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.* 74(12): 5463-5467.
- Sánchez-Porro, C., de la Haba, R. R., Soto-Ramírez, N., Márquez, M. C., Montalvo-Rodríguez, R., & Ventosa, A. (2009): Description of *Kushneria aurantia* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family Halomonadaceae, and a proposal for reclassification of *Halomonas marisflavi* as *Kushneria marisflavi* comb. nov., of *Halomonas indalini* as *Kushneria indalini* comb. nov. and of *Halomonas avicenniae* as *Kushneria avicenniae* comb. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59(2): 397–405.
- Sarhan, M., Hamza, M., Youssef, H., Patz, S., Becker, M., Elsayey, H., Nemr, R., Abdulla, D., Hassan S., Ahmed, E., Morsi, A., Abdelfadil, M., Abbas, M., Fayed, M., Ruppel, S., Hegazi, N. (2019): Culturomics of the plant prokaryotic microbiome and the dawn of plant-based culture media – A review. *Journal of Advanced Research*. 19.
- Schlaeppli, K., Dombrowski, N., Oter, R.G., Ver Loren van Themaat, E., Schulze-Lefert, P. (2014): Quantitative divergence of the bacterial root microbiota in *Arabidopsis thaliana* relatives. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A.*, 111(2): 585-592.
- Schlaeppli, K., Bulgarelli, D. (2015): The plant microbiome at work. *Molecular plant-microbe interactions*, 28(3): 212–217.
- Schoebitz, M., López, M., Roldán, A. (2013): Bioencapsulation of microbial inoculants for better soil–plant fertilization. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 33 (4):751-765.
- Schoebitz, M., López Belchí, M.D. (2016): Encapsulation Techniques for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. In: Arora, N., Mehnaz, S., Balestrini, R. (eds) *Bioformulations: for Sustainable Agriculture*. Springer, New Delhi.
- Sgroy, V., Cassán, F., Masciarelli, O., Del Papa, M. F., Lagares, A., Luna, V. (2009): Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Applied microbiology and biotechnology*, 85(2): 371–381.
- Sessitsch, A., Hardoim, P., Döring, J., Weilharter, A., Krause, A., Woyke, T., Mitter, B., Hauberg-Lotte, L., Friedrich, F., Rahalkar, M., Hurek, T., Sarkar, A., Bodrossy, L., van Overbeek, L., Brar, D., van Elsas, J. D., Reinhold-Hurek, B. (2012): Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis. *Molecular plant-microbe interactions*, 25(1): 28–36.
- Siddique, M. A., Chauhan, P. S., Anandham, R., Han, G. H., Sa, T. (2010): Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. *Journal of microbiology and biotechnology*, 20(11): 1577–1584.
- Singh, R. P., Jha, P., Jha, P. N. (2015): The plant-growth-promoting bacterium *Klebsiella* sp. SBP-8 confers induced systemic tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) under salt stress. *Journal of plant physiology*, 184: 57–67.

- Singh, R., Tariyal, Y. S., Chauhan, J. S. (2021): Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Salt Stress Tolerance of Barnyard Millet (*Echinochloa frumentacea*). *Biochemistry and Analytical biochemistry*, 10(9).
- Singh, R.P., Jha, P.N. (2016): Alleviation of salinity-induced damage on wheat plant by an ACC deaminase-producing halophilic bacterium *Serratia* sp. SL- 12 isolated from a salt lake. *Symbiosis*, 69: 101-111.
- Shahid, M., Ahmed, T., Noman, M. et al. (2019): Non-pathogenic *Staphylococcus* strains augmented the maize growth through oxidative stress management and nutrient supply under induced salt stress. *Annals of Microbiology*, 69: 727–739.
- Shrivastava, P., Kumar, R. (2015): Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Science*, 22:123-131.
- Shivanand, P., Mugeraya, G. (2011): Halophilic bacteria and their compatible solutes-osmoregulation and potential applications. *Current science*, 100:25.
- Sorty, A. M., Meena, K. K., Choudhary, K., Bitla, U. M., Minhas, P. S., Krishnani, K. K. (2016): Effect of Plant Growth Promoting Bacteria Associated with Halophytic Weed (*Psoralea corylifolia* L) on Germination and Seedling Growth of Wheat Under Saline Conditions. *Applied biochemistry and biotechnology*, 180(5): 872–882.
- Solden, L., Lloyd, K., Wrighton, K. (2016): The bright side of microbial dark matter: lessons learned from the uncultivated majority. *Current opinion in microbiology*, 31: 217–226.
- Sohaib, M., Zahir, Z. A., Khan, M. Y., Ans, M., Asghar, H. N., Yasin, S., Al-Barakah, F. N. I. (2020): Comparative evaluation of different carrier-based multi-strain bacterial formulations to mitigate the salt stress in wheat. *Saudi journal of biological sciences*, 27(3): 777–787.
- Song, J., Wang, B. (2015): Using Euhalophytes to Understand Salt Tolerance and to Develop Saline Agriculture: *Suaeda Salsa* as a Promising Model. *Annals of botany*, 115: 541–553.
- Sraphet, S., Javadi, B. (2022): Unraveling Techniques for Plant Microbiome Structure Analysis. *Diversity*, 14, 206.
- Segata, N., Izard, J., Waldron, L., Gevers, D., Miropolsky, L., Garrett, W.S., Huttenhower, C. (2011): Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 12: R60.
- Srithaworn, M., Jaroenthanayakorn, J., Tangjitjaroenkun, J., Suriyachadkun, C., Chunhachart, O. (2023): Zinc solubilizing bacteria and their potential as bioinoculant for growth promotion of green soybean (*Glycine max* L. Merr.). *PeerJ* 11:e15128.
- Stanković, M. J. (2019): Halofitne biljne vrste – izolovanje i karakterizacija sekundarnih metabolita, Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Beograd.
- Staley, J.T., Konopka, A. (1985): Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. *Annual Review of Microbiology*, 1985;39:321-46.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukiv, S., Cirković, I., Ruzicka, F. (2007): Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 15:891-899.
- Suh, M.K., Kim, JS., Eom, M.K. et al. (2024): *Jatrophihabitans cynanchi* sp. nov., isolated from rhizosphere soil of *Cynanchum wilfordii*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 117: 19.

- Szymańska S, Płociniczak T, Piotrowska-Seget Z, Hryniewicz K. (2016): Endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Salicornia europaea* L. - community structure and metabolic potential. *Microbiol Research*, 192:37-51.
- Szymańska, S., Borruso, L., Brusetti, L., Hulisz, P., Furtado, B., & Hryniewicz, K. (2018): Bacterial microbiome of root-associated endophytes of *Salicornia europaea* in correspondence to different levels of salinity. *Environmental science and pollution research international*, 25(25): 25420–25431.
- Szymańska, S., Tyburski, J., Piernik, A., Sikora, M., Mazur, J., Hryniewicz, K. (2020): Raising beet tolerance to salinity through bioaugmentation with halotolerant endophytes. *Agronomy*, 10:1571.
- Szymańska, S., Lis, M. I., Piernik, A., Hryniewicz, K. (2022): *Pseudomonas stutzeri* and *Kushneria marisflavi* Alleviate Salinity Stress-Associated Damages in Barley, Lettuce, and Sunflower. *Frontiers in microbiology*, 13: 788893.
- Szopa, D., Mielczarek, M., Skrzypczak, D., Izydorczyk, G., Mikula, K., Chojnacka, K., Witek-Krowiak, A. (2022). Encapsulation efficiency and survival of plant growth-promoting microorganisms in an alginate-based matrix-A systematic review and protocol for a practical approach. *Industrial Crops and Products*. 181: 114846.
- Szabolcs, I. (1979): Review of research on salt-affected soils. *Nature Resources Research*, 15:137. (UNESCO, Paris).
- Szabolcs, I. (1989): Salt affected soils. CRC Press, Boca Raton, pp 274.
- Szabolcs, I. (1994): Salt affected soils as the ecosystem for halophytes. In: Squires, V.R., Ayoub, A.T. (eds) *Halophytes as a resource for livestock and for rehabilitation of degraded lands. Tasks for Vegetation Science*, vol 32. Springer, Dordrecht.
- Škorić, A., Filipovski, G., Ćirić, M. (1985): Klasifikacija Zemljišta Jugoslavije, Akademija Nauka i Umjetnosti Bosne i Hercegovine, Posebna izdanja, Knjiga LXXVII, Sarajevo, Bosna i Hercegovina.
- Tal, Y., van Rijn, J., and Nusinuvitch, A. (1999): Improvement of mechanical and biological properties of freeze-dried denitrifying alginate beads by using starch as a filler and carbon source. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51: 773–779.
- Taj, Z., Challabathula, D. (2021): Protection of Photosynthesis by Halotolerant *Staphylococcus sciuri* ET101 in Tomato (*Lycopersicon esculentum*) and Rice (*Oryza sativa*) Plants During Salinity Stress: Possible Interplay Between Carboxylation and Oxygenation in Stress Mitigation. *Frontiers in Microbiology*, 11:547750.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. (2011): MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- Tarchoun, N., Saadaoui, W., Mezghani, N., Pavli, O. I., Falleh, H., Petropoulos, S. A. (2022): The Effects of Salt Stress on Germination, Seedling Growth and Biochemical Responses of Tunisian Squash (*Cucurbita maxima* Duchesne) Germplasm. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(6): 800.
- Teles, E. A. P., Xavier, J. F., Arcênio, F. S., Amaya, R. L., Gonçalves, J. V. S., Rouws, L. F. M., Zonta, E., Coelho, I. S. (2024): Characterization and evaluation of potential halotolerant phosphate solubilizing bacteria from *Salicornia fruticosa* rhizosphere. *Frontiers in plant science*, 14: 1324056.
- Theodorakopoulos, N., Bachar, D., Christen, R., Alain, K., Chapon, V. (2013): Exploration of *Deinococcus-Thermus* molecular diversity by novel group-specific PCR primers. *Microbiology Open*, 2(5): 862–872.

- Thompson, J. D., Gibson, J. T. et al. (2002): Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. Current Protocols in Bioinformatics. Chapter 2: Unit 23.
- Thrall, P. H., Hochberg, M. E., Burdon, J. J., Bever, J. D. (2007): Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. Trends in ecology & evolution, 22(3): 120–126.
- Tian, X. Y., Zhang, C. S. (2017): Illumina-Based Analysis of Endophytic and Rhizosphere Bacterial Diversity of the Coastal Halophyte *Messerschmidia sibirica*. Frontiers in microbiology, 8: 2288.
- Tiwari, S., Singh, P., Tiwari, R. et al. (2011): Salt-tolerant rhizobacteria-mediated induced tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) and chemical diversity in rhizosphere enhance plant growth. Biology and Fertility of Soils, 47: 907–916.
- Trivedi, P., Delgado-Baquerizo, M., Anderson, I.C., Singh, B.K. (2016): Response of Soil Properties and Microbial Communities to Agriculture: Implications for Primary Productivity and Soil Health Indicators. Frontiers in Plant Science, 7:990.
- Trivedi, P., Pandey, A. (2008): Recovery of plant growth-promoting rhizobacteria from sodium alginate beads after 3 years following storage at 4 °C. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 35(3): 205–209.
- Tsubokura, A., Yoneda, H., Mizuta, H. (1999): *Paracoccus carotinifaciens* sp. nov., a new aerobic gram-negative astaxantin-producing bacterium. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 49: 277-282.
- Tomašević, I., Tomović, V., Milovanović, B., Lorenzo, J., Đorđević, V., Karabasil, N., Djekić, I. (2019). Comparison of a computer vision system vs. traditional colorimeter for color evaluation of meat products with various physical properties. Meat Science, 148:5-12.
- Todorović, M., Zlatić, N., Bojović, B., Kanjevac, M. (2022): Biological properties of selected Amaranthaceae halophytic species: A review. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 58.
- Turner, T. R., James, E. K., Poole, P. S. (2013): The plant microbiome. Genome biology, 14(6), 209.
- Upadhyay, S. K., Singh, J. S., Singh, D. P. (2011): Exopolysaccharide plant growth promoting Rhizobacteria under salinity condition. Pedosphere, 21(2): 214–222.
- Valenzuela-Encinas, C., Neria-González, I., Alcántara-Hernández, R. J., Estrada-Alvarado, I., Zavala-Díaz de la Serna, F. J., Dendooven, L., Marsch, R. (2009): Changes in the bacterial populations of the highly alkaline saline soil of the former lake Texcoco (Mexico) following flooding. Extremophiles: life under extreme conditions, 13(4): 609–621.
- 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: 296-310.
- VanInsberghe, D., Hartmann, M., Stewart, G. R., Mohn, W. W. (2013): Isolation of a substantial proportion of forest soil bacterial communities detected via pyrotag sequencing. Applied and Environmental Microbiology, 79:2096- 2098.
- Vassilev, N., Vassileva, M., Martos, V., Garcia del Moral, L.F., Kowalska, J., Tylkowski, B., Malusá, E. (2020): Formulation of Microbial Inoculants by Encapsulation in Natural Polysaccharides: Focus on Beneficial Properties of Carrier Additives and Derivatives. Frontiers in Plant Sciences, 11:270.
- Vejan, P., Khadiran, T., Abdullah, R., Ismail, S., Dadrasnia, A. (2019): Encapsulation of plant growth promoting Rhizobacteria-prospects and potential in agricultural sector: a review. Journal of Plant Nutrition, 42(19): 2600–2623.

- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., Nasrulhaq, B. A. (2016): Role of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agricultural Sustainability-A Review. *Molecules*, 21:573.
- Venieraki, A., Tsalgatidou, P., Georgakopoulos, D., Dimou, M., Katinakis, P. (2016): Swarming motility in plant-associated bacteria. *Hellenic Plant Protection Journal*. 9.
- Ventosa, A., Mellado, E., Sánchez-Porro, C., Márquez, M.C. (2008): Halophilic and halotolerant micro-organisms from soils, In: Dion P, Nautiyal CS, (eds). *Microbiology of Extreme Soils*, Berlin (BE): Springer; pp. 87-115.
- Vesterlund, S., Salminen, K., Salminen, S. (2012): Water activity in dry foods containing live probiotic bacteria should be carefully considered: A case study with *Lactobacillus rhamnosus* GG in flaxseed. *International Journal of Food Microbiology*, 157(2): 319-321.
- Vujović, B. (2016): Bakteriofagi kao agensi u kontroli formiranja biofilмова *Pseudomonas aeruginosa*. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Vurukonda, S.S.K.P., Giovanardi, D., Stefani, E. (2018): Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19:952.
- Vreeland R. H. (1987): Mechanisms of halotolerance in microorganisms. *Critical reviews in microbiology*, 14(4): 311–356.
- Wang, K., Zhang, L., Yang, Y., Pan, Y., Meng, L., Liu, H., Hong, S., Huang, H., Jiang, J. (2015): *Halobacillus andaensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from saline and alkaline soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 65(6): 1908–1914.
- Wang, M., Chen, S., Chen, L., Wang, D., Zhao, C. (2019): The responses of a soil bacterial community under saline stress are associated with Cd availability in long-term wastewater-irrigated field soil. *Chemosphere*, 236: 124372.
- Wang, S., Sun, L., Ling, N., Zhu, C., Chi, F., Li, W., Hao, X., Zhang, W., Bian, J., Chen, L., Wei, D. (2020): Exploring Soil Factors Determining Composition and Structure of the Bacterial Communities in Saline-Alkali Soils of Songnen Plain. *Frontiers in Microbiology*, 10:2902.
- Wang, H., Narsing, Rao, MP, Gao, Y, Li, X, Gao, R, Xie, Y, Li, Q, Li, W. (2021): Insights into the endophytic bacterial community comparison and their potential role in the dimorphic seeds of halophyte *Suaeda glauca*. *BMC Microbiol*, 21:143.
- Wang, Q., He, D., Zhang, X., Cheng, Y., Sun, Y., Zhu, J. (2024a): Insight into bacterial and archaeal community structure of *Suaeda altissima* and *Suaeda dendroides* rhizosphere in response to different salinity level. *Microbiol Spectrum*, 12(1):e01649-23.
- Wang, H., Chun, L., Ji, L., Na, R., Wei, Z., & Han, W. (2024b): Investigating the Diversity and Influencing Factors of the Rhizosphere Bacterial Community Associated with *Salicornia europaea* L. Populations in Semi-arid Grassland. *Agriculture*, 14(7): 1018.
- Wei, W., Xing, K., Wang, K., Hu, X., Zhang, X., Yang, F., Yang, S., Cui, H., Liu, S., Zhu, L. (2021): *Pelagibacterium limicola* sp. nov., isolated from a soda alkali-saline soil. *Archives of microbiology*, 203(5): 2681–2687.
- Weon, H. Y., Kim, B. Y., Hong, S. B., Joa, J. H., Nam, S. S., Lee, K. H., Kwon, S. W. (2007): *Skermanella aerolata* sp. nov., isolated from air, and emended description of the genus *Skermanella*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 57(7): 1539–1542.

- Wissuwa, M., Ismail, A. M., Yanagihara, S. (2006): Effects of zinc deficiency on rice growth and genetic factors contributing to tolerance. *Plant physiology*, 142(2): 731–741.
- Wu, Z., Zhao, Y., Kaleem, I., Li, C. (2011): Preparation of calcium–alginate microcapsuled microbial fertilizer coating *Klebsiella oxytoca* Rs-5 and its performance under salinity stress. *European Journal of Soil Biology*, 47 152–159.
- Xavier, J., Costa, D., Gonçalves, J., Pinto, M., Goulart, R., Zonta, E., Coelho, I., (2024): Different halophytes orchestrate microbial diversity in the rhizosphere of salinity-impacted soils. *Applied Soil Ecology*, 202: 105588.
- Xu, X. W., Huo, Y. Y., Wang, C. S., Oren, A., Cui, H. L., Vedler, E., Wu, M. (2011): *Pelagibacterium halotolerans* gen. nov., sp. nov. and *Pelagibacterium luteolum* sp. nov., novel members of the family Hyphomicrobiaceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(8): 1817–1822.
- Xu, Y., Zhang, G., Ding, H. et al. (2020): Influence of salt stress on the rhizosphere soil bacterial community structure and growth performance of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *International Microbiology*, 23: 453–465.
- Yan, Y., Yang, J., Dou, Y., Chen, M., Ping, S., Peng, J., Lu, W., Zhang, W., Yao, Z., Li, H., et al. (2008): Nitrogen fixation island and rhizosphere competence traits in the genome of root-associated *Pseudomonas stutzeri* A1501. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(21): 7564–7569.
- Yan, N., Marschner, P., Cao, W., Zuo, C., Qin, W. (2015): Influence of salinity and water content on soil microorganisms. *International Soil and Water Conservation Research*, 3.
- Yang, Y., Wang, N., Guo, X., Zhang, Y., Ye, B. (2017): Comparative analysis of bacterial community structure in the rhizosphere of maize by high-throughput pyrosequencing. *PLoS ONE* 12 (5):e0178425.
- Yamamoto, K., Shiwa, Y., Ishige, T., Sakamoto, H., Tanaka, K., Uchino, M., Tanaka, N., Oguri, S., Saitoh, H., Tsushima, S. (2018): Bacterial diversity associated with the rhizosphere and endosphere of two halophytes: *Glaux maritima* and *Salicornia europaea*. *Frontiers in Microbiology*, 9:2878.
- Yamamoto, K., Matsutani, M., Shiwa, Y., Ishige, T., Sakamoto, H., Saitoh, H., and Tsushima, S. (2020): Comparative Analysis of Bacterial Diversity and Community Structure in the Rhizosphere and Root Endosphere of Two Halophytes, *Salicornia europaea* and *Glaux maritima*, Collected from Two Brackish Lakes in Japan. *Microbes and Environment*, 35: ME20072.
- Yasmin, R., Hussain, S., Rasool, M. H., Siddique, M. H., & Muzammil, S. (2021): Isolation, Characterization of Zn Solubilizing Bacterium (*Pseudomonas protegens* RY2) and its Contribution in Growth of Chickpea (*Cicer arietinum* L) as Deciphered by Improved Growth Parameters and Zn Content. Dose-response: a publication of International Hormesis Society, 19(3).
- Yang, S., Wen, X., Zhao, L., Shi, Y., Jin, H. (2014): Crude Oil Treatment Leads to Shift of Bacterial Communities in Soils from the Deep Active Layer and Upper Permafrost along the China-Russia Crude Oil Pipeline Route. *PLoS ONE* 9(5): e96552.
- Yang, H., Hu, J., Long, X. et al. (2016): Salinity altered root distribution and increased diversity of bacterial communities in the rhizosphere soil of Jerusalem artichoke. *Scientific Reports*, 6: 20687.
- Yuan, Z., Druzhinina, I.S., Labbé, J., Redman, R., Qin, Y., Rodriguez, R., Zhang, C., Tuskan, G.A., Lin, F. (2016): Specialized microbiome of a halophyte and its role in helping non-host plants to withstand salinity. *Science Reports*, 6:32467.

- Youseif, S. H., Abd El-Megeed, F. H., Humm, E. A., Maymon, M., Mohamed, A. H., Saleh, S. A., Hirsch, A. M. (2021): Comparative Analysis of the Cultured and Total Bacterial Community in the Wheat Rhizosphere Microbiome Using Culture-Dependent and Culture-Independent Approaches. *Microbiology spectrum*, 9(2): e0067821.
- Zaib, S., Zubair, A., Abbas, S., Hussain, J., Ahmad, I., Shakeel, S. N. (2023): Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) Reduce Adverse Effects of Salinity and Drought Stresses by Regulating Nutritional Profile of Barley. *Applied and Environmental Soil Science*, 2023: 7261784.
- Zamanzadeh-Nasrabadi, S. M., Mohammadiapanah, F., Hosseini-Mazinani, M., Sarikhan, S. (2023): Salinity stress endurance of the plants with the aid of bacterial genes. *Frontiers in genetics*, 14: 1049608.
- Zeremski, T., Tomic, N., Milic, S., Vasin, J., Schaetzl, R.J., Milic, D., Gavrilov, M.B., Živanov, M., Ninkov, J., Markovic, S.B. (2021): Saline Soils: A Potentially Significant Geoheritage of the Vojvodina Region, Northern Serbia. *Sustainability*, 13:7891.
- Zhang, W.W., Wang, Ch., Xue, R., Wang, L. (2019): Effects of salinity on the soil microbial community and soil fertility, *Journal of Integrative Agriculture*, 18 (6): 1360-1368.
- Zhang, W., Zheng, L., Lang, D., Zhang, X., Ma, X., Li, X., Zhang, X. (2023): Eco-friendly bio-encapsulation from sodium alginate-trehalose-kaolin and its performance evaluation in improving plant growth under salt or/and drought conditions. *International journal of biological macromolecules*, 225: 123–134.
- Zhang, G., Bai, J., Zhai, Y., Jia, J., Zhao, Q., Wang, W., Hu, X. (2024): Microbial diversity and functions in saline soils: A review from a biogeochemical perspective, *Journal of Advanced Research*, 59: 129-140.
- Zhakupbekov, K., Turgumbayeva, A., Issayeva, R., Kipchakbayeva, A., Kadyrbayeva, G., Tleubayeva, M., Akhayeva, T., Tastambek, K., Sainova, G., Serikbayeva, E. et al. (2023): Antimicrobial and Other Biomedical Properties of Extracts from *Plantago major*, *Plantaginaceae*. *Pharmaceuticals* 16, 1092.
- Zhao, S., Zhou, N., Zhao, Z.Y., Zhang, K., Wu, G.H., Tian, C.Y. (2016): Isolation of Endophytic Plant Growth-Promoting Bacteria Associated with the Halophyte *Salicornia europaea* and Evaluation of their Promoting Activity Under Salt Stress. *Current Microbiology*, 73(4):574-81.
- Zhao, Y., Li, T., Shao, P., Sun, J., Xu, W., Zhang, Z. (2022): Variation in Bacterial Community Structure in Rhizosphere and Bulk Soils of Different Halophytes in the Yellow River Delta. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9:816918.
- Zhao, Y., Sun, T., Li, Y., Yang, Z., Chen, J., Wang, J., Yu, X., Tang, X., Xiao, H. (2024): The host sex contributes to the endophytic bacterial community in *Sargassum thunbergii* and their receptacles. *Frontiers in microbiology*, 15, 1334918.
- Zhang, Ch., Kong, F. (2014): Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants, *Applied Soil Ecology*, 82: 18-25.
- Zhou, Y., Wei, Y., Ryder, M., Li, H., Zhao, Z., Toh, R., Yang, P., Li, J., Yang, H., Matthew D. D. (2023): Soil salinity determines the assembly of endophytic bacterial communities in the roots but not leaves of halophytes in a river delta ecosystem, *Geoderma*, 433: 116447.
- Zhou, N., Zhao, Sh., Tian, C.Y. (2017): Effect of halotolerant rhizobacteria isolated from halophytes on the growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under salt stress. *FEMS Microbiology Letters*, 364: 11.

Zhu, F., Qu, L., Hong, X., Sun, X. (2011): Isolation and Characterization of a Phosphate-Solubilizing Halophilic Bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao Saltern on the Coast of Sea of China. Evidence-based complementary and alternative medicine, 615032.

Zhu, S., Zhao, Q., Zhang, G., Jiang, Z., Sheng, H., Feng, H., An, L. (2013): *Paracoccus tibetensis* sp. nov., isolated from Qinghai-Tibet Plateau permafrost. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 63(5): 1902–1905.

Zhu, Q., Zhou, J., Sun, M., Li, H., Han, Y., Lv, J., Li, Y., Zhang, X., George, T.S., Liu, W., Wang, Z., Sun, Y. (2023): A newly isolated *Bacillus megaterium* OQ560352 promotes maize growth in saline soils by altering rhizosphere microbial communities and organic phosphorus utilization, Rhizosphere, 27.

Zlatković, I. (2021): Ekološke i fitocenološke karakteristike kontinentalnih slatina centralne i južne Srbije. Doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Niš, Srbija.

9. Prilozi

9.1. Prilog 1. Analiza i diverzitet mikrobioma

Tabela P1. Relativna zastupljenost bakterijskih razdeli i klasa prisutnih u najmanje jednom zemljišnom mikrobiomu. Najzastupljeniji razdeli i klase (>1%) u mikrobiomu su istaknuti; (/) - retki (<0.1%) ili nedetektovani taksoni; (NA)- neidentifikovane klase.

Razdeo	Klasa	Z1	Z2	Z3
Acidobacteria		10.71	6.90	16.02
	Acidobacteria	9.71	3.20	13.41
	Holophagae	1.00	3.20	2.60
	NA	/	0.50	/
Actinobacteria		45.65	36.10	40.14
	Acidimicrobiia	7.71	13.20	3.30
	Actinobacteria	14.51	8.70	21.32
	NA	3.50	0.40	0.80
	Nitriliruptoria	0.80	11.00	0.10
	Rubrobacteria	2.30	0.70	1.50
	Thermoleophilia	16.92	2.10	13.11
Armatimonadetes		/	/	0.20
	NA	/	/	0.20
Bacteroidetes		3.20	5.70	2.00
	Bacteroidia	/	0.30	/
	Cytophagia	1.50	4.60	0.70
	Flavobacteriia	0.40	0.30	/
	Sphingobacteriia	1.30	0.40	1.30
Chlamydiae		0.30	0.10	/
	Chlamydiae	0.30	0.10	/
Chlorobi		/	0.20	/
	Ignavibacteria	/	0.20	/
Chloroflexi		7.21	8.80	6.51
	Anaerolineae	0.10	2.70	0.70
	Ardenticatenia	/	0.60	/
	Caldilineae	0.30	0.50	0.50
	Chloroflexia	/	0.40	0.60
	Ktedonobacteria	/	/	0.30
	NA	4.60	2.90	3.40
	Thermomicrobia	2.10	1.90	1.00
Cyanobacteria		1.80	1.20	0.30
	Cyanobacteria	1.80	1.20	0.30
Firmicutes		2.20	4.70	3.30
	Bacilli	1.80	2.60	2.20
	Clostridia	0.40	2.00	1.00
	NA	/	0.10	0.10
Gemmatimonadetes		1.40	7.90	2.70
	Gemmatimonadetes	1.40	7.90	2.70
Hydrogenedentes		/	0.10	/

	NA	/	0.10	/
NA		0.10	0.30	0.10
	NA	0.10	0.30	0.10
Nitrospirae		0.60	0.10	0.10
	Nitrospira	0.60	0.10	0.10
Planctomycetes		1.70	1.90	2.70
	Phycisphaerae	0.30	0.30	0.50
	Planctomycetacia	1.40	1.60	2.20
Proteobacteria		21.62	19.50	22.32
	Alphaproteobacteria	15.22	11.00	15.92
	Betaproteobacteria	1.90	1.10	3.00
	Deltaproteobacteria	2.20	3.60	2.30
	Gammaproteobacteria	2.40	3.70	1.00
Saccharibacteria		0.20	1.40	0.40
	NA	0.20	1.40	0.40
Verrucomicrobia		0.80	0.70	1.40
	NA	0.20	0.20	0.60
	Opitutae	0.10	/	/
	Spartobacteria	0.50	0.20	0.80
	Verrucomicrobiae	/	0.30	/

Tabela P2: Relativna zastupljenost bakterijskih redova prisutnih u najmanje jednom zemljišnom mikrobiomu. (/) retki (<0.1%) ili nedetektovani redovi. (NA)-neidentifikovani redovi dopunjeni su nazivom prve više identifikovane taksonomske kategorije. Najzastupljeniji redovi (>1%) su istaknuti.

Red	Z1	Z2	Z3				
Acidobacteriales	/	/	0.30	Sphaerobacterales	/	0.70	/
NA (Acidobacteria)	9.71	3.20	13.11	NA (Cyanobacteria;)	1.80	1.20	0.30
NA (Holophagae)	1.00	3.20	2.60	Bacillales	1.80	2.60	2.20
NA (Acidobacteria)	/	0.50	/	Clostridiales	0.40	2.00	1.00
Acidimicrobiales	7.71	13.20	3.30	NA (Firmicutes)	/	0.10	0.10
Corynebacteriales	0.60	0.20	1.40	Gemmatimonadales	0.80	0.80	2.40
Frankiales	1.20	0.80	3.60	NA (Gemmatimonadetes)	0.60	7.10	0.40
Kineosporiales	0.30	0.10	0.80	NA (Bacteria)	0.10	0.30	0.10
Micrococcales	3.70	3.60	2.30	Nitrospirales	0.60	0.10	0.10
Micromonosporales	1.20	0.60	2.90	NA (Phycisphaerae)	0.30	0.20	0.50
NA (Actinobacteria)	/	0.10	0.80	Phycisphaerales	/	0.10	/
Propionibacteriales	4.50	2.00	4.10	Planctomycetales	1.40	1.60	2.20
Pseudonocardiales	1.70	0.50	3.20	Caulobacterales	0.30	/	0.40
Streptomycetales	1.10	0.80	1.40	Rhizobiales	8.61	4.00	6.81
Streptosporangiales	0.20	0.10	1.00	Rhodobacterales	0.70	2.30	0.10
NA (Actinobacteria)	3.50	0.40	0.80	Rhodospirillales	3.00	3.30	2.90
Euzebyales	0.60	3.90	0.10	Rickettsiales	/	0.20	/
Nitriliruptorales	0.20	7.20	/	Sphingomonadales	2.60	1.10	5.71
Rubrobacterales	2.30	0.70	1.50	Burkholderiales	1.20	0.60	1.90
Gaiellales	9.31	0.60	2.40	NA (Betaproteobacteria)	0.40	0.10	0.60
NA (Thermoleophilia)	0.10	0.10	/	Nitrosomonadales	0.30	/	0.50
Solirubrobacterales	7.51	1.40	10.71	Rhodocyclales	/	0.40	0.10
NA (Armatimonadetes;)	/	/	0.10	Desulfobacterales	0.20	0.10	/
Cytophagales	1.50	3.40	0.70	Desulfuromonadales	/	0.80	0.30
NA (Cytophagia)	/	1.20	/	Myxococcales	1.30	2.30	1.80
Flavobacteriales	0.40	0.30	/	NA (Deltaproteobacteria;)	0.40	0.20	0.20
NA (Bacteroidetes;)	/	0.10	/	Oligoflexales	0.20	0.30	/
Sphingobacteriales	1.30	0.40	1.30	Syntrophobacteriales	0.10	/	/
Chlamydiales	0.30	0.10	/	Chromatiales	0.10	0.10	/
Ignavibacteriales	/	0.20	/	Enterobacteriales	0.10	/	/
Anaerolineales	0.10	2.70	0.70	Legionellales	0.20	0.20	0.20
Ardenticatenales	/	0.20	/	NA (Gammaproteobacteria)	0.10	0.30	/
NA (Ardenticatenia)	/	0.40	/	Oceanospirillales	/	0.50	/
Caldilineales	0.30	0.50	0.50	Pseudomonadales	0.20	0.20	/
Chloroflexales	/	0.40	0.50	Xanthomonadales	1.70	2.50	0.80
Herpetosiphonales	/	/	/	NA (Saccharibacteria;)	0.20	1.40	0.40
Kallotenuales (Chloroflexia)	/	/	0.10	NA (Verrucomicrobia)	0.20	0.20	0.60
NA (Ktedonobacteria)	/	/	0.30	Opitutales	0.10	/	/
NA (Chloroflexi;)	4.60	2.90	3.40	Chthoniobacteriales	0.50	0.20	0.80
NA(Thermomicrobia)	2.10	1.10	1.00	Verrucomicrobiales	/	0.30	/

Tabela P3: Relativna zastupljenost bakterijskih familija prisutnih u bar jednom zemljišnom mikrobiomu. (/) retke (<0.1%) ili nedetektovane familije. (NA)-neidentifikovane familije. Najzastupljenije familije (>1%) su istaknute.

Familija	Z1	Z2	Z3			
NA (Acidobacteriales)	/	/	0.30	Roseiflexaceae	/	0.50
NA (Acidobacteria)	9.71	3.20	13.11	NA (Kallotenuales)	/	0.10
NA (Holophagae)	1.00	3.20	2.60	NA (Ktedonobacteria)	/	0.30
NA (Acidobacteria)	/	0.50	/	NA (Chloroflexi)	4.60	2.90
Acidimicrobiaceae	3.20	2.00	1.50	NA (Thermomicrobia)	2.10	1.10
Iamiaceae	0.70	0.60	0.10	Sphaerobacteraceae	/	0.70
NA (Acidimicrobiales)	3.80	10.50	1.70	Family I	1.80	1.20
Dietziaceae	/	0.10	/	Alicyclobacillaceae	0.20	0.10
Mycobacteriaceae	0.50	0.10	1.40	Bacillaceae	1.40	2.30
Nocardiaceae	0.10	0.10	/	Paenibacillaceae	/	0.10
Acidothermaceae	/	/	0.20	Planococcaceae	0.20	0.10
Frankiaceae	0.20	/	0.90	Clostridiaceae	0.20	0.10
Geodermatophilaceae	0.70	0.30	1.80	Family XI	/	0.10
NA (Frankiales)	/	0.50	/	Gracilbacteraceae	/	0.30
Nakamurellaceae	0.20	/	0.20	Lachnospiraceae	/	0.30
Sporichthyaceae	0.10	/	0.40	NA (Clostridiales)	/	0.30
Kineosporiaceae	0.30	0.10	0.80	Peptococcaceae	/	0.30
Bogoriellaceae	/	0.10	/	Peptostreptococcaceae	/	0.10
Cellulomonadaceae	0.50	0.80	0.30	Ruminococcaceae	0.20	0.40
Intrasporangiaceae	0.90	1.60	0.60	Syntrophomonadaceae	/	0.10
Microbacteriaceae	1.40	0.30	0.50	NA (Firmicutes)	/	0.10
Micrococcaceae	0.80	0.80	0.80	Gemmatimonadaceae	0.80	0.80
Sanguibacteraceae	0.20	/	/	NA (Gemmatimonadetes)	0.60	7.10
Micromonosporaceae	1.20	0.60	2.90	NA (Hydrogenedentes)	/	0.10
NA (Actinobacteria)	/	0.10	0.80	NA (Bacteria)	0.10	0.30
Nocardioidaceae	3.00	1.40	3.70	NA (Nitrospirales)	0.30	/
Propionibacteriaceae	1.60	0.50	0.30	Nitrospiraceae	0.30	0.10
Pseudonocardiaceae	1.70	0.50	3.20	NA (Phycisphaerae)	0.30	0.20
Streptomycetaceae	1.10	0.80	1.40	Phycisphaeraceae	/	0.10
Streptosporangiaceae	0.10	0.10	0.40	Planctomycetaceae	1.40	1.60
Thermomonosporaceae	0.10	/	0.60	Caulobacteraceae	0.30	0.40
NA (Actinobacteria)	3.50	0.40	0.80	Aurantimonadaceae	0.70	0.10
Euzebyaceae	0.60	3.90	0.10	Bradyrhizobiaceae	1.00	0.60
Nitriliruptoraceae	0.20	7.20	/	Hyphomicrobiaceae	0.90	0.40
Rubrobacteriaceae	2.30	0.70	1.50	Methylobacteriaceae	1.50	0.30
Gaiellaceae	3.30	0.20	0.90	Methylocystaceae	0.20	0.10
NA (Gaiellales)	6.01	0.40	1.50	NA (Rhizobiales)	0.90	0.80
NA (Thermoleophilia)	0.10	0.10	/	Phyllobacteriaceae	0.30	0.50
Conexibacteraceae	/	/	0.20	Rhizobiaceae	0.50	0.10
NA (Solirubrobacterales)	5.81	1.40	6.11	Rhodobiaceae	1.50	1.00
Patulibacteraceae	/	/	0.80	Xanthobacteraceae	1.20	/
Solirubrobacteraceae	1.60	/	3.60	Rhodobacteraceae	0.70	2.30
NA Armatimonadetes()	/	/	0.10	Acetobacteraceae	0.40	0.20
Prolixibacteraceae	/	0.10	/	NA (Rhodospirillales)	1.70	1.70
Draconibacteriaceae	/	0.10	/	Rhodospirillaceae	1.00	1.40
Cyclobacteriaceae	/	0.30	/	NA (Rickettsiales)	/	0.20
Cytophagaceae	1.50	1.30	0.70	Erythrobacteraceae	0.30	0.70
Flammeovirgaceae		1.30	/	NA (Sphingomonadales)	1.30	/
NA (Cytophagales)	/	0.50	/	Sphingomonadaceae	0.90	0.50
NA (Cytophagia)	/	0.60	/	Alcaligenaceae	0.20	0.10
Rhodothermaceae	/	0.60	/	Burkholderiaceae	/	/
Flavobacteriaceae	0.40	0.20	/	Comamonadaceae	0.90	0.50
NA (Flavobacteriales)	/	0.20	/	Oxalobacteraceae	/	/
NA (Bacteroidetes)	/	0.10	/	NA (Betaproteobacteria)	0.40	0.10
/Chitinophagaceae	0.70	0.30	1.00	Nitrosomonadaceae	0.30	/
NA (Sphingobacteriales)	/	/	0.20	Rhodocyclaceae	/	0.40
Saprospiraceae	0.10	0.10	0.10	Nitrospinaceae	0.20	/
Sphingobacteriaceae	0.40	/	/	Desulfuromonadaceae	/	0.70
NA (Chlamydiales)	/	0.10	/	Geobacteraceae	/	/
Parachlamydiaceae	0.30	/	/	Cystobacteraceae	/	0.40
Ignavibacteriaceae	/	0.10	/	Haliangiaceae	0.60	0.70
NA (Ignavibacteriales)	/	0.10	/	Myxococcaceae	/	/
Anaerolineaceae	0.10	2.70	0.70	NA (Myxococcales)	0.20	0.40
NA (Ardeanticalenales)	/	0.20	/	Nannocystaceae	/	0.10
NA (Ardeanticalenia)	/	0.40	/	Polyangiaceae	0.20	0.20
Caldilineaceae	0.30	0.50	0.50	Sandaracinaceae	0.30	0.40
Chloroflexaceae	/	0.40	/	NA (Deltaproteobacteria)	0.40	0.20
				NA (Oligoflexales)	0.20	0.10

Oligoflexaceae	/	0.20	/
Syntrophaceae	0.10	/	/
Ectothiorhodospiraceae	0.10	0.10	/
Enterobacteriaceae	0.10	/	/
Coxiellaceae	/	/	0.10
Legionellaceae	0.20	0.20	0.10
Methylococcaceae	/	/	/
NA (Gammaproteobacteria)	0.10	0.30	/
Halomonadaceae	/	0.30	/
NA (Oceanospirillales)	/	0.10	/
Oceanospirillaceae	/	0.10	/
Pseudomonadaceae	0.20	0.20	/
NA (Xanthomonadales)	1.20	1.40	0.70
Xanthomonadaceae	0.50	1.00	0.10
NA (Saccharibacteria)	0.20	1.40	0.40
NA (Verrucomicrobia)	0.20	0.20	0.60
Opitutaceae	0.10	/	/
Chthoniobacteraceae	0.20	/	0.10
NA (Chthoniobacterales)	0.20	0.20	0.70
Xiphinematobacteraceae	0.10	/	/
NA (Verrucomicrobiales)	/	0.10	/
Verrucomicrobiaceae	/	0.20	/

Tabela P4: Lista OTU visokog stepena sličnosti sa sekvencama u bazi koje odgovaraju novou vrste relativne zastupljenosti >1% u bar jednom zemljišnom mikrobiomu. (/) retke (<0.1%) ili nedetektovane OTU.

OTU	Z1	Z2	Z3
k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Acidobacteria;o__NA;f__NA;g__Blastocatella;s__sp3047	0.20	/	1.10
k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Acidobacteria;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp2955	/	/	2.80
k__Bacteria;p__Acidobacteria;c__Holophagae;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp4001	/	/	1.10
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__Acidimicrobiaceae;g__Illumatobacter;s__sp4235	0.60	1.10	0.40
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__Acidimicrobiaceae;g__NA;s__sp4252	1.30	/	0.40
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__NA;g__NA;s__sp4350-sp4352	/	1.40	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__NA;g__NA;s__sp4352-sp4379	0.40	2.00	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Acidimicrobiia;o__Acidimicrobiales;f__NA;g__NA;s__sp4365	0.10	1.40	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Frankiales;f__Geodermatophilaceae;g__Blastococcus;s__sp6057	/	/	1.10
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Propionibacteriales;f__Propionibacteriaceae;g__Microlunatus;s__sp7741	1.00	/	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Actinobacteria;o__Streptomycetales;f__Streptomycetaceae;g__Streptomyces;s__NA	0.80	0.40	1.40
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__NA;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp10606	1.50	/	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Nitriliruptoria;o__Nitriliruptorales;f__Nitriliruptoraceae;g__Nitriliruptor;s__alkaliphilus	/	1.50	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Nitriliruptoria;o__Nitriliruptorales;f__Nitriliruptoraceae;g__Nitriliruptor;s__sp10652	0.20	1.10	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Rubrobacteria;o__Rubrobacteriales;f__Rubrobacteriaceae;g__Rubrobacter;s__sp10748	0.60	/	1.00
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Thermoleophilia;o__Gaiellales;f__NA;g__NA;s__sp10909	1.10	/	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Thermoleophilia;o__Gaiellales;f__NA;g__NA;s__sp10950	2.30	/	/
k__Bacteria;p__Actinobacteria;c__Thermoleophilia;o__Solirubrobacteriales;f__NA;g__NA;s__sp11028-sp11029	/	/	1.10
k__Bacteria;p__Chloroflexi;c__NA;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp21490	1.50	0.10	0.60
k__Bacteria;p__Chloroflexi;c__Thermomicrobia;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp21845	1.00	/	0.70
k__Bacteria;p__Gemmatimonadetes;c__Gemmatimonadetes;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp37618	/	2.30	/
k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Rhizobiales;f__Bradyrhizobiaceae;g__Afipia-Bradyrhizobium;s__NA	0.70	/	1.10
k__Bacteria;p__Proteobacteria;c__Alphaproteobacteria;o__Sphingomonadales;f__NA;g__NA;s__sp47567	/	/	1.90

Tabela P5: Relativna zastupljenost bakterijskih razdelov i klasa prisutnih u najmanje jednom rizosfernom mikrobiomu. Najzastupljenije klase (>1%) u mikrobiomu su istaknute; (/) - retke (<0.1%) ili nedetektovane klase; (NA) - neidentifikovane klase.

Razdeo	Klasa	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwaryenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
Acidobacteria		13.15	12.51	12.75	10.51	6.61	1.80	0.90	4.60
	Acidobacteria	11.85	10.91	11.11	9.71	6.11	1.40	0.70	3.90
	Holophagae	1.20	1.50	1.60	0.80	0.60	0.40	0.20	0.70
	NA	0.10	/	/	0.10	/	/	/	/
	Acidimicrobiia	2.41	6.11	2.20	6.41	1.50	7.41	6.11	11.41
Actinobacteria		24.70	31.93	32.63	41.14	39.34	21.42	26.93	38.94
	Actinobacteria	14.16	11.91	21.42	14.01	25.23	4.50	4.50	16.22
	Coriobacteriia	/	/	/	/	/	/	0.20	/
	NA	1.00	1.70	0.60	3.20	0.10	0.50	0.10	0.20
	Nitriliruptoria	0.60	0.80	0.30	/	/	8.21	15.52	8.11
	Rubrobacteria	2.71	3.70	1.80	1.20	0.40	/	/	1.00
	Thermoleophilia	3.71	7.81	6.11	16.42	12.21	0.70	0.60	2.10
Armatimonadetes		0.10	0.50			0.10			
	NA	0.10	0.50	/	/	/	/	/	/
Bacteroidetes		4.52	3.00	3.11	2.10	3.80	6.51	5.01	4.60
	Bacteroidia	/	/	/	/	/	/	0.20	/
	Cytophagia	1.71	1.40	1.30	0.80	0.50	4.80	3.30	3.40
	Flavobacteriia	0.20	0.30	0.30	0.20	0.10	1.20	1.20	0.90
	NA	/	/	/	/	/	/	0.10	/
	Sphingobacteriia	2.61	1.30	1.50	1.10	3.20	0.50	0.20	0.40
Chlamydiae		0.10	0.30	0.20	0.10	0.10	0.10		
	Chlamydiae	0.10	0.30	0.20	0.10	0.10	0.10	/	/
Chlorobi			0.10			0.10	0.10		
	Chlorobia	/	0.10	/	/	0.10	/	/	/
	Ignavibacteria	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Chloroflexi		5.52	6.71	6.63	6.51	4.10	5.11	7.61	6.51
	Anaerolineae	0.50	0.60	0.80	0.20	0.10	1.00	3.00	1.80
	Ardenticatenia	0.10	/	/	/	/	0.40	0.60	0.60
	Caldilineae	0.50	0.40	0.30	0.10	0.20	0.60	1.10	0.70
	Chloroflexia	0.10	0.30	0.80	0.10	0.10	/	0.20	/
	Ktedonobacteria	/	/	0.10	/	0.20	/	/	/
	NA	2.11	3.40	3.80	4.40	1.80	2.30	1.20	1.60
	Thermomicrobia	2.21	1.90	0.80	1.70	1.60	0.80	1.50	1.70
Cyanobacteria		0.50	0.10	0.40	0.10	0.10	0.70	1.30	0.20
	Cyanobacteria	0.10	/	/	/	/	0.60	1.20	0.10
Deinococcus-Thermus							0.50	0.50	0.10

	Deinococci	/	/	/	/	/	0.50	0.50	0.10
Fibrobacteres		0.10	0.10		0.10	0.20		0.10	
	Fibrobacteria	0.10	0.10	/	0.10	0.20	/	0.10	/
Firmicutes		10.34	3.40	6.93	3.30	12.81	9.41	6.41	4.80
	Bacilli	9.54	3.20	5.41	3.10	12.01	5.11	3.50	2.80
	Clostridia	0.50	0.20	1.40	0.10	0.70	4.30	2.80	1.70
	Erysipelotrichia	/	0.10	/	/	/	/	/	/
	NA	0.20	/	0.10	/	0.10	/	0.20	0.20
	Negativicutes	/	/	/	/	0.10	/	/	/
Gemmatimonadetes		3.92	2.90	2.01	0.90	3.20	4.40	4.20	5.61
	Gemmatimonadetes	3.92	2.90	2.00	0.90	3.20	4.40	4.20	5.61
Hydrogenedentes		0.10	0.10	0.10		0.10			0.10
	NA	0.10	0.10	0.10	/	0.10	/	/	0.10
Latescibacteria					0.10				
	NA	/	/	/	0.10	/	/	/	/
NA			0.20		0.20				
	NA	/	0.20	/	0.20	/	/	/	/
Nitrospirae		0.30	0.50	0.10	0.70	0.10	0.10	0.10	0.20
	Nitrospira	0.30	0.50	0.10	0.70	0.10	0.10	0.10	0.20
Parcubacteria							0.10		
	NA	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Planctomycetes		4.32	4.00	2.31	2.70	3.00	1.80	1.30	1.20
	NA	/	0.20	/	0.20	/	0.10	/	/
	Phycisphaerae	0.60	0.80	0.20	0.50	0.40	0.30	0.20	0.20
	Planctomycetacia	3.61	3.00	2.00	2.10	2.60	1.50	1.20	1.10
Proteobacteria		29.22	29.13	30.32	27.93	22.82	44.04	39.24	29.63
	Alphaproteobacteria	18.47	17.62	16.92	14.61	14.81	17.62	15.82	17.32
	Betaproteobacteria	3.21	2.60	2.90	3.30	3.40	3.00	10.41	1.20
	Deltaproteobacteria	3.21	3.70	2.00	3.80	2.10	3.30	5.01	2.10
	Gammaproteobacteria	4.32	5.11	8.41	6.11	2.50	20.12	8.01	9.01
Saccharibacteria		0.20	0.20	0.40	0.10	0.40	0.40	0.10	0.40
	NA	0.20	0.20	0.40	0.10	0.40	0.40	0.10	0.40
Tenericutes								0.10	
	Mollicutes	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Verrucomicrobia		1.71	2.50	1.20	1.50	2.70	1.10	0.60	0.80
	NA	0.60	0.60	0.40	0.60	0.40	0.10	0.10	0.20
	Opitutae	0.30	0.20	0.40	/	0.30	0.30	0.30	0.10
	Spartobacteria	0.80	1.20	0.40	0.70	1.90	/	/	0.10
	Verrucomicrobiae	/	0.40	0.10	0.20	0.10	0.60	0.20	0.50

Tabela P6: Relativna zastupljenost bakterijskih **redova** prisutnih u najmanje jednom rizosfernom mikrobiomu. (/) retki (<0.1%) ili nedetektovani redovi. (NA)-neidentifikovani redovi dopunjeni su nazivom prve više identifikovane taksonomske kategorije. Najzastupljeniji redovi (>1%) su istaknuti.

Red	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwaryenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
Acidobacteriales	/	/	0.10	/	0.60	/	/	/
NA (Acidobacteria)	11.85	10.91	11.11	9.71	5.51	1.40	0.70	3.90
NA (Holophagae)	1.20	1.50	1.60	0.80	0.60	0.40	0.20	0.70
NA (Acidobacteria)	0.10	/	/	0.10	/	/	/	/
Acidimicrobiales	2.41	6.11	2.20	6.41	1.50	7.41	6.11	11.41
Corynebacteriales	1.00	0.60	0.80	0.70	1.00	0.10	0.10	0.20
Frankiales	1.10	0.90	1.00	1.20	2.70	0.10	0.10	0.20
Glycomycetales	/	/	/	/	/	0.10	/	0.20
Kineosporiales	0.30	0.20	0.40	0.10	0.40	/	0.20	0.10
Micrococcales	3.71	2.70	8.51	3.70	4.30	1.70	2.90	7.11
Micromonosporales	1.10	1.00	1.10	0.60	0.60	0.20	0.30	0.60
NA (Actinobacteria)	/	/	0.40	/	0.10	/	/	/
Propionibacteriales	3.92	3.70	5.61	4.80	6.21	1.90	0.70	6.21
Pseudonocardiales	1.41	1.50	1.60	1.00	4.10	0.10	/	0.30
Streptomycetales	1.51	1.20	1.90	1.90	5.31	0.40	0.20	1.30
Streptosporangiales	0.10	0.10	0.10	0.10	0.50	/	/	0.20
Coriobacteriales	/	/	/	/	/	/	0.20	/
NA (Actinobacteria)	1.00	1.70	0.60	3.20	0.10	0.50	0.10	0.20
Euzebyales	0.60	0.50	0.30	/	/	2.10	2.90	4.10
Nitriliruptorales	/	0.20	/	/	/	6.11	12.61	3.90
Rubrobacteriales	2.71	3.70	1.80	1.20	0.40	/	/	1.00
Gaiellales	1.10	2.20	1.50	9.21	2.70	0.10	0.10	0.20
NA (Thermoleophilia)	/	0.10	/	0.10	/	/	/	/
Solirubrobacteriales	2.61	5.51	4.60	7.11	9.51	0.50	0.40	1.80
NA (Armatimonadetes)	0.10	0.50	/	/	/	/	/	/
Bacteroidales	/	/	/	/	/	/	0.10	/
NA (Bacteroidia)	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Cytophagales	1.71	1.30	1.30	0.80	0.50	3.20	2.70	2.80
NA(Cytophagia)	/	0.10	/	/	/	1.50	0.70	0.60
Flavobacteriales	0.20	0.30	0.30	0.20	0.10	1.20	1.20	0.90
NA (Bacteroidetes)	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Sphingobacteriales	2.61	1.30	1.50	1.10	3.20	0.50	0.20	0.40
Chlamydiales	0.10	0.30	0.20	0.10	0.10	0.10	/	/
Chlorobiales	/	0.10	/	/	0.10	/	/	/
Ignavibacteriales	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Anaerolineales	0.50	0.60	0.80	0.20	0.10	1.00	3.00	1.80
NA (Ardenticatenia)	0.10	/	/	/	/	0.40	0.60	0.60

Caldilineales	0.50	0.40	0.30	0.10	0.20	0.60	1.10	0.70
Chloroflexales	0.10	0.20	0.70	0.10	0.10	/	0.20	/
Kallotenuales	/	0.10	/	/	/	/	/	/
NA (Ktedonobacteria)	/	/	0.10	/	0.20	/	/	/
NA (Chloroflexi)	2.11	3.40	3.80	4.40	1.80	2.30	1.20	1.60
NA (Thermomicrobia)	2.21	1.90	0.80	1.70	1.50	0.20	0.20	1.60
Sphaerobacterales	/	/	/	/	0.10	0.70	1.20	0.10
NA (Cyanobacteria)	0.10	/	/	/	/	0.60	1.10	0.10
Deinococcales	/	/	/	/	/	0.50	0.50	0.10
Fibrobacterales	0.10	0.10	/	0.10	0.20	/	0.10	/
Bacillales	9.54	3.20	5.41	3.10	12.01	5.11	3.50	2.80
Clostridiales	0.50	0.20	1.40	0.10	0.70	4.30	2.70	1.70
Halanaerobiales	/	/	0.10	/	/	/	0.10	/
Erysipelotrichales	/	0.10	/	/	/	/	/	/
NA (Firmicutes)	0.20	/	0.10	/	0.10	/	0.20	0.20
Selenomonadales	/	/	/	/	0.10	/	/	/
Gemmatimonadales	1.61	1.60	1.40	0.70	2.60	/	/	0.60
NA (Gemmatimonadetes)	2.21	1.30	0.60	0.20	0.60	4.40	4.20	5.01
NA (Hydrogenedentes)	0.10	0.10	0.10	/	0.10	/	/	0.10
NA (Latescibacteria)	/	/	/	0.10	/	/	/	/
NA (Bacteria)	/	0.20	/	0.20	/	/	/	/
Nitrospirales	0.30	0.50	0.10	0.70	0.10	0.10	0.10	0.20
NA (Parcubacteria)	/	/	/	/	/	0.10	/	/
NA (Planctomycetes)	/	0.20	/	0.20	/	0.10	/	/
NA (Phycisphaerae)	0.60	0.80	0.20	0.40	0.40	0.10	/	0.10
Phycisphaerales	/	0.10	/	/	/	0.20	0.20	/
Planctomycetales	3.61	3.00	2.00	2.10	2.60	1.50	1.20	1.10
Caulobacterales	0.50	0.30	0.30	0.50	0.40	0.40	0.10	0.10
NA (Alphaproteobacteria)	/	/	/	/	/	/	/	0.10
Rhizobiales	5.32	7.51	7.91	10.11	6.81	9.71	7.81	5.01
Rhodobacterales	0.70	0.70	0.30	0.30	0.10	2.50	3.50	4.10
Rhodospirillales	6.43	5.41	3.20	1.80	2.00	2.10	3.40	4.70
Rickettsiales	/	/	/	/	/	0.20	0.10	0.30
Sphingomonadales	5.42	3.60	5.31	1.80	5.51	2.80	1.00	3.10
Burkholderiales	1.71	1.10	2.10	1.40	2.10	0.40	1.20	0.50
Methylophilales	0.10	/	0.10	/	/	/	0.10	/
NA (Betaproteobacteria)	0.70	1.00	0.30	1.10	0.90	/	/	0.20
Nitrosomonadales	0.50	0.40	0.40	0.60	0.10	/	/	/
Rhodocyclales	0.20	/	/	0.20	0.20	2.60	9.11	0.50
Bdellovibrionales	/	0.10	/	0.10	/	0.30	0.40	/
Desulfobacterales	0.30	0.70	/	0.20	/	0.40	1.20	0.40
Desulfovibrionales	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Desulfurellales	0.20	0.20	/	0.10	/	/	/	/
Desulfuromonadales	0.10	0.40	0.40	1.20	0.60	1.20	1.80	0.80
Myxococcales	1.91	1.50	1.10	1.30	1.30	0.90	1.30	0.70
NA (Deltaproteobacteria)	0.60	0.70	0.30	0.50	/	0.30	/	0.10
Oligoflexales	/	0.10	0.10	0.20	0.20	/	0.10	/
Syntrophobacterales	/	/	/	0.10	/	0.10	0.10	/

Acidithiobacillales	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Aeromonadales	/	/	/	/	/	1.50	0.10	/
Cellvibrionales	/	0.10	/	/	/	0.70	0.20	0.20
Chromatiales	0.10	/	/	/	/	0.40	1.30	0.50
Enterobacteriales	0.60	1.50	6.11	2.50	0.30	/	/	/
Legionellales	/	0.20	0.10	0.30	0.30	0.10	/	/
Methylococcales	/	/	/	/	/	/	0.60	/
NA (Gammaproteobacteria)	0.50	0.20	/	/	/	1.20	0.70	0.40
Oceanospirillales	0.30	0.40	/	/	/	12.01	2.20	5.61
Pseudomonadales	1.00	0.60	0.90	1.20	0.50	1.70	0.70	0.60
Thiotrichales	/	/	/	/	/	0.20	0.10	/
Xanthomonadales	1.81	2.00	1.30	2.10	1.50	2.20	2.00	1.70
NA (Saccharibacteria)	0.20	0.20	0.40	0.10	0.40	0.40	0.10	0.40
Haloplasmales	/	/	/	/	/	/	0.10	/
NA (Verrucomicrobia)	0.60	0.60	0.40	0.60	0.40	0.10	0.10	0.20
NA (Opitutae)	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Opitales	0.30	0.20	0.40	/	0.30	0.10	0.10	/
Puniceococcales	/	/	/	/	/	0.10	0.10	/
Chthoniobacterales	0.80	1.20	0.40	0.70	1.90	/	/	0.10
Verrucomicrobiales	/	0.40	0.10	0.20	0.10	0.60	0.20	0.50

Tabela P7: Relativna zastupljenost bakterijskih **familija** prisutnih u bar jednom rizosfernom mikrobiomu. (/) retke (<0.1%) ili nedetektovane familije. (NA)-neidentifikovane familije. Najzastupljenije familije (>1%) su istaknute.

Familija	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwaeryenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
NA (Acidobacteriales)	/	/	0.10	/	0.60	/	/	/
NA (Acidobacteria)	11.85	10.91	11.14	9.71	5.51	1.40	0.70	3.90
NA (Holophagae)	1.20	1.50	1.61	0.80	0.60	0.40	0.20	0.70
NA (Acidobacteria)	0.10	/	/	0.10	/	/	/	/
Acidimicrobiaceae	0.60	1.80	0.80	2.40	0.70	2.10	1.70	1.00
Iamiaceae	0.30	0.30	0.20	0.60	0.20	0.60	0.70	0.20
NA (Acidimicrobiales)	1.51	4.00	1.31	3.40	0.60	4.70	3.70	10.21
Dietziaceae	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Mycobacteriaceae	0.90	0.30	0.80	0.60	0.90	0.10	/	0.10
Nocardiaceae	0.10	0.30	/	0.10	0.10	/	/	/
Baidothermaceae	/	/	/	/	0.10	/	/	/
Cryptosporangiaceae	/	/	/	0.10	0.10	/	/	/
Frankiaceae	/	/	/	/	1.10	/	/	/
Geodermatophilaceae	0.70	0.70	0.60	0.60	0.80	/	/	0.10
NA (Frankiales)	/	/	/	0.20	0.10	0.10	0.10	0.10
Nakamurellaceae	0.30	0.10	0.10	0.10	0.20	/	/	/
Sporichthyaceae	/	/	0.20	0.20	0.30	/	/	/
Glycomycetaceae	/	/	/	/	/	0.10	/	0.20
Kineosporiaceae	0.30	0.20	0.40	0.10	0.40	/	0.20	0.10
Bogoriellaceae	/	/	/	/	/	/	/	0.40
Cellulomonadaceae	0.10	0.10	0.20	0.10	0.10	0.40	0.60	0.30
Demequinaceae	/	/	/	/	/	0.10	0.20	/
Intrasporangiaceae	0.20	0.30	1.00	0.50	1.20	0.70	1.70	1.10
Jonesiaceae	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Microbacteriaceae	0.60	0.50	1.20	1.90	0.80	0.10	0.10	0.40
Micrococcaceae	2.61	1.60	6.02	0.90	2.30	0.10	0.30	1.60
NA (Micrococcales)	0.20	/	0.10	/	/	/	/	0.10
Promicromonosporaceae	/	0.20	0.10	0.30	/	0.30	/	3.10
Micromonosporaceae	1.10	1.00	1.10	0.60	0.60	0.20	0.30	0.60
NA (Actinobacteria)	/	/	0.40	/	0.10	/	/	/
Nocardioidaceae	2.91	2.50	4.92	3.80	5.91	0.50	0.20	4.90
Propionibacteriaceae	1.00	1.20	0.70	1.00	0.30	1.40	0.50	1.30
Pseudonocardiaceae	1.41	1.50	1.61	1.00	4.10	0.10	/	0.30
Streptomyetaceae	1.51	1.20	1.91	1.90	5.31	0.40	0.20	1.30
Nocardiopsaceae	/	/	/	/	/	/	/	0.10
Streptosporangiaceae	/	/	0.10	0.10	0.10	/	/	/
Thermomonosporaceae	0.10	0.10	/	/	0.40	/	/	/
Coriobacteriaceae	/	/	/	/	/	/	0.20	/
NA (Actinobacteria)	1.00	1.70	0.60	3.20	0.10	0.50	0.10	0.20
Euzebyaceae	0.60	0.50	0.30	/	/	2.10	2.90	4.10
Nitriliruptoraceae	/	0.20	/	/	/	6.11	12.61	3.90
Rubrobacteriaceae	2.71	3.70	1.81	1.20	0.40	/	/	1.00
Gaiellaceae	0.70	1.00	0.60	3.60	0.50	/	/	/
NA (Gaiellales)	0.50	1.20	0.90	5.61	2.20	0.10	0.10	0.20
NA (Thermoleophilia)	/	0.10	/	0.10	/	/	/	/
Conexibacteraceae	0.10	0.10	0.20	/	0.20	/	/	/
NA (Solirubrobacterales;)	1.51	3.90	2.41	5.51	6.01	0.50	0.40	1.70
Patulibacteraceae	/	0.10	0.20	0.10	1.10	/	0.10	0.10
Solirubrobacteraceae	1.00	1.40	1.81	1.50	2.20	/	/	/
NA (Armatimonadete)	0.10	0.50	/	/	/	/	/	/

Draconibacteriaceae	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Cyclobacteriaceae	/	/	/	/	/	1.70	0.90	0.50
Cytophagaceae	1.61	0.90	1.31	0.80	0.50	0.60	0.50	0.70
Flammeovirgaceae	0.10	0.30	/	/	/	0.60	0.80	1.30
NA (Cytophagales)	0.10	/	/	/	/	0.30	0.40	0.40
NA (Cytophagia)	/	/	/	/	/	1.20	0.60	/
Rhodothermaceae	/	/	/	/	/	0.30	0.10	0.60
Cryomorphaceae	/	/	/	/	/	0.10	0.10	/
Flavobacteriaceae	0.20	0.30	0.30	0.20	0.10	1.00	1.00	0.90
NA (Bacteroidete)	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Chitinophagaceae	2.21	1.10	1.41	0.80	2.60	0.30	0.10	0.10
NA (Sphingobacteriales)	0.10	0.10	/	0.10	/	0.10	0.10	0.10
Saprospiraceae	0.20	0.10	/	0.20	/	/	0.10	0.20
Sphingobacteriaceae	0.10	/	0.10	0.10	0.60	/	/	/
NA (Chlamydiales)	0.10	/	/	/	/	/	/	/
Parachlamydiaceae	/	0.30	0.20	0.10	0.10	0.10	/	/
NA (Chlorobiales;)	/	0.10	/	/	0.10	/	/	/
NA (Ignavibacteriales)	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Anaerolineaceae	0.50	0.60	0.80	0.20	0.10	1.00	3.00	1.80
NA (Ardenticatenales)	/	/	/	/	/	/	/	0.10
NA (Ardenticatenia)	0.10	/	/	/	/	0.40	0.60	0.60
Caldilineaceae	0.50	0.40	0.30	0.10	0.20	0.60	1.10	0.70
Chloroflexaceae	0.10	/	/	/	/	/	0.20	/
Oscillochloridaceae	/	/	0.10	/	/	/	/	/
Roseiflexaceae	/	0.20	0.60	0.10	0.10	/	/	/
NA (Kallotenuales)	/	0.10	/	/	/	/	/	/
NA (Ktedonobacteria)	/	/	0.10	/	0.20	/	/	/
NA (Chloroflexi)	2.11	3.40	3.82	4.40	1.80	2.30	1.20	1.60
NA (Thermomicrobia)	2.21	1.90	0.80	1.70	1.50	0.20	0.20	1.60
Sphaerobacteraceae	/	/	/	/	0.10	0.70	1.20	0.10
FamilyI (Cyanobacteria)	0.10	/	/	/	/	0.60	1.10	0.10
FamilyI (Cyanobacteria)	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Trueperaceae	/	/	/	/	/	0.50	0.50	0.10
Fibrobacteraceae	0.10	0.10	/	0.10	0.20	/	/	/
NA (Fibrobacterales)	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Alicyclobacillaceae	/	0.20	0.20	/	/	/	0.10	/
Bacillaceae	9.34	2.80	4.82	2.60	4.90	4.50	2.60	2.40
Family XII	/	/	/	/	/	0.30	0.40	0.10
Paenibacillaceae	0.10	0.10	0.20	0.30	0.10	0.20	/	/
Planococcaceae	0.10	/	0.10	0.20	6.91	0.20	0.30	0.30
Clostridiaceae	0.10	0.10	0.30	0.10	0.10	3.30	0.10	0.70
Defluviitaleaceae	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Family XIV	/	/	/	/	/	0.10	0.30	/
Gracilibacteraceae	/	/	0.20	/	/	/	0.10	0.20
Lachnospiraceae	/	/	/	/	/	0.10	0.20	0.20
NA (Clostridiales)	0.20	/	0.30	/	0.20	0.40	1.30	0.20
Peptococcaceae	0.10	/	0.20	/	0.20	0.20	0.10	0.20
Peptostreptococcaceae	/	/	0.10	/	/	/	/	/
Ruminococcaceae	0.20	/	0.40	/	0.10	/	0.30	0.10
Syntrophomonadaceae	/	/	/	/	/	0.10	0.20	/
Halobacteroidaceae	/	/	0.10	/	/	/	0.10	/
Erysipelotrichaceae	/	0.10	/	/	/	/	/	/
NA (Firmicutes)	0.20	/	0.10	/	0.10	/	0.20	0.20
Veillonellaceae	/	/	/	/	0.10	/	/	/
Gemmatimonadaceae	1.61	1.60	1.41	0.70	2.60	/	/	0.60
NA (Gemmatimonadetes)	2.21	1.30	0.60	0.20	0.60	4.40	4.20	5.01
NA (Hydrogenedentes)	0.10	0.10	0.10	/	0.10	/	/	0.10
NA (Latescibacteria)	/	/	/	0.10	/	/	/	/
NA (Bacteria)	/	0.20	/	0.20	/	/	/	/
NA (Nitrospirales)	0.10	0.20	/	0.50	/	/	/	/
Nitrospiraceae	0.20	0.30	0.10	0.20	0.10	0.10	0.10	0.20
NA (Parcubacteria)	/	/	/	/	/	0.10	/	/
NA (Planctomycete)	/	0.20	/	0.20	/	0.10	/	/
NA (Phycisphaerae)	0.60	0.80	0.20	0.40	0.40	0.10	/	0.10
Phycisphaeraceae	/	0.10	/	/	/	0.20	0.20	/
Planctomycetaceae	3.61	3.00	2.01	2.10	2.60	1.50	1.20	1.10
Caulobacteraceae	0.50	0.20	0.30	0.40	0.40	0.10	0.10	0.10
Hyphomonadaceae	/	/	/	0.10	/	0.20	/	/

Beijerinckiaceae	/	/	/	/	0.10	/	/	/
Bradyrhizobiaceae	0.40	0.40	0.50	0.60	1.20	0.30	0.40	0.10
Hyphomicrobiaceae	0.50	0.90	1.61	1.20	1.20	3.50	1.60	0.80
Methylobacteriaceae	0.90	1.20	0.90	1.10	0.80	0.20	0.20	/
Methylocystaceae	0.20	0.10	0.10	/	/	0.10	0.10	0.40
NA (Rhizobiales)	1.31	2.10	0.90	1.50	0.60	1.90	2.30	1.80
Phyllobacteriaceae	0.30	0.60	0.40	1.20	1.20	1.70	1.20	0.50
Rhizobiaceae	0.50	0.40	2.31	1.30	0.90	0.50	0.60	0.10
Rhodobiaceae	0.50	0.90	0.60	1.80	/	1.40	1.40	1.30
Xanthobacteraceae	0.60	1.00	0.60	1.30	0.80	0.10	0.10	/
Rhodobacteraceae	0.70	0.70	0.30	0.30	0.10	2.50	3.50	4.10
Acetobacteraceae	0.50	0.20	0.10	0.10	0.60	0.10	0.20	/
NA (Rhodospirillales)	4.32	3.90	1.81	1.30	0.90	1.10	1.10	3.50
Rhodospirillaceae	1.71	1.30	1.31	0.50	0.60	0.90	2.00	1.20
NA (Rickettsiales)	/	/	/	/	/	0.20	0.10	0.20
Erythrobacteraceae	1.00	0.30	1.20	0.10	1.20	1.90	0.70	1.70
NA (Sphingomonadales)	0.90	1.10	0.60	0.20	0.30	0.10	/	0.20
Sphingomonadaceae	3.61	2.20	3.41	1.60	4.00	0.80	0.30	1.20
Alcaligenaceae	0.10	0.20	0.10	0.40	/	/	/	0.30
Burkholderiaceae	0.10	0.10	0.10	/	0.10	/	/	/
Comamonadaceae	1.31	0.80	1.51	0.90	1.50	0.40	1.20	0.20
Oxalobacteraceae	0.20	/	0.40	0.10	0.50	/	/	/
Methylophilaceae	0.10	/	0.10	/	/	/	0.10	/
NA (Betaproteobacteria)	0.70	1.00	0.30	1.10	0.90	/	/	0.20
Nitrosomonadaceae	0.50	0.40	0.40	0.60	0.10	/	/	/
Rhodocyclaceae	0.20	/	/	0.20	0.20	2.60	9.11	0.50
Bacteriovoracaceae	/	0.10	/	/	/	0.20	0.20	/
Bdellovibrionaceae	/	/	/	0.10	/	0.10	0.20	/
Desulfobacteraceae	/	/	/	/	/	0.10	0.40	/
Desulfobulbaceae	/	/	/	/	/	0.30	0.70	0.20
Nitrospinaceae	0.30	0.70	/	0.20	/	/	/	0.10
Desulfovibrionaceae	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Besulfurellaceae	0.20	0.20	/	0.10	/	/	/	/
Desulfuromonadaceae	/	0.10	/	0.30	0.10	0.30	0.90	0.70
Geobacteraceae	0.10	0.10	0.30	0.20	0.40	0.80	0.70	0.10
NA (Desulfuromonadales)	/	0.20	0.10	0.70	/	0.10	0.10	0.10
Archangiaceae	/	/	/	/	0.10	0.20	/	0.10
Cystobacteraceae	/	0.10	0.10	0.10	0.30	/	0.10	0.10
Haliangiaceae	0.70	0.40	0.30	0.30	0.20	0.20	0.30	0.20
Myxococcaceae	/	0.10	/	/	/	/	/	/
NA (Myxococcales)	0.60	0.40	0.30	0.40	0.10	0.20	0.20	0.20
Nannocystaceae	0.20	0.10	0.10	0.10	/	0.10	0.10	0.10
Polyangiaceae	0.30	0.30	0.40	0.20	0.40	0.10	0.20	/
Sandaracinaceae	0.20	0.10	/	0.20	/	0.20	0.40	/
NA (Deltaproteobacteria)	0.60	0.70	0.30	0.50	/	0.30	/	0.10
NA (Oligoflexales)	/	0.10	0.10	0.20	0.20	/	/	/
Oligoflexaceae	/	/	/	/	/	/	0.10	/
Syntrophaceae	/	/	/	0.10	/	/	/	/
Syntrophobacteraceae	/	/	/	/	/	0.10	0.10	/
NA (Acidithiobacillales)	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Aeromonadaceae	/	/	/	/	/	1.50	0.10	/
Cellvibrionaceae	/	/	/	/	/	0.40	0.10	/
Haliaceae	/	0.10	/	/	/	0.10	0.10	0.10
Microbulbiferaceae	/	/	/	/	/	0.30	/	/
Porticoccaceae	/	/	/	/	/	/	/	0.10
Chromatiaceae	/	/	/	/	/	0.20	0.30	0.30
Ectothiorhodospiraceae	0.10	/	/	/	/	0.20	1.00	0.20
Enterobacteriaceae	0.60	1.50	6.12	2.50	0.30	/	/	/
Coxiellaceae	/	0.10	0.10	0.10	0.20	/	/	/
Legionellaceae	/	0.10	/	0.20	0.10	0.10	/	/
Methylococcaceae	/	/	/	/	/	/	0.60	/
NA (Gammaproteobacteria)	0.50	0.20	/	/	/	1.20	0.70	0.40
Alcanivoracaceae	0.10	/	/	/	/	0.20	/	/
Halomonadaceae	/	0.40	/	/	/	10.31	1.30	5.61
Oceanospirillaceae	0.30	/	/	/	/	1.40	1.00	/
Saccharospirillaceae	/	/	/	/	/	0.10	/	/
Moraxellaceae	0.80	/	0.10	0.10	0.10	0.20	/	0.20
Pseudomonadaceae	0.20	0.60	0.70	1.10	0.40	1.50	0.70	0.40

Piscirickettsiaceae	/	/	/	/	/	0.10	0.10	/
Thiotrichaceae	/	/	/	/	/	0.10	/	/
NA (Xanthomonadales)	1.31	1.60	0.40	1.10	0.30	1.00	1.20	1.30
Nevskiaceae	/	/	/	0.10	/	/	/	/
Xanthomonadaceae	0.60	0.50	0.90	0.80	1.30	1.10	0.80	0.40
NA (Saccharibacteria)	0.20	0.20	0.40	0.10	0.40	0.40	0.10	0.40
Haloplasmataceae	/	/	/	/	/	/	0.10	/
NA (Verrucomicrobia)	0.60	0.60	0.40	0.60	0.40	0.10	0.10	0.20
Opitutaceae	0.30	0.20	0.40	/	0.30	0.10	0.10	/
Puniceicoccaceae	/	/	/	/	/	0.10	0.10	/
Chthoniobacteraceae	0.60	0.80	0.10	0.30	0.30	/	/	0.10
NA (Chthoniobacterales)	0.20	0.40	0.30	0.20	1.60	/	/	/
Xiphinematobacteraceae	/	/	/	0.10	/	/	/	/
NA (Verrucomicrobiales)	/	0.10	/	/	/	/	/	0.10
Verrucomicrobiaceae	/	0.30	0.10	0.20	0.10	0.50	0.20	0.40

Tabela P8: Lista OTU visokog stepena sličnosti sa sekvencama u bazi koje odgovaraju novou **vrste** realtivne zastupljenosti >1% u bar jednom rizosfernom mikrobiomu. (/) retke (<0.1%) ili nedetektovane OTU.

OTU	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwaryenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp2955	/	/	1.31	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_Acidimicrobiaceae;g_NA;s_sp4252	0.20	0.70	/	1.00	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_Acidimicrobiaceae;g_NA;s_sp4263	/	0.10	/	/	/	1.50	0.60	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA;s_sp4352-sp4379	0.20	0.70	0.10	/	/	2.00	1.40	1.60
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA;s_sp4365	0.10	0.10	/	/	/	0.10	0.10	1.90
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA;s_sp4642	0.20	/	/	/	/	0.40	0.30	1.30
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA;s_sp4646	/	/	/	/	/	0.30	0.50	1.90
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Microbacteriaceae;g_Agromyces;s_ramosus	0.30	0.30	0.50	1.20	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococcaceae;g_Arthrobacter-Pseudarthrobacter;s_NA	1.20	0.90	2.71	/	1.20	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococcaceae;g_Arthrobacter-Pseudarthrobacter;s_globiformis-scleromae-sulfonivorans	/	/	2.11	0.40	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Micrococcaceae;g_Kocuria;s_polaris	0.20	/	0.10	/	/	/	0.10	1.00
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Promicromonosporaceae;g_Isoptericola;s_halotolerans	/	/	/	/	/	0.20	/	2.70
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_alpinus	0.20	0.10	1.31	0.30	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_sp7665	/	/	/	/	/	/	0.20	1.10
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_sp7689	0.20	/	/	/	/	0.10	/	1.90
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_sp7696	/	0.10	/	/	1.00	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Propionibacteriaceae;g_NA;s_sp7835	0.60	0.80	0.50	/	/	1.40	0.50	1.20
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Pseudonocardiales;f_Pseudonocardiaaceae;g_Pseudonocardia;s_petroleophila	0.30	0.40	0.50	0.20	1.60	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomycetales;f_Streptomycetaceae;g_Streptomyces;s_NA	1.31	1.00	1.61	1.10	4.40	/	/	0.40
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp10579	/	0.10	/	1.20	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Nitriliruptoria;o_Euzebyales;f_Euzebyaceae;g_Euzebya;s_sp10629	/	/	/	/	/	0.40	1.10	0.10
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Nitriliruptoria;o_Euzebyales;f_Euzebyaceae;g_Euzebya;s_sp10635	0.20	0.20	/	/	/	/	/	2.00
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Nitriliruptoria;o_Nitriliruptorales;f_Nitriliruptoraceae;g_Nitriliruptor;s_alkaliphilus	/	/	/	/	/	1.30	3.00	1.00
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Nitriliruptoria;o_Nitriliruptorales;f_Nitriliruptoraceae;g_Nitriliruptor;s_sp10646	/	/	/	/	/	0.80	3.50	0.30
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Nitriliruptoria;o_Nitriliruptorales;f_Nitriliruptoraceae;g_Nitriliruptor;s_sp10659	/	/	/	/	/	0.70	1.50	0.50
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Nitriliruptoria;o_Nitriliruptorales;f_Nitriliruptoraceae;g_Nitriliruptor;s_sp10662	/	/	/	/	/	0.70	2.50	0.50
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Rubrobacteria;o_Rubrobacterales;f_Rubrobacteriaceae;g_Rubrobacter;s_sp10729	1.10	0.20	0.40	/	/	/	/	0.80
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Rubrobacteria;o_Rubrobacterales;f_Rubrobacteriaceae;g_Rubrobacter;s_sp10742-sp10761	0.60	1.10	0.20	0.60	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10909	0.10	0.30	/	1.00	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Gaiellales;f_NA;g_NA;s_sp10950	/	0.10	/	1.40	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacterales;f_NA;g_NA;s_sp11029	0.10	0.10	0.20	0.30	1.60	/	/	0.20
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cyclobacteriaceae;g_Echinicola;s_vietnamensis	/	/	/	/	/	1.30	0.20	/
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21490	0.40	0.40	0.60	1.30	0.30	/	/	0.10
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_NA;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21491	0.10	0.30	0.30	0.20	0.10	1.20	0.60	0.10
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Thermomicrobia;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp21845	1.20	1.30	0.50	1.00	0.50	/	/	0.10
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Thermomicrobia;o_Sphaerobacterales;f_Sphaerobacteraceae;g_Nitrolancea;s_sp21851	/	/	/	/	/	0.40	1.00	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_flexus-megaterium	2.81	0.50	1.20	0.30	0.20	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_okhensis-wakoensis	0.30	0.10	/	/	/	1.00	0.10	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_sp25896	0.10	0.30	0.10	0.60	3.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Sporosarcina;s_NA	/	/	/	/	1.00	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Sporosarcina;s_contaminans	/	/	/	0.10	4.10	0.10	/	/

k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae;g_Clostridium;s_vincentii	/	/	/	/	/	3.10	/	0.60
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp37618	/	/	/	/	/	/	/	1.90
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Pelagibacterium;s_sp43642	/	/	/	/	/	1.80	0.50	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_NA;g_NA;s_sp43483	0.90	0.40	0.50	/	/	0.90	1.50	1.60
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_NA;g_NA;s_sp43484	/	0.10	/	/	/	1.00	0.60	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhodobiaceae;g_Afifella;s_marina-pfennigii	0.10	0.10	/	/	/	0.10	0.10	1.00
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Labrenzia;s_alba	/	0.10	/	/	/	/	/	1.90
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_NA;s_sp45224	/	/	/	/	/	0.50	1.10	0.20
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_NA;g_NA;s_sp45941	0.30	0.10	/	/	/	0.30	0.30	1.20
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_NA;g_NA;s_sp45944	1.10	1.00	0.60	0.10	/	/	/	1.40
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_NA;g_NA;s_sp45950	1.41	0.40	0.20	/	/	0.20	/	0.60
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Erythrobacteraceae;g_Altererythrobacter;s_sp47512-sp47559	/	/	/	/	/	1.20	0.20	0.10
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Sphingomonas;s_sp47872	0.60	0.30	0.20	0.10	2.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Azoarcus;s_sp50304-sp50306	/	/	/	/	/	0.20	3.40	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Azoarcus;s_sp50305	/	/	/	/	/	0.20	1.90	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Betaproteobacteria;o_Rhodocyclales;f_Rhodocyclaceae;g_Azoarcus;s_sp50306	/	/	/	/	/	1.20	2.20	0.30
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Aeromonadales;f_Aeromonadaceae;g_Oceanisphaera;s_sp56188	/	/	/	/	/	1.50	0.10	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Enterobacter;s_cloacae-ludwigii	/	0.20	1.41	0.10	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Enterobacter;s_cloacae-ludwigii-sp58653	0.40	0.30	4.52	0.20	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Enterobacteriales;f_Enterobacteriaceae;g_Enterobacter;s_ludwigii	/	/	/	1.00	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Oceanospirillales;f_Halomonadaceae;g_Halomonas;s_chromatireducens	/	/	/	/	/	1.30	0.40	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Oceanospirillales;f_Halomonadaceae;g_Halomonas;s_desiderata-nitritophilus	/	/	/	/	/	0.60	0.10	1.60
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Oceanospirillales;f_Halomonadaceae;g_Halomonas;s_nitritophilus	/	/	/	/	/	0.20	/	3.20
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Oceanospirillales;f_Halomonadaceae;g_Halomonas;s_sp61418	/	0.20	/	/	/	6.41	0.60	0.80
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Gammaproteobacteria;o_Oceanospirillales;f_Oceanospirillaceae;g_Nitrincola;s_sp61644	/	/	/	/	/	1.00	0.90	/

Tabela P9. Relativna zastupljenost bakterijskih **razdela** i **klasa** prisutnih u najmanje jednom endorizosfernom mikrobiomu. Najzastupljenije klase (>1%) u mikrobiomu su istaknute; (/) - retke (<0.1%) ili nedetektovane klase; (NA)- neidentifikovane klase.

Razdeo	Klasa	<i>A.santonicum</i>	<i>L.gmelinii</i>	<i>P.schwarzenbergian</i>	<i>A.eupatoria</i>	<i>H. hystrix</i>	<i>S.maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S.europaee</i>
Acidobacteria		0.78	6.62	1.09	3.47	0.90	0.14	/	1.38
	Acidobacteria	0.78	5.34	1.09	3.22	0.80	0.15	/	0.92
	Holophagae	/	1.27	/	0.25	0.10	/	/	0.46
Actinobacteria		42.19	33.08	58.70	37.62	15.20	14.22	12.02	33.33
	Acidimicrobiia	5.47	8.40	1.09	4.21	0.40	3.48	1.63	3.91
	Actinobacteria	35.94	13.99	51.09	28.96	10.20	7.26	8.31	22.76
	NA	/	0.25	/	0.50	/	/	/	/
	Nitriliruptoria	0.78	0.76	/	/	/	2.87	1.93	5.06
	Rubrobacteria	/	0.51	1.09	/	0.10	/	/	0.92
	Thermoleophilia	/	9.16	5.43	3.96	4.50	0.61	0.15	0.69
Bacteroidetes		3.91	4.33	5.43	5.45	2.50	4.08	5.49	6.67
	Cytophagia	3.13	3.05	3.26	4.95	0.10	3.33	4.30	3.22
	Flavobacteriia	/	0.51	/	0.25	0.80	0.45	1.04	3.22
	Sphingobacteriia	0.78	1.02	2.17	0.50	1.60	0.30	0.15	/
Chlamydiae		/	/	/	0.25	0.10	/	/	/
	Chlamydiae	/	/	/	0.25	0.10	/	/	/
Chlorobi		/	0.25	/	/	/	/	/	/
	Chlorobia	/	0.25	/	/	/	/	/	/
Chloroflexi		0.78	2.80	3.26	2.48	0.40	1.06	0.59	2.07
	Ardenticatenia	/	/	/	/	/	/	0.15	/
	Anaerolineae	/	0.76	1.09	0.74	/	0.76	0.45	0.46
	Chloroflexia	/	0.51	1.09	0.50	0.10	/	/	/
	Thermomicrobia	/	0.76	/	0.25	0.20	/	/	0.69
	NA	0.78	0.76	/	0.74	0.10	/	/	0.92
Cyanobacteria		/	/	/	/	0.10	2.72	1.93	/
	Cyanobacteria	/	/	/	/	/	2.72	1.93	/
Deinococcus-Termus		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00
	Deinococci	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Fibrobacteres		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.15	0.00	0.00
	Fibrobacteria	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Firmicutes		1.56	1.53	1.09	0.99	23.40	1.97	5.93	2.99
	Bacilli	1.56	1.53	1.09	0.99	23.10	0.76	5.19	2.53
	Clostridia	/	/	/	/	0.20	1.21	0.89	0.46

	Negativicutes	/	/	/	/	0.10	/	/	/
Gemmatimonadetes		0.78	1.27	/	0.25	0.50	0.45	0.30	2.07
	Gemmatimonadetes	0.78	1.27	/	0.25	0.50	0.45	0.30	2.07
Planctomycetes		0.78	7.89	1.09	1.24	0.40	0.91	0.30	0.46
	Phycisphaerae	/	2.29	/	0.25	0.10	/	/	/
	Planctomycetacia	0.78	5.60	1.09	0.99	0.30	0.91	0.30	0.46
Proteobacteria		45.31	37.15	28.26	47.03	55.20	72.16	72.11	47.13
	Alphaproteobacteria	20.31	23.16	14.13	27.97	/	25.72	21.81	20.23
	Betaproteobacteria	5.47	2.29	4.35	4.21	3.70	8.93	25.07	3.22
	Deltaproteobacteria	8.59	3.82	4.35	3.96	0.20	1.51	1.93	1.84
	Epsilonproteobacteria	/	/	/	/	/	/	0.30	/
	Gammaproteobacteria	10.16	7.89	6.52	10.89	43.20	36.01	23.00	22.07
Saccaribacteria		3.13	0.51	1.09	0.25	0.40	0.61	/	2.99
	NA	3.13	0.51	1.09	0.25	0.40	0.61	/	2.99
Verrucomicrobia		0.78	3.56	/	0.99	0.80	0.45	0.30	0.46
	NA	/	0.51	/	/	/	/	/	/
	Opitutae	/	0.76	/	0.25	/	0.30	0.30	0.23
	Spartobacteria	0.78	1.53	/	0.74	0.70	/	/	/
	Verrucomicrobiae	/	0.76	/	/	/	0.30	/	0.23

Tabela P10: Relativna zastupljenost bakterijskih **redova** prisutnih u najmanje jednom endorizosfernom mikrobiomu. (/) retki (<0.1%) ili nedetektovani redovi. (NA)-neidentifikovani redovi dopunjeni su nazivom prve više identifikovane taksonomske kategorije. Najzastupljeniji redovi (>1%) su istaknuti.

Red	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwarzenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
Acidobacteriales	/	/	/	0.25	0.10	/	/	/
NA (Acidobacteria)	0.78	5.34	1.09	2.97	0.70	0.15	/	0.92
NA (Holophagae)	/	1.27	/	0.25	0.10	/	/	0.46
Acidimicrobiales	5.47	8.40	1.09	4.21	0.40	3.48	1.63	3.91
Corynebacteriales	5.47	0.25	2.17	1.49	0.60	0.15	/	0.23
Frankiales	2.34	/	1.09	9.16	0.40	0.15	/	/
Glycomycetales	/	/	/	/	/	/	/	1.15
Kineosporiales	3.13	0.25	7.61	1.49	0.10	/	0.45	0.46
Micrococcales	7.81	0.51	3.26	2.72	2.10	6.35	6.97	11.03
Micromonosporales	6.25	7.12	18.48	4.70	0.50	0.30	0.45	0.69
Propionibacteriales	4.69	2.80	6.52	3.22	1.90	0.30	0.15	3.22
Pseudonocardiales	2.34	1.02	2.17	1.98	1.90	/	/	0.23
Streptomycetales	3.91	1.53	8.70	3.71	2.40	0.15	0.15	4.83
Streptosporangiales	/	0.25	1.09	0.50	0.30	/	/	0.92
NA (Actinobacteria)	/	0.25	/	0.50	/	/	/	/
Euzebyales	0.78	0.51	/	/	/	1.21	0.59	3.68
Nitriliruptorales	/	0.25	/	/	/	1.66	1.34	1.15
Rubrobacteriales	/	0.51	1.09	/	0.10	/	/	0.92
Gaiellales	/	0.51	/	1.24	0.20	/	/	/
Solirubrobacteriales	/	8.65	5.43	2.72	4.40	0.61	0.15	0.69
Cytophagales	3.13	3.05	3.26	4.95	0.10	3.03	4.15	3.22
NA(Cytophagia)	/	/	/	/	/	0.30	0.15	/
Flavobacteriales	/	0.51	/	0.25	0.80	0.45	1.04	3.22
Sphingobacteriales	0.78	1.02	2.17	0.50	1.60	/	/	/
Chlamydiales	/	/	/	0.25	0.10	/	/	/
Chlorobiales	/	0.25	/	/	/	/	/	/
Anaerolineales	/	0.76	1.09	0.74	/	0.76	0.45	0.46
Ardenticatenales	/	/	/	/	/	/	0.15	/
Chloroflexales	/	0.51	1.09	0.50	0.10	/	/	/
NA (Chloroflexi)	0.78	0.76	/	0.74	0.10	/	/	0.92
NA (Thermomicrobia)	/	0.76	/	0.25	0.20	/	/	0.69
NA (Cyanobacteria)	/	/	/	/	/	2.72	1.93	/
Deinococcales	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Fibrobacteriales	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Bacillales	1.56	1.53	1.09	0.99	23.10	0.76	5.19	2.53
Clostridiales	/	/	/	/	0.20	1.21	0.89	0.46
Selenomonadales	/	/	/	/	0.10	/	/	/
Gemmatimonadales	/	0.51	/	0.25	0.50	/	/	0.23
NA (Gemmatimonadetes)	0.78	0.51	/	/	/	0.30	0.15	1.84
NA (Hydrogenedentes)	/	0.25	/	/	/	/	/	/
NA(Planctomycetes)	/	0.25	/	/	/	/	/	/
NA(Phycisphaerae)	/	2.04	/	0.25	0.10	/	/	/
Planctomycetales	0.78	5.60	1.09	0.99	0.30	0.91	0.30	0.46
Caulobacteriales	0.78	0.76	2.17	3.47	0.50	1.36	1.19	/
Rhizobiales	12.50	14.50	8.70	15.59	4.50	12.25	9.79	5.52
Rhodobacteriales	/	0.51	/	/	0.10	4.08	5.34	6.44
Rhodospirillales	1.56	5.85	1.09	5.20	0.60	1.82	1.78	2.99
Sphingomonadales	6.25	1.53	2.17	3.71	2.50	6.20	3.56	5.06
Burkholderiales	5.47	0.76	4.35	3.47	3.40	1.82	5.34	1.15
Methylophilales	0.78	/	/	0.25	/	/	0.15	0.45
NA (Betaproteobacteria)	/	0.76	/	/	0.20	/	/	/

Nitrosomonadales	/	0.51		0.50	/	/	/
Rhodocyclales	/			0.20	6.96	19.29	2.07
Bdellovibrionales	/			0.25	/	0.15	0.30
Desulfobacterales	/				0.15	0.15	0.23
Desulfovibrionales	/				0.15	/	/
Desulfuromonadales	/			0.74	0.10	0.15	0.59
Myxococcales	8.59	3.31	4.35	2.72	0.10	0.91	0.74
NA (Deltaproteobacteria)	/	0.25			/	/	/
Oligoflexales	/			0.25	0.10	/	/
Syntrophobacterales	/	0.25			/	/	/
Campylobacterales	/				/	0.30	/
Aeromonadales	/				4.39	1.78	/
Alteromonadales	/				/	0.15	0.23
Cellvibrionales	/	0.51			0.61	1.34	1.38
Chromatiales	/				2.57	0.59	0.92
Enterobacteriales	1.56	0.25	4.35	1.24	31.60	0.76	0.15
Legionellales	/				0.15	/	/
Methylococcales	/				/	0.30	/
NA (Gammaproteobacteria)	/	0.51			0.45	0.30	0.46
Oceanospirillales	0.78	0.25			2.57	2.23	8.05
Pseudomonadales	1.56			0.25	7.20	18.76	12.17
Thiotrichales	0.78				0.61	0.30	0.23
Vibrionales	/				/	0.30	/
Xanthomonadales	5.47	6.11	2.17	9.41	4.40	5.14	3.56
NA (Saccharibacteria)	3.13	0.51	1.09	0.25	0.40	0.61	/
NA (Verrucomicrobia)	/	0.51			/	/	/
Opitutales	/	0.76		0.25		0.30	0.30
Puniceicoccales	/				/	/	0.23
Chthoniobacterales	0.78	1.53		0.74	0.70	/	/
Verrucomicrobiales	/	0.76	/	/	/	0.30	/

Tabela P11: Relativna zastupljenost bakterijskih **familija** prisutnih u bar jednom endorizosfernom mikrobiomu. (/) retke (<0.1%) ili nedetektovane familije. (NA)-neidentifikovane familije. Najzastupljenije familije (>1%) su istaknute.

Familija	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwarzenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
NA (Acidobacteriales)	/	/	/	0.25	0.1	/	/	/
NA (Acidobacteria)	0.78	5.34	1.09	2.97	0.7	0.15	/	0.92
NA (Holophagae)	/	1.27	/	0.25	0.1	/	/	0.46
Acidimicrobiaceae	1.56	1.27	/	2.72	0.2	1.21	0.74	0.92
Iamiaceae	2.34	0.76	/	0.50		0.45	0.15	0.23
NA (Acidimicrobiales)	1.56	6.36	1.09	0.99	0.2	1.82	0.74	2.76
Dietziaceae	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Mycobacteriaceae	5.47	0.25	2.17	1.49	0.6	/	/	0.23
Cryptosporangiaceae	/	/	1.09	2.72	/	/	/	/
Frankiaceae	/	/	/	/	0.4	0.15	/	/
Geodermatophilaceae	2.34	/	/	4.46	/	/	/	/
NA (Frankiales)	/	/	/	1.73	/	/	/	/
Glycomycetaceae	/	/	/	/	/	/	/	1.15
Kineosporiaceae	3.13	0.25	7.61	1.49	0.1	/	0.45	0.46
Cellulomonadaceae	1.56	/	/	/	0.1	1.82	1.78	/
Demequinaceae	/	/	/	/	/	0.45	0.15	0.46
Intrasporangiaceae	/	/	/	/	0.2	1.06	1.04	0.23
Jonesiaceae	/	/	/	/	/	2.57	3.26	/
Microbacteriaceae	1.56	/	2.17	2.23	0.9	0.15	0.30	0.46
Micrococcaceae	0.78	0.25	/	/	0.9	/	0.30	1.84
Promicromonosporaceae	4.69	0.25	1.09	0.50	/	/	/	8.05
Sanguibacteraceae	/	/	/	/	/	0.30	/	0.23
Micromonosporaceae	6.25	7.12	18.48	4.70	0.5	0.30	0.45	0.69
Nocardiodaceae	3.13	2.04	5.43	3.22	1.9	0.30	0.15	3.22
Propionibacteriaceae	0.78	0.76	1.09	/	/	/	/	/
Pseudonocardaceae	2.34	1.02	2.17	1.98	1.9	/	/	0.23
Streptomycetaceae	3.91	1.53	8.70	3.71	2.4	0.15	0.15	4.83
Nocardiosaceae	/	/	/	/	/	/	/	0.69
Thermomonosporaceae	/	0.25	1.09	0.50	0.3	/	/	0.23
NA (Actinobacteria)	/	0.25	/	0.50	/	/	/	/
Euzebyaceae	0.78	0.51	/	/	/	1.21	0.59	3.68
Nitriliruptoraceae	/	0.25	/	/	/	1.66	1.34	1.15
Rubrobacteriaceae	/	0.51	1.09	/	0.1	/	/	0.92
Gaiellaceae	/	0.25	/	0.74	0.1	/	/	/
NA (Gaiellales)	/	0.25	/	0.74	0.1	/	/	/
Conexibacteraceae	/	/	/	/	0.1	/	/	/
NA (Solorubrobacterales)	/	6.87	2.17	1.73	2.5	0.30	0.15	0.69
Patulibacteraceae	/	/	1.09	0.25	0.7	0.15	/	/
Solorubrobacteraceae	/	1.53	2.17	0.74	1.1	/	/	/
Cyclobacteriaceae	/	/	/	/	/	0.76	0.74	0.46
Cytophagaceae	3.13	1.78	3.26	4.95	0.1	0.61	1.48	0.46
Flammeovirgaceae	/	1.27	/	/	/	0.76	0.74	1.61
NA (Cytophagales)	/	/	/	/	/	1.06	1.04	0.92
NA (Cytophagia)	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Rhodothermaceae	/	/	/	/	/	0.30	0.15	/
Flavobacteriaceae	/	0.51	/	0.25	0.8	0.45	0.89	3.22
Chitinophagaceae	0.78	0.76	2.17	0.50	0.4	0.15	/	/
NA (Sphingobacteriales)	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Sphingobacteriaceae	/	/	/	/	1.2	/	/	/
Parachlamydiaceae	/	/	/	0.25	0.1	/	/	/
NA (Chlorobiales)	/	0.25	/	/	/	/	/	/

Anaerolineaceae	/	0.76	1.09	0.74	/	0.76	0.45	0.46
NA (Ardenticatenales)	/	/	/	/	/	/	0.15	/
Roseiflexaceae	/	0.51	1.09	0.50	0.1	/	/	/
NA (Chloroflexi)	0.78	0.76	/	0.74	0.1	/	/	0.92
NA(Thermomicrobia)	/	0.76	/	0.25	0.2	/	/	0.69
FamilyI (Cyanobacteria)	/	/	/	/	/	2.72	1.93	/
Trueperaceae	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Fibrobacteraceae	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Bacillaceae	1.56	1.53	1.09	0.74	19.5	0.61	0.45	1.84
Family XII (Bacillales)	/	/	/	/	/	0.15	3.41	0.23
Paenibacillaceae	/	/	/	0.25	0.9	0.15	0.23	/
Planococcaceae	/	/	/	/	2.6	1.19	0.46	/
Clostridiaceae	/	/	/	/	0.1	0.15	/	/
Gracilibacteraceae	/	/	/	/	/	/	/	0.23
Lachnospiraceae	/	/	/	/	/	0.61	0.30	/
NA (Clostridiales)	/	/	/	/	0.1	0.15	0.45	/
Peptococcaceae	/	/	/	/	0.1	/	/	/
Peptostreptococcaceae	/	/	/	/	/	0.30	0.15	/
Ruminococcaceae	/	/	/	/	/	0.15	/	0.23
Veillonellaceae	/	/	/	/	0.1	/	/	/
Gemmatimonadaceae	/	0.51	/	0.25	0.5	/	/	0.23
NA (Gemmatimonadetes)	0.78	0.51	/	/	/	0.30	0.15	1.84
NA(Phycisphaerae)	/	2.04	/	0.25	0.1	/	/	/
Planctomycetaceae	0.78	5.60	1.09	0.99	0.3	0.91	0.30	0.46
Caulobacteraceae	0.78	0.25	2.17	2.97	0.5	1.21	1.04	/
Hyphomonadaceae	/	0.51	/	0.25	/	0.15	/	/
Beijerinckiaceae	/	/	/	/	0.1	/	/	/
Bradyrhizobiaceae	2.34	0.76	2.17	2.48	0.9	0.45	0.15	/
Brucellaceae	/	/	/	/	0.1	/	/	/
Hyphomicrobiaceae	2.34	3.82	2.17	4.70	0.6	4.54	2.52	1.15
Methylobacteriaceae	2.34	0.76	1.09	/	0.2	0.15	0.15	/
Methylocystaceae	/	/	/	/	0.1	/	/	0.23
NA (Rhizobiales)	0.78	2.04	/	1.49	0.4	0.15	0.30	0.46
Phyllobacteriaceae	/	1.53	/	0.99	0.8	1.97	1.34	1.61
Rhizobiaceae	3.91	0.25	3.26	4.21	1.2	4.39	4.90	1.38
Rhodobiaceae	0.78	2.54	/	0.50	/	0.76	0.45	0.46
Xanthobacteraceae	0.78	2.80	/	1.24	0.2	/	/	/
Rhodobacteraceae	/	0.51	/	/	0.1	4.08	5.34	6.44
Acetobacteraceae	0.78	0.25	/	0.25	0.2	0.15	0.15	/
NA (Rhodospirillales)	/	2.04	/	0.74	0.1	/	/	1.61
Rhodospirillaceae	0.78	3.82	1.09	4.46	0.3	1.66	1.63	1.38
Erythrobacteraceae	2.34	0.51	1.09	0.25	0.4	4.84	2.97	3.45
NA (Sphingomonadales)	/	0.51	/	/	/	/	/	/
Sphingomonadaceae	3.91	0.76	1.09	3.47	2.1	1.36	0.59	1.38
Alcaligenaceae	0.78	/	/	/	0.3	/	/	/
Burkholderiaceae	/	/	/	/	0.3	/	/	/
Comamonadaceae	3.91	0.76	3.26	3.22	1	1.66	5.34	0.69
Oxalobacteraceae	0.78	/	1.09	0.25	1.7	0.15	/	0.23
Methylophilaceae	0.78	/	/	0.25	/	0.15	0.45	/
NA (Betaproteobacteria)	/	0.76	/	/	0.2	/	/	/
Nitrosomonadaceae	/	0.51	/	0.50	/	/	/	/
Rhodocyclaceae	/	/	/	/	0.2	6.96	19.29	2.07
Bacteriovoracaceae	/	/	/	/	/	0.15	0.15	/
Bdellovibrionaceae	/	/	/	0.25	/	/	0.15	/
Desulfobulbaceae	/	/	/	/	/	0.15	0.15	0.23
Desulfovibrionaceae	/	/	/	/	/	0.15	/	/
Desulfuromonadaceae	/	/	/	/	/	0.15	0.59	0.23
Geobacteraceae	/	/	/	0.25	0.1	/	/	/
NA (Desulfuromonadales;)	/	/	/	0.50	/	/	/	0.23
Cystobacteraceae	/	/	/	/	/	/	/	0.23
Haliangiaceae	/	0.25	1.09	0.74	/	/	0.15	/
Myxococcaceae	/	/	/	/	/	0.15	/	/
NA (Myxococcales)	0.78	1.27	1.09	1.98	/	0.15	0.15	0.46
Nannocystaceae	/	0.25	/	/	/	/	0.15	/
Polyangiaceae	/	0.25	/	/	0.1	/	/	/
Sandaracinaceae	7.81	1.27	1.09	0.25	/	0.61	0.45	0.46
NA (Oligoflexales)	/	/	/	0.25	0.1	/	/	/
Syntrophaceae	/	0.25	/	/	/	/	/	/

Helicobacteraceae	/	/	/	/	/	/	0.30	/
Aeromonadaceae	/	/	/	/	/	4.39	1.78	/
Alteromonadaceae	/	/	/	/	/	/	/	0.23
Shewanellaceae	/	/	/	/	/	/	0.15	/
Cellvibrionaceae	/	/	/	/	/	0.30	1.04	0.23
Halieaceae	/	0.25	/	/	/	0.15	0.15	0.69
Microbulbiferaceae	/	0.25	/	/	/	0.15	0.15	0.23
Porticoccaceae	/	/	/	/	/	/	/	0.23
Chromatiaceae	/	/	/	/	/	2.57	0.45	0.69
Ectothiorhodospiraceae	/	/	/	/	/	/	0.15	0.23
Enterobacteriaceae	1.56	0.25	4.35	1.24	31.6	0.76	0.15	/
Methylococcaceae	/	/	/	/	/	/	0.30	/
NA (Gammaproteobacteria)	/	0.51	/	/	/	0.45	0.30	0.46
Alcanivoracaceae	0.78	/	/	/	/	/	/	/
Halomonadaceae	/	0.25	/	/	/	1.97	1.78	7.82
Oceanospirillaceae	/	/	/	/	/	0.61	0.45	/
Moraxellaceae	/	/	/	/	0.5	2.27	0.15	1.61
Pseudomonadaceae	1.56	/	/	0.25	6.7	16.64	12.02	5.98
Piscirickettsiaceae	0.78	/	/	/	/	0.61	0.30	0.23
Vibrionaceae	/	/	/	/	/	/	0.30	/
NA (Xanthomonadales)	3.13	5.09	1.09	5.69	0.2	0.15	0.15	0.92
Nevskiaceae	/	/	/	3.22	/	/	/	/
Xanthomonadaceae	2.34	1.02	/	0.50	4.2	4.99	3.41	2.53
NA (Saccharibacteria)	3.13	0.51	1.09	0.25	0.4	0.61	/	2.99
Opitutaceae	/	0.76	/	0.25	/	0.30	0.30	/
Puniceicoccaceae	/	/	/	/	/	/	/	0.23
Chthoniobacteraceae	0.78	0.25	/	0.50	/	/	/	/
NA (Chthoniobacterales)	/	1.27	/	0.25	0.7	/	/	/
Verrucomicrobiaceae	/	0.51	/	/	/	0.30	/	0.23

Tabela P12: Lista OTU visokog stepena sličnosti sa sekvencama u bazi koje odgovaraju novou relativne zastupljenosti >1% u bar jednom endorizosfernom mikrobiomu. (/) retke (<0.1%) ili nedetektovane OTU.

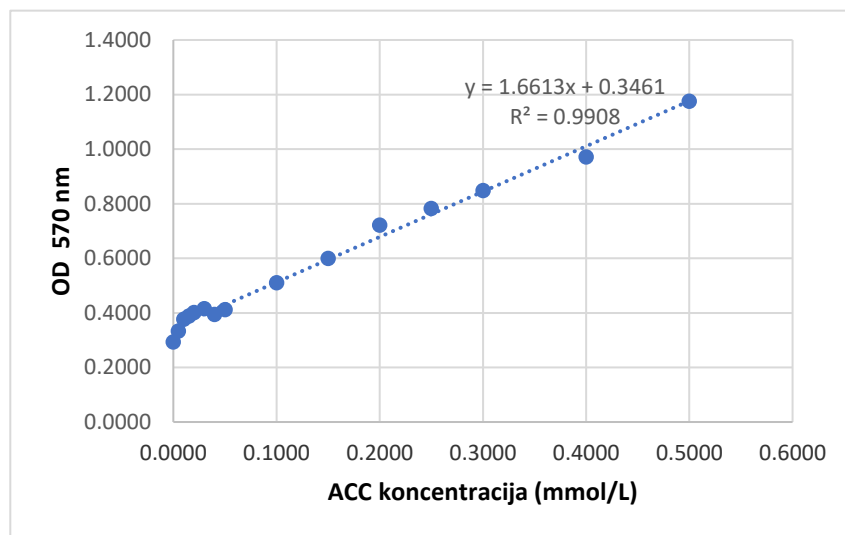
OTU	<i>A. santonicum</i>	<i>L. gmelinii</i>	<i>P. schwarzenbergiana</i>	<i>A. eupatoria</i>	<i>H. geniculatum</i>	<i>S. maritima</i>	<i>C. annua</i>	<i>S. europaea</i>
k_Bacteria;p_Acidobacteria;c_Acidobacteria;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp2079	/	1.78	/	0.25	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_Acidimicrobiaceae;g_Illumatobacter;s_sp4235	1.56	0.25	/	0.25	/	0.30	0.30	0.69
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA;s_sp4484	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA;s_sp4532	/	1.02	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Acidimicrobiia;o_Acidimicrobiales;f_NA;g_NA;s_sp4643	/	1.02	/	0.25	/	/	/	0.23
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Mycobacteriaceae;g_Mycobacterium;s_NA	/	/	1.09	/	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Mycobacteriaceae;g_Mycobacterium;s_moriokaense	1.56	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Mycobacteriaceae;g_Mycobacterium;s_pyrenivorans	2.34	/	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Corynebacteriales;f_Mycobacteriaceae;g_Mycobacterium;s_rhodesiae-tusciae	1.56	/	/	0.74	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Cryptosporangiaceae;g_Cryptosporangium;s_sp6027	/	/	1.09	2.72	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Geodermatophilaceae;g_Blastococcus;s_saxobsidens	/	/	/	4.46	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_Geodermatophilaceae;g_Geodermatophilus;s_brasilienis-taihuensis	1.56	/	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Frankiales;f_NA;g_NA;s_NA	/	/	/	1.73	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Kineosporiales;f_Kineosporiaceae;g_Kineosporia;s_sp6208	2.34	/	6.52	1.24	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Kineosporiales;f_Kineosporiaceae;g_NA;s_sp6223	/	/	1.09	0.25	/	/	0.45	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Cellulomonadaceae;g_Actinotalea;s_ferrariae	/	/	/	/	/	1.21	0.59	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Cellulomonadaceae;g_Cellulomonas;s_hominis-parahominis	1.56	/	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Cellulomonadaceae;g_Cellulomonas;s_oligotrophica	/	/	/	/	/	0.61	1.19	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Jonesiaceae;g_Jonesia;s_denitrificans-quinghaiensis	/	/	/	/	/	1.82	3.12	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Microbacteriaceae;g_Agrococcus-Chryseoglobus;s_frigidaquae-jenensis	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Microbacteriaceae;g_Chryseoglobus;s_frigidaquae	/	/	1.09	0.99	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Promicromonosporaceae;g_Isoptericola;s_halotolerans	/	/	/	/	/	/	/	5.52
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micrococcales;f_Promicromonosporaceae;g_Promicromonospora;s_sp7297	4.69	/	1.09	0.50	/	/	/	2.53
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Actinoplanes;s_abujensis-brasilienis	/	2.29	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Actinoplanes;s_cyaneus-liguriensis	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Actinoplanes;s_friuliensis	/	/	2.17	/	/	0.15	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Actinoplanes;s_nipponensis	3.91	0.51	6.52	0.74	0.40	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Actinoplanes;s_sp7394	/	/	6.52	0.50	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Actinoplanes;s_toeensis	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Longispora;s_sp7431	/	1.02	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Longispora;s_sp7434	/	2.54	/	/	/	0.15	0.15	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Micromonosporales;f_Micromonosporaceae;g_Micromonospora;s_sp7446	/	/	/	1.98	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Aeromicrobium;s_ginsengisoli	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_NA;s_sp7702	/	/	1.09	/	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_NA	/	/	1.09	/	0.20	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_alpinus	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_dilutus	0.78	/	1.09	0.50	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_halotolerans	/	0.25	1.09	0.74	0.50	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_islandensis	1.56	0.51	/	0.50	/	/	/	0.23
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Nocardioidaceae;g_Nocardioides;s_sp7689	/	/	/	/	/	0.15	0.15	1.61
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Propionibacteriales;f_Propionibacteriaceae;g_Friedmanniella;s_okinawensis	0.78	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Pseudonocardiales;f_Pseudonocardaceae;g_Lechevalieria-Lentzea;s_NA	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Pseudonocardiales;f_Pseudonocardaceae;g_Pseudonocardia;s_petroleophila-saturnea-seranimata	1.56	/	/	/	/	/	/	/

k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomycetales;f_Streptomycetaceae;g_Streptomyces;s_NA	3.91	0.51	8.70	1.24	1.90	/	/	1.38
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomycetales;f_Streptomycetaceae;g_Streptomyces;s_ferralis-titus-mucoflavus	/	/	/	/	/	/	/	1.15
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomycetales;f_Streptomycetaceae;g_Streptomyces;s_fukangensis	/	0.25	/	/	/	0.15	0.15	2.30
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptomycetales;f_Streptomycetaceae;g_Streptomyces;s_graminilatus	/	/	/	1.73	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Actinobacteria;o_Streptosporangiales;f_Thermomonosporaceae;g_Actinocorallia;s_sp10269	/	/	1.09	0.50	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Nitriliruptoria;o_Euzebyales;f_Euzebyaceae;g_Euzebya;s_sp10628	0.78	0.25	/	/	/	0.91	0.45	2.76
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Rubrobacteria;o_Rubrobacterales;f_Rubrobacteriaceae;g_Rubrobacter;s_sp10748	/	/	1.09	/	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacterales;f_NA;g_NA;s_sp11022	/	2.80	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacterales;f_NA;g_NA;s_sp11028-sp11029	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacterales;f_Solirubrobacteriaceae;g_Solirubrobacter;s_ginsenosidimutans	/	/	1.09	0.50	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Actinobacteria;c_Thermoleophilia;o_Solirubrobacterales;f_Solirubrobacteriaceae;g_Solirubrobacter;s_sp11094	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Chryseolinea;s_sp15103-sp15518	/	/	/	2.23	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_NA;s_sp15409	1.56	0.51	/	0.25	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Ohtaekwangia;s_sp15276	/	/	1.09	0.25	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Cytophagia;o_Cytophagales;f_Cytophagaceae;g_Ohtaekwangia;s_sp15280	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Flavobacteriia;o_Flavobacteriales;f_Flavobacteriaceae;g_NA;s_NA	/	/	/	/	/	/	/	1.61
k_Bacteria;p_Bacteroidetes;c_Sphingobacteriia;o_Sphingobacterales;f_Chitinophagaceae;g_Niastella;s_koreensis-sp18268-sp18387	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Chloroflexi;c_Chloroflexia;o_Chloroflexales;f_Roseiflexaceae;g_Roseiflexus;s_sp21169	/	/	1.09	0.50	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Cyanobacteria;c_Cyanobacteria;o_NA;f_FamilyI;g_Leptolyngbya;s_sp23173	/	/	/	/	/	1.51	0.30	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_aryabhatai-flexus-megaterium	1.56	0.76	/	0.25	3.90	0.30	/	0.46
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_cereus-pseudomycoides-toyonensis	/	/	/	2.30	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_cohnii	/	/	/	/	/	/	/	0.23
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_flexus-megaterium	/	0.51	1.09	/	10.40	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_megaterium	/	/	/	0.40	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Bacillaceae;g_Bacillus;s_muralis-simplex-thuringiensis	/	0.25	/	0.25	1.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Family XII;g_Exiguobacterium;s_aurantiacum-mexicanum	/	/	/	/	/	2.52	0.23	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Psychrobacillus;s_psychrodurans	/	/	/	/	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Firmicutes;c_Bacilli;o_Bacillales;f_Planococcaceae;g_Sporosarcina;s_contaminans	/	/	/	/	1.50	/	/	/
k_Bacteria;p_Gemmatimonadetes;c_Gemmatimonadetes;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp37618	/	/	/	/	/	/	/	1.38
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Phycisphaerae;o_NA;f_NA;g_NA;s_sp41108	/	1.27	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Planctomycetes;c_Planctomycetacia;o_Planctomycetales;f_Planctomycetaceae;g_NA;s_sp41576	/	1.53	/	0.25	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Caulobacter;s_henricii	/	/	1.09	0.74	0.20	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Caulobacterales;f_Caulobacteraceae;g_Phenylobacterium;s_koreense	/	/	/	1.24	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Bradyrhizobiaceae;g_Afipia-Bradyrhizobium;s_NA	1.56	0.51	2.17	2.23	0.30	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Devesia;s_geojensis	/	/	1.09	/	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Pelagibacterium;s_sp43642	/	/	/	/	/	1.66	0.89	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Rhodomicrobium;s_sp43653	/	0.25	/	1.73	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Hyphomicrobiaceae;g_Rhodomicrobium;s_sp43654	0.78	0.76	/	1.24	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Methylobacteriaceae;g_Methylobacterium;s_NA	1.56	/	/	/	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Phylobacteriaceae;g_Mesorhizobium;s_sp44061	/	1.02	/	/	/	0.30	0.15	0.92
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Neorhizobium;s_galegae	0.78	/	1.09	0.25	0.30	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Rhizobium;s_NA	/	/	1.09	1.98	0.20	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Rhizobium;s_leguminosarum	/	/	/	/	0.20	1.51	1.34	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Rhizobium;s_rosettiformans-vitis	/	/	/	/	/	2.42	3.56	0.92
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhizobiaceae;g_Shinella;s_sp44350	/	/	1.09	0.99	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Rhodobiaceae;g_NA;s_sp44450	/	1.78	/	/	/	0.30	0.30	0.23
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhizobiales;f_Xanthobacteraceae;g_Variibacter;s_sp44543	/	1.02	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Labrenzia;s_alba	/	0.51	/	/	/	/	/	2.99
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Paracoccus;s_carotinifaciens-marcusii	/	/	/	/	/	0.76	1.34	1.84
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodobacterales;f_Rhodobacteraceae;g_Paracoccus;s_tibetensis	/	/	/	/	/	1.82	2.52	0.23
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_NA;g_NA;s_sp45944	/	1.02	/	/	/	/	/	0.92
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Dongia;s_mobilis	/	/	/	2.48	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Rhodospirillales;f_Rhodospirillaceae;g_Pelagibius;s_sp46177	/	1.78	/	/	/	0.15	0.15	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Erythrobacteraceae;g_Altererythrobacter;s_sp47487	2.34	/	/	/	/	0.15	0.30	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Erythrobacteraceae;g_Altererythrobacter;s_sp47512-sp47559	/	/	/	/	/	3.18	1.19	0.69
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Erythrobacteraceae;g_Erythrobacter;s_aquimaris	/	/	/	/	/	/	/	1.15
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Novosphingobium;s_sp47603	/	/	/	1.24	/	/	/	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Sphingomonas;s_NA	2.34	/	/	1.49	0.20	/	0.15	/
k_Bacteria;p_Proteobacteria;c_Alphaproteobacteria;o_Sphingomonadales;f_Sphingomonadaceae;g_Sphingomonas;s_naasensis	/	/	1.09	/	0.10	/	/	/

k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__Hydrogenophaga;s__bisanensis-pseudoflava	/	/	/	/	/	1.06	3.86	0.69
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__Leptothrix;s__ginsengisoli	1.56	/	1.09	0.25	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Comamonadaceae;g__Variovorax;s__sp49201	/	/	1.09	0.74	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Burkholderiales;f__Oxalobacteraceae;g__Massilia;s__flava	/	/	1.09	/	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Rhodocyclales;f__Rhodocyclaceae;g__Azoarcus;s__sp50304-sp50306	/	/	/	/	/	0.15	4.60	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Rhodocyclales;f__Rhodocyclaceae;g__Azoarcus;s__sp50305	/	/	/	/	/	3.33	6.53	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Betaproteobacteria;o__Rhodocyclales;f__Rhodocyclaceae;g__Azoarcus;s__sp50306	/	/	/	/	/	1.97	5.49	1.38
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Deltaproteobacteria;o__Myxococcales;f__Haliangiaceae;g__Haliangium;s__sp53722	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Deltaproteobacteria;o__Myxococcales;f__NA;g__NA;s__sp53475	/	0.25	1.09	/	/	/	/	0.23
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Deltaproteobacteria;o__Myxococcales;f__Sandaracinaceae;g__NA;s__sp54071	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Deltaproteobacteria;o__Myxococcales;f__Sandaracinaceae;g__NA;s__sp54071-sp54110	2.34	/	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Deltaproteobacteria;o__Myxococcales;f__Sandaracinaceae;g__NA;s__sp54110	5.47	0.51	/	0.25	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Aeromonadales;f__Aeromonadaceae;g__Oceanisphaera;s__sp56188	/	/	/	/	/	4.24	1.78	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Chromatiales;f__Chromatiaceae;g__Rheinheimera;s__aquimaris	/	/	/	/	/	2.57	0.30	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Enterobacter;s__NA	/	/	/	0.25	13.00	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Enterobacter;s__cloacae-ludwigii	/	/	/	/	2.50	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Enterobacter;s__cloacae-ludwigii-sp58653	/	/	/	3.26	0.25	2.90	0.45	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Enterobacter-Kosakonia;s__Enterobacter-cloacae-cowanii	/	/	/	/	3.50	0.15	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Enterobacter-Kosakonia;s__Enterobacter-cowanii	/	/	/	/	1.80	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Enterobacter-Salmonella;s__NA	0.78	/	/	/	1.70	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Klebsiella;s__oxytoca	/	/	/	/	1.40	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Enterobacteriales;f__Enterobacteriaceae;g__Klebsiella-Salmonella;s__enterica-oxytoca	/	/	/	/	2.50	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Halomonadaceae;g__Halomonas;s__desiderata-nitritophilus	/	/	/	/	/	/	/	1.84
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Halomonadaceae;g__Halomonas;s__nitritophilus	/	/	/	/	/	0.30	0.15	5.06
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Oceanospirillales;f__Halomonadaceae;g__Halomonas;s__songnenensis	/	/	/	/	/	0.45	1.04	0.23
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__Acinetobacter;s__haemolyticus	/	/	/	/	/	1.51	0.15	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Moraxellaceae;g__NA;s__sp62742	/	/	/	/	/	/	/	1.38
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__Pseudomonas;s__NA	/	/	/	0.25	4.70	5.75	1.04	0.92
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__Pseudomonas;s__kuykendallii	/	/	/	/	/	/	0.15	1.61
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__Pseudomonas;s__pseudoalcaligenes	/	/	/	/	/	5.45	6.82	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__Pseudomonas;s__stutzeri	/	/	/	/	/	1.21	0.89	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Pseudomonadales;f__Pseudomonadaceae;g__Pseudomonas;s__stutzeri-xanthomarina-zhaodongensis	/	/	/	/	0.20	2.27	0.15	1.61
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__NA;g__Acidibacter;s__sp65535	/	0.25	/	1.24	0.10	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__NA;g__NA;s__sp64853	/	1.53	/	/	/	/	/	0.23
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__NA;g__Steroidobacter;s__agariperforans	/	0.25	/	1.49	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__NA;g__Steroidobacter;s__sp65574	0.78	0.25	/	1.73	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__NA;g__Steroidobacter;s__sp65578	/	1.27	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__NA;g__Steroidobacter;s__sp65579	0.78	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Nevskiaceae;g__Hydrocarboniphaga;s__sp64930	/	/	/	2.97	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Luteimonas;s__aestuarii	/	/	/	/	/	1.97	0.89	0.46
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Pseudofulvimonas;s__sp65166	/	/	/	/	/	1.06	0.15	/
k_Bacteria;p__Proteobacteria;c__Gammaproteobacteria;o__Xanthomonadales;f__Xanthomonadaceae;g__Stenotrophomonas;s__maltophilia	/	/	/	/	2.20	/	/	/
k_Bacteria;p__Saccharibacteria;c__NA;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp66022	/	/	1.09	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Saccharibacteria;c__NA;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp66099	/	/	/	/	/	/	/	1.61
k_Bacteria;p__Saccharibacteria;c__NA;o__NA;f__NA;g__NA;s__sp66123	2.34	/	/	/	/	/	/	/
k_Bacteria;p__Verrucomicrobia;c__Spartobacteria;o__Chthoniobacterales;f__NA;g__NA;s__sp69193	/	1.02	/	/	/	/	/	/

Prilog 9.2.

Slika 1. Standardna kriva potrošnje ACC 0.05-0.3mmol/L dobijena ninhidrinskim testom



Biografija kandidata

Specijalista biolog Milica Dragojević, rođena je 06.11.1988. godine u Valjevu, Republika Srbija, gde je završila Valjevsku gimnaziju. Osnovne akademske studije završila je na Biološkom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, modul Biologija. Master akademske studije završila je 2013. godine na istom fakultetu, modul Biologija mikroorganizama, odbranivši master rad na temu: “Određivanje antimikrobnog efekta propolisa iz različitih regiona Srbije na odabrane Gram-negativne bakterije” sa prosečnom ocenom 9,5.

Specijalističke akademske studije studijskog programa Mikrobiologija završila je 2015. godine, takođe na Biološkom fakultetu, odbranom specijalističkog rada na temu: “Izolacija i karakterizacija vrsta *Azotobacter* iz različitih zemljišta” sa prosečnom ocenom 10.

Doktorske akademske studije upisala je 2016/2017. na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, studijski program Poljoprivredne nauke, uža naučna oblast Ekološka mikrobiologija.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Milica Dragojević

Broj indeksa: ML160029

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

Halotolerantne mikrobne zajednice – diverzitet i sposobnost stimulacije biljnog rasta

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova
- da su rezultati korektno navedeni
- da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora:

U Beogradu, _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Dragojević Milica

Broj indeksa: ML160029

Studijski program: Poljoprivredne nauke

Naslov rada: Halotolerantne mikrobne zajednice – diverzitet i sposobnost stimulacije biljnog rasta

Mentor: Prof. dr Jelena Jovičić-Petrović

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predala radi pohranjenja u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora:

U Beogradu, _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku “Svetozar Marković” da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Halotolerantne mikrobne zajednice – diverzitet i sposobnost stimulacije biljnog rasta koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predala sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučila.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo - nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo - nekomercijalno - bez prerade (CC BY-NC-ND)
- ④ 4. Autorstvo - nekomercijalno - deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo - bez prerade (CC BY-ND)
6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

Potpis autora:

U Beogradu, _____

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda