

UNIVERZITET U BEOGRADU
BIOLOŠKI FAKULTET

Marija I. Petrović

**Preoblikovanje rizosfernog mikrobioma agrarnih
useva implementacijom novodizajniranih
bakterijskih formulacija sa potencijalom
biokontrole i promocije rasta biljaka**

Doktorska disertacija

Beograd, 2026

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF BIOLOGY

Marija I. Petrović

**Reshaping of rhizosphere microbiome of
agricultural crops using newly developed bacterial
formulations with biocontrol and plant growth-
promoting potential**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026

MENTORI I ČLANOVI KOMISIJE ZA ODBRANU DOKTORSKE DISERTACIJE

Mentor:

Dr Ivica Dimkić, naučni savetnik
Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

Članovi komisije za pregled, ocenu i javnu odbranu doktorske disertacije:

dr Branko Jovčić, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet

dr Nikola Unković, docent i viši naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet;

dr Nemanja Stanisavljević, naučni savetnik, Univerzitet u Beogradu - Institut za molekularnu genetik i genetičko inženjerstvo.

Datum odbrane: _____

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija realizovana je na Katedri za biohemiju i molekularnu biologiju, Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod rukovodstvom naučnog savetnika dr Ivica Dimkića. Ovom prilikom želim da se zahvalim:

Svom mentoru, dr Ivici Dimkiću, na osmišljavanju istraživačke teze, kao i u pripremi naučnih publikacija i učešću na konferencijama. Zahvaljujem se i na nesebičnom deljenju teorijskog i praktičnog znanja, trudu i posvećenosti tokom realizacije ove disertacije, kao i na pruženoj mogućnosti za stručno usavršavanje u inostranstvu.

Pokoynom prof. dr Đorđu Firi na njegovoj velikodušnosti, nesebičnosti, izuzetnom znanju, podršci, iskrenosti i razumevanju. Njegova posvećenost i ljudskost ostavili su trajan trag.

Slavoljubu Vukićeviću i firmi FERTICO d.o.o. na finansijskoj podršci kroz projekat "Razvoj i primena novih agrarnih proizvoda na bazi bakterijskih endofitskih i epifitskih inokulanata, biofertilizatora i biokontrolnih agenasa u održivoj poljoprivredi" u okviru kog je realizovana disertacija, kao i na obezbeđenim uslovima i prostoru za izvođenje dela eksperimentalnog rada. Takođe, zahvaljujem se svim kolegama iz firme FERTICO d.o.o., a posebno Danijelu Mitiću i Aleksandri Bešlić na podršci i pomoći u realizaciji eksperimenata.

Međunarodnom centru za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju (ICGEB) u Trstu i prof. dr Vittoriju Venturiju na ustupljenim resursima i prostoru, učešću u osmišljavanju pojedinih eksperimenata. Takođe, zahvaljujem se svim kolegama iz centra na nesebičnoj podršci, posebno Iris Bertani na pomoći u realizaciji eksperimenata, kao i Cristini Bez na sprovođenju metabarkoding analiza, obradi podataka i učešću u pisanju naučnog rada.

Dr Tamari Janakiev na podršci tokom eksperimentalnog rada, kao i na korisnim sugestijama i savetima tokom pisanja doktorske teze i naučnog rada.

Zahvaljujem se Katedri za algologiju i mikologiju na ustupljenim resursima i prostoru za realizaciju eksperimentalnog dela teze, kao i prof. dr Milici Ljaljević Grbić i doc. dr Nikoli Unkoviću na nesebičnom deljenju teorijskog i praktičnog znanja, učešću u pisanju naučnog rada, kao i na korisnim sugestijama i korekcijama.

Prof. dr Gordani Subakov Simić na pruženoj podršci i obezbeđenim uslovima za realizaciju eksperimentalnog dela doktorske teze.

Centru za forenzičku i primenjenu molekularnu genetiku na ustupljenom prostoru, resursima i pruženoj edukaciji. Posebnu zahvalnost dugujem prof. dr Dušanu Kečkareviću i dr Vanji Tanasić.

Institutu za proučavanje lekovitog bilja "Dr Josif Pančić" na ustupljenim resursima i prostoru za realizaciju eksperimentalnog dela rada, a posebno naučnom savetniku dr Tatjani Stević na uspešnoj saradnji, kao i na učešću u komisiji za prijavu teme doktorske disertacije.

Istraživačko-razvojnem institutu Tamiš u Pančevu, Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu i kompaniji Sunoko u Kovačici na ustupljenim resursima i prostoru za realizaciju eksperimentalnog dela teze, a posebnu zahvalnost dugujem dr Živku Ćurčiću na nesebičnoj pomoći i podršci.

Prof. dr Nataši Duduk i dr Bojanu Duduk na ustupljenim resursima i prostoru za realizaciju eksperimentalnog dela teze.

Dr Đorđu Bajiću na osmišljavanju inovativne metode za predviđanje najefikasnijih konzorcijuma, doprinosu u pisanju naučnog rada, kao i na savetima i sugestijama tokom oblikovanja ovog dela istraživanja.

Članovima komisije prof. dr Branku Jovčiću, doc. dr Nikoli Unkoviću i dr Nemanji Stanisavljeviću, zahvaljujem na pažljivom razmatranju ove disertacije, korisnim sugestijama i konstruktivnim komentarima koji su doprineli unapređenju njenog kvaliteta.

Stručnim saradnicama Tamari Drenči i Nevenki Rajić-Bogdanović na pruženoj podršci, pomoći i korisnim savetima.

Mr Zoranu Nikoliću na srdačnosti i nesebičnoj pomoći u vezi sa svim administrativnim pitanjima, informacijama i procedurama tokom doktorskih studija.

Jasni Kovačević, Marini Brusac i Snežani Jeremić na srdačnosti i podršci kojom su svakodnevicu činile toplijom. Posebnu se zahvaljujem Vojci Simović, čija je brižnost i vedrina doprinela stvaranju porodične atmosfere.

Kolegama i prijateljima Katarini Kruščić i Nenadu Antiću na nesebičnoj podršci, pomoći, poverenju, prijateljstvu i zajedničkim trenucima koji su učinili svakodnevicu lepšom i ispunjenijom. Takođe, zahvaljujem se Katarini na učešću u obradi podataka sekvenciranja genoma i metabarkoding analiza, učešću u pisanju naučnog rada, razradi metodologije, kao i na njenom trudu, radu i podršci tokom svih faza realizacije ovog istraživanja.

Kolegi i prijatelju Nemanji Ristoviću na nesebičnoj podršci, razumevanju, razmeni ideja i iskrenom prijateljstvu.

Svim kolegama sa galerije na podršci, toplini i prijateljstvu.

Od srca se zahvaljujem svojoj porodici i prijateljima na nesebičnoj podršci, razumevanju, ljubavi, ohrabrenju, veri u mene i radovanju svim mojim dosadašnjim uspesima.

Na kraju, zahvaljujem se sebi na upornosti, snazi, istrajnosti, radoznalosti i veri u sebe, koje su me vodile kroz sve faze izrade doktorske disertacije.

Preoblikovanje rizosfernog mikrobioma agrarnih useva implementacijom novodizajniranih bakterijskih formulacija sa potencijalom biokontrole i promocije rasta biljaka

Sažetak

Klimatske promene i fitopatogene gljive značajno ugrožavaju šećernu repu i pšenicu, zbog čega raste potreba za održivim alternativnim strategijama zasnovanim na primeni korisnih bakterija. Cilj disertacije bio je ispitivanje diverziteta i funkcionalnog potencijala bakterija izolovanih iz šećerne repe i pšenice u promociji rasta biljaka, toleranciji na abiotički stres i biokontroli patogena. Rezultati su pokazali da struktura mikrobioloških zajednica zavisi od tipa uzorka i genotipa domaćina, dok su izolati pokazali izražen *in vitro* potencijal u promociji rasta biljaka i biokontroli patogena. Ogledi u saksijama pokazali su Mix3 bio je najefikasniji u povećanju diverziteta bakterija šećerne repe, a Mix2 u povećanju biomase. Integracija kultivacionog i metabarkoding pristupa omogućila je detaljniji uvid u kolonizaciju i perzistentnost izolata, dok se model pregleda funkcionalnosti zajednice pokazao efikasnijim u odabiru konzorcijuma od tradicionalnih pristupa. Konzorcijum Tp14 povećao je suhu masu korena i nadzemnog dela pšenice za 59% i 31%. T9 i T10 povećali su i prinos i sadržaj šećera, dok su najveća povećanja prinosa zabeležena kod tretmana T7 na lokalitetu Tamiš (20%) i tretmana T2 i T5 na lokalitetu Novi Sad (oko 21%). Infekcija fitoplazmom narušila je diverzitet bakterija u korenu i rizosferi šećerne repe, dok je Mix3 delimično ublažio ove promene i pokazao sposobnost supresije vrsta roda *Cercospora*. Genomske analize potvrdile su prisustvo gena odgovornih za sintezu siderofora i antimikrobnih jedinjenja, uz odsustvo gena povezanih sa virulencijom kod većine izolata. Rezultati ukazuju da integracija diverzitetskih, funkcionalnih i genomskih podataka predstavlja pouzdanu osnovu za razvoj mikrobioloških konzorcijuma za održivu poljoprivredu.

Ključne reči: bakterijski konzorcijumi, biokontrola, jednačine funkcionalnog efekta, održiva poljoprivreda, PGP bakterije, pšenica, stabilnost mikrobioma, šećerna repa

Naučna oblast: Molekularna biologija

Uža naučna oblast: Molekularna mikrobiologija i biotehnologija

Reshaping of rhizosphere microbiome of agricultural crops using newly developed bacterial formulations with biocontrol and plant growth-promoting potential

Abstract

Climate change and phytopathogenic fungi pose significant threats to sugar beet and wheat, creating a growing need for sustainable alternative strategies that use beneficial bacteria. The aim of the dissertation was to investigate the diversity and functional potential of bacteria isolated from sugar beet and wheat in promoting plant growth, tolerance to abiotic stress, and pathogen biocontrol. The results showed that the structure of microbial communities depended on sample type and host genotype, while the isolates demonstrated pronounced *in vitro* potential for plant growth promotion and pathogen biocontrol. Pot experiments showed that Mix3 was the most effective in increasing the bacterial diversity of sugar beet, whereas Mix2 had the greatest effect on biomass increase. Integration of cultivation-based and metabarcoding approaches enabled more detailed insight into isolate colonization and persistence, while the community-function landscape model proved more efficient in consortium selection compared with traditional approaches. Consortium Tp14 increased wheat root and shoot dry mass by 59% and 31%, respectively. T9 and T10 increased both yield and sugar content, while the highest yield increases were observed for treatment T7 at the Tamiš locality (20%) and treatments T2 and T5 at the Novi Sad locality (approximately 21%). Phytoplasma infection disrupted bacterial diversity in the root and rhizosphere of sugar beet, whereas Mix3 partially mitigated these changes and demonstrated the ability to suppress *Cercospora* spp. Genomic analyses confirmed the presence of genes responsible for siderophore and antimicrobial compound biosynthesis, along with the absence of virulence-associated genes in most isolates. The results suggest that integrating diversity, functional, and genomic data provides a reliable foundation for developing microbial consortia for sustainable agriculture.

Keywords: bacterial consortia, biocontrol, functional effect equations, microbiome stability, PGP bacteria, sugar beet, sustainable agriculture, wheat

Scientific field: Molecular biology

Scientific subfield: Molecular microbiology and biotechnology

SADRŽAJ:

1. UVOD	1
1.1 Biljke kao holobionti i značaj mikrobioma	1
1.2 Sekundarni metaboliti endofitskih i rizosfernih bakterija	1
1.3 Interakcija bakterija i biljke domaćina	2
1.4 Abiotički i biotički stresovi koji ograničavaju prinos šećerne repe i pšenice	3
1.5 Izazovi savremene poljoprivrede.....	6
1.6 Mikrobiološki konzorcijumi kao strategija za održivu proizvodnju	6
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	8
3. MATERIJAL I METODE	9
3.1 Medijumi korišćeni u istraživanju	9
3.2 Rastvori korišćeni u istraživanju	15
3.3 Uzorkovanje biljnog materijala	17
3.4 Priprema uzoraka biljnog materijala	17
3.5 Izolacija ukupne DNK iz semena hibrida šećerne repe, priprema biblioteke i sekvenciranje naredne generacije (<i>eng. Next-Generation Sequencing, NGS</i>)	18
3.5.1 Obrada sekvenci i taksonomska anotacija uzoraka semena hibrida šećerne repe	18
3.5.2 Bioinformatičke i statističke analize uzoraka semena hibrida šećerne repe.....	18
3.6 Izolacija endofitnih bakterija iz semena i korena	19
3.7 Izolacija vrsta roda <i>Bacillus</i> iz zemljišta	19
3.8 Molekularna identifikacija kultivabilnih bakterija	19
3.8.1 Izolacija genomske DNK.....	19
3.8.2 Umnožavanje gena za 16S rRNK, provera genomske DNK i amplikona, prečišćavanje amplikona i sekvenciranje	20
3.8.3 Filogenija i taksonomija	20
3.9 <i>In vitro</i> testovi na izolatima šećerne repe i pšenice	20
3.9.1 Detekcija fiksacije azota	20
3.9.2 Sposobnost rojenja i plivanja po podlozi.....	21
3.9.3 Solubilizacija fosfata	21
3.9.4 Detekcija produkcije IAA	22
3.9.5 Produkcija egzopolisaharida (<i>eng. Exopolysaccharides, EPS</i>)	22
3.9.6 Produkcija siderofora.....	22
3.9.7 Produkcija ACC deaminaze	22
3.9.8 Produkcija cijanovodonične kiseline (HCN)	23
3.9.9 Tolerancija na stres soli.....	23
3.9.10 Tolerancija na stres suše	24
3.9.11 Tolerancija na toksične metale	24
3.10 Skrining izolata na produkciju ekstracelularnih enzima	25
3.11 <i>In vitro</i> ispitivanje antifungalne aktivnosti	26

3.12 Dizajniranje konzorcijuma šećerne repe tradicionalnim pristupom i inokulacija semena šećerne repe za <i>in planta</i> eksperimente	28
3.12.1 Priprema konzorcijuma i inokulacija semena šećerne repe	28
3.12.2 Uzorkovanje šećerne repe iz <i>in planta</i> ogleda	29
3.12.3 Izolacija ukupne bakterijske DNK iz uzoraka šećerne repe (<i>in planta</i> ogledi)	29
3.12.4 Priprema 16S rRNK amplikonskih biblioteka iz uzoraka šećerne repe (<i>in planta</i> ogledi)	30
3.12.5 Obrada sekvenci i bioinformatičke analize bakterijskih konzorcijuma iz uzoraka šećerne repe (<i>in planta</i> ogledi)	30
3.12.6 Izolovanje DNK iz bakterijskih konzorcijuma šećerne repe i NGS sekvenciranje	31
3.13 Ispitivanje kolonizacije korena i rizosfere hibrida Koala i priprema Rif ^r izolata za kolonizaciju semena u eksperimentima <i>in planta</i>	31
3.14 Dizajniranje konzorcijuma pšenice i šećerne repe modelom pregleda funkcionalnosti zajednice (<i>eng. Community-Function Landscape Model</i>)	32
3.14.1 Priprema konzorcijuma i <i>in vitro</i> testiranje za potrebe modela pregleda funkcionalnosti zajednice	32
3.14.2 Prediktivno modelovanje funkcije zajednice	32
3.14.3 Selekcija konzorcijuma pšenice na osnovu modela pregleda funkcionalnosti zajednice i ogledi <i>in planta</i>	33
3.14.4 Selekcija konzorcijuma šećerne repe na osnovu modela pregleda funkcionalnosti zajednice i ogledi u polju	35
3.15 Uticaj odabranog konzorcijuma na šećernu repu u prisustvu vektora ' <i>Ca. P. solani</i> '	36
3.15.1 Priprema uzorka korena iz eksperimenta transmisije ' <i>Ca. P. solani</i> ' za molekularne i kultivabilne testove	37
3.15.2 Ekstrakcija ukupne bakterijske i fungalne DNK iz korena šećerne repe u ogledima sa ' <i>Ca. P. solani</i> '	37
3.15.3 Obrada sekvenci i taksonomska anotacija uzoraka iz ogleda sa ' <i>Ca. P. solani</i> '	38
3.15.4 Molekularna identifikacija <i>Macrophomina phaseolina</i>	38
3.16 Sekvenciranje genoma bakterijskih kandidata i bioinformatička analiza	39
4. REZULTATI	41
4.1 Analiza alfa i beta diverziteta endofitnih bakterija semena hibrida šećerne repe	41
4.2 Relativna zastupljenost bakterijskih razdela i rodova u semenu hibrida šećerne repe	43
4.3 Analiza diferencijalne zastupljenosti endofitnih bakterija semena između hibrida	45
4.4 Diverzitet kultivabilnih endofita i bakterija rizosfere hibrida šećerne repe	47
4.4.1 Identifikacija izolata iz hibrida Eduarda	50
4.4.2 Identifikacija izolata iz hibrida Tibor	52
4.4.3 Identifikacija izolata iz hibrida Tajfun	53
4.4.4 Identifikacija izolata iz hibrida Koala	53
4.4.5 Identifikacija izolata iz hibrida <i>Cercospora</i> -otporni	54
4.5 Diverzitet kultivabilnih endofita korena i rizosfernih bakterija sorti pšenice	56
4.5.1 Identifikacija izolata iz sorte Centurion	57

4.5.2 Identifikacija izolata iz sorte Genius	58
4.5.3 Identifikacija izolata iz sorte Modern	59
4.6 Rezultati ispitivanja PGP svojstava, enzimske aktivnosti, tolerancije na abiotičke stresove i antifungalnog potencijala bakterijskih izolata iz šećerne repe	61
4.6.1 <i>In vitro</i> evaluacija PGP karakteristika i enzimske aktivnosti izolata iz šećerne repe	61
4.6.2 <i>In vitro</i> evaluacija otpornosti izolata iz šećerne repe na stres suše i soli	66
4.6.3 <i>In vitro</i> evaluacija otpornosti izolata iz šećerne repe na prisustvo toksičnih metala	67
4.6.4 <i>In vitro</i> evaluacija antifungalne aktivnosti izolata iz šećerne repe	68
4.7 Rezultati ispitivanja PGP svojstava, enzimske aktivnosti, tolerancije na abiotičke stresove i antifungalnog potencijala bakterijskih izolata iz pšenice	71
4.7.1 <i>In vitro</i> evaluacija PGP karakteristika i enzimske aktivnosti izolata iz pšenice	71
4.7.2 <i>In vitro</i> evaluacija otpornosti izolata iz pšenice na stres suše i soli	75
4.7.3 <i>In vitro</i> evaluacija otpornosti izolata iz pšenice na prisustvo toksičnih metala	77
4.7.4 <i>In vitro</i> evaluacija antifungalne aktivnosti izolata iz pšenice	78
4.8 Dizajniranje konzorcijuma tradicionalnim metodama i modelom pregleda funkcionalnosti zajednice	79
4.8.1 Dizajn bakterijskih konzorcijuma iz šećerne repe tradicionalnim pristupom	79
4.8.2 Dizajn bakterijskih konzorcijuma iz šećerne repe modelom pregleda funkcionalnosti zajednice	80
4.8.3 Dizajn bakterijskih konzorcijuma iz pšenice modelom pregleda funkcionalnosti zajednice	84
4.9 Inokulacija semena šećerne repe i pšenice i uticaj na rast <i>in planta</i>	87
4.9.1 Efekat konzorcijuma dobijenih tradicionalnim pristupom na rast i prinos šećerne repe	87
4.9.2 Utvrđivanje stepena kolonizacije rizosfere i korenovog sistema	87
4.9.3 Efekat odabranih konzorcijuma i pojedinačnih izolata na rast i prinos pšenice <i>in planta</i>	95
4.10 Procena parametara rasta šećerne repe na oglednim poljima	97
4.11 Analiza mikrobioma hibrida šećerne repe Koala u ogledu sa ' <i>Ca. P. solani</i> '	100
4.11.1 Analiza bakteriobioma hibrida šećerne repe Koala	100
4.11.2 Analiza mikrobioma hibrida šećerne repe Koala	105
4.12 Sekvenciranje celokupnih genoma	106
4.12.1 <i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1	106
4.12.2 <i>Bacillus velezensis</i> C3-19	110
4.12.3 <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> KO3-18	111
4.12.4 <i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19	113
4.12.5 <i>Duffyella gerundensis</i> KO3-44	115
5. DISKUSIJA	117
5.1 NGS profilisanje bakterijskog diverziteta semena hibrida šećerne repe	117
5.2 Kultivabilni diverzitet hibrida šećerne repe i sorti pšenice	118
5.3 PGP aktivnosti izolata iz šećerne repe i pšenice	119
5.4 Sojevi šećerne repe i pšenice u toleranciji abiotičkog stresa	121

5.5 Antagonistički potencijal izolata iz šećerne repe i pšenice	122
5.6 Promocija rasta šećerne repe i pšenice <i>in planta</i>	122
5.7 Uticaj Mix3 konzorcijuma na mikrobiom šećerne repe u transmisijkom ogledu sa ‘ <i>Ca. Phytoplasma solani</i> ’	125
5.8 Uticaj konzorcijuma na rast i prinos šećerne repe u polju	127
5.9 Analiza genoma selektovanih sojeva šećerne repe.....	128
6. ZAKLJUČCI.....	130
7. LITERATURA.....	133
8. PRILOZI	146

1. UVOD

1.1 Biljke kao holobionti i značaj mikrobioma

Biljke žive u simbiozi sa mikrobiomom i zato se posmatraju kao holobionti, pri čemu mikroorganizmi u velikoj meri brojčano nadmašuju ćelije samog domaćina (Berg et al., 2016; Vandenkoornhuyse et al., 2015). Mikrobiom biljaka čine različiti organizmi uključujući gljive, arhee i bakterije. Mikroorganizmi koji žive u asocijaciji sa biljkama mogu kolonizovati njenu unutrašnjost (endosferu) i spoljašnjost (rizosferu, filosferu i karposferu). Rizosfera je uski sloj zemljišta oko korena biljke, koji predstavlja jedan od najsloženijih mikroekosistema i predstavlja mesto intenzivne mikrobiološke aktivnosti (Berg et al., 2016). Zemljište je glavni rezervoar mikroorganizama, a mikrobiom korena se najvećim delom formira horizontalnim prenosom iz zemljišta, dok određeni endofiti korena mogu putem ksilema dospeti i u nadzemne delove biljaka. Dodatno, mikrobiom korena može se prenositi i vertikalno putem semena. Seme predstavlja važan izvor mikroorganizama, pri čemu nakon klijanja određene bakterije iz semena mogu kolonizovati endosferu korena i nadzemnih organa (Compant et al., 2019). Prisustvo specifičnih obrazaca koegzistencije i mikrobioloških mreža ukazuje na to da kolonizacija biljke od strane mikroorganizama nije slučajna, već ciljani proces (Berg et al., 2016). Čak i kada rastu u istoj zemljišnoj sredini, različite biljne vrste grade simbiotske odnose sa izrazito različitim mikrobiološkim zajednicama u rizosferi i korenu (Compant et al., 2019).

Na formiranje mikrobioma rizosfere snažno utiču struktura korena i sastav eksudata, među kojima se izdvajaju aminokiseline, šećeri, organske kiseline, fenolna jedinjenja i drugi sekundarni metaboliti (Gupta et al., 2021). Među aminokiselinama koje se oslobađaju u korenovim eksudatima, triptofan i glicin služe kao prekursori za sintezu indol-3-sirćetne kiseline (*eng. Indole-3-Acetic Acid*, IAA), odnosno cijanovodonične kiseline (*eng. Hydrogen Cyanide*, HCN) (Sehrawat et al., 2022). Genetičke varijacije biljaka mogu menjati profil eksudata i oblikovati strukturu korena, što dovodi do formiranja specifičnih mikrobioloških zajednica. Pokazano je da čak i male genomske promene mogu uticati na sastav mikrobioma (Gupta et al., 2021), dok mikrobiom, zauzvrat, može da oblikuje profil sekundarnih metabolita domaćina (Berg et al., 2016). Tako, biljke koje žive u uslovima abiotičkog stresa, poput nedostatka fosfora ili gvožđa, menjaju svoj metabolički profil i povećavaju izlučivanje citrata, malata ili oksalata. Ove promene obogaćuju rizosferu organskim ugljenikom i privlače korisne mikroorganizme (Santoyo, 2022), koji zauzvrat mogu da oslobode fosfor i gvožđe iz nedostupnih oblika i povećaju njihovu dostupnost biljkama.

1.2 Sekundarni metaboliti endofitskih i rizosfernih bakterija

Endofitske bakterije moraju biti visoko prilagođene specifičnom biljnom okruženju koje kolonizuju, zbog čega se njihov metabolički potencijal često razlikuje od potencijala bakterija koje pretežno borave u zemljištu. Rizosfera, kao sredina izrazito bogata hranljivim materijama, predstavlja izuzetno konkurentno okruženje u kojem bakterije moraju da opstanu u prisustvu brojnih konkurenata i predatora. Shodno tome, rizosferni mikrobiom se karakteriše bogatstvom sekundarnih metabolita, uključujući antibiotike i jedinjenja sa antinematodnim delovanjem (Brader et al., 2014).

Nasuprot tome, obligatne endofitske bakterije suočene su sa znatno manjim kompetitivnim pritiscima unutar biljnih tkiva, što se obično odražava u užem spektru proizvedenih metabolita. Ipak, one mogu sintetisati specifična jedinjenja koja su direktno uključena u uspostavljanje i održavanje interakcije sa biljkom domaćinom. Važno je istaći da značajan broj endofitskih bakterija predstavlja fakultativne kolonizatore biljaka, koji moraju uspešno da se takmiče u rizosferi pre nego što ostvare endofitski način života. Zbog toga, ove bakterije često poseduju metabolički arsenal uključen kako u kompeticiju sa drugim mikroorganizmima, tako i u komunikaciju i interakciju sa biljkom (Brader et al., 2014; Narayanan and Glick, 2022).

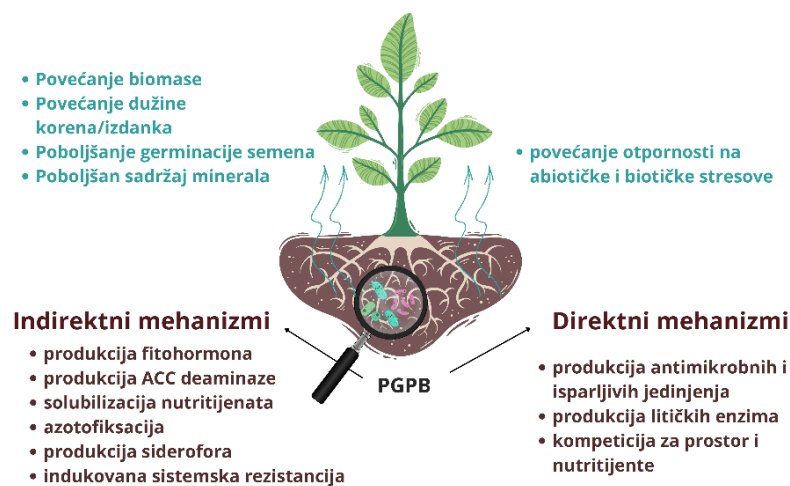
U tom kontekstu, pojam antibiotika ne treba posmatrati isključivo kao sredstva za eliminaciju konkurentskih mikroorganizama, već i kao molekule koje imaju važnu ulogu u intra- i interspecijskoj komunikaciji u rizosferi (Brader et al., 2014). Antimikrobna jedinjenja bakterija mogu se sintetisati ribozomski ili neribozomski, pri čemu neribozomski sintetisani peptidi i poliketidi nastaju delovanjem neribozomskih peptid-sintetaza (eng. *Non-Ribosomal Peptide Synthetases*, NRPS) i poliketid-sintetaza (eng. *Polyketide Synthases*, PKS), nezavisno od ribozoma. Brojne bakterije koje kolonizuju površinu korena koriste hranljivu nišu rizosfere i mogu preći na endofitski način života, pri čemu se posebno izdvajaju vrste iz rodova *Bacillus* i *Pseudomonas*. Njihovi sekundarni metaboliti, uključujući neribozomske lipopeptide (npr. surfaktin, fengicin i iturin), poliketide (difucidin, bacilajen) i druge antibiotike poput fenazina, pirolnitrina i 2,4-diacetilfluoroglukinola, prepoznati su kao ključni faktori antibioze, kompeticije u rizosferi i indukcije odbrambenih mehanizama biljaka (Brader et al., 2014; Dimkić et al., 2022), čime doprinose efikasnoj biološkoj kontroli fitopatogena i zaštiti biljaka u agroekosistemima.

1.3 Interakcija bakterija i biljke domaćina

Biljke proizvode više klasa fitohormona, uključujući auksine, citokinine, brasinoide, gibereline, abscisinsku kiselinu, etilen, jasmonate i strigolaktone, koji imaju ključnu ulogu u regulaciji rasta, razvoja i odgovora na stres. Međusobna komunikacija (tzv. *cross-talk*) i fino usklađivanje različitih fitohormonskih signalnih puteva od suštinskog su značaja za normalan razvoj biljke, kao i za njene stresne i odbrambene odgovore. U tom kontekstu, bakterije povezane sa biljkama mogu značajno uticati na signalne mreže biljke. U korisnim interakcijama između endofitskih bakterija i biljaka, produkcija i modulacija auksina i etilena imaju centralnu ulogu u regulaciji rasta i razvoja biljake. Pored toga, pokazano je da endofiti mogu uticati i na toleranciju biljaka prema abiotičkom stresu, kao što je suša, putem sinteze ili regulacije biljnih hormona. Na primer, dokazano je da abscisinska kiselina i giberelini koje proizvodi endofitna bakterija *Azospirillum lipoferum* učestvuju u ublažavanju simptoma stresa suše kod kukuruza. Zanimljivo je da bakterije povezane sa biljkama ne proizvode isključivo autentične biljne hormone, već i jedinjenja koja funkcionalno oponašaju delovanje prirodnih fitohormona, delujući kao njihovi strukturni analozi (Brader et al., 2014).

Bakterije koje podstiču rast biljaka (eng. *Plant Growth Promoting Bacteria*, PGPB) su korisne bakterije (Slika 1) koje mogu da stimulišu rast biljaka (eng. *Plant Growth Promotion*, PGP) različitim mehanizmima kao što su: fiksacija azota, solubilizacija fosfata, proizvodnja IAA i 1-aminociklopropan-1-karboksilatne (eng. *1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate*, ACC) deaminaze (Glick, 2012). Azot je jedan od ključnih elemenata za rast i razvoj biljaka, neophodan za rast, kao i za formiranje plodova i semena. Kako biljke ne mogu direktno koristiti atmosferski azot, bakterije imaju važnu ulogu u njegovom usvajanju, bilo kroz simbiotske ili nesimbiotske azotofiksirajuće odnose. Fosfor je drugi najznačajniji element u ishrani biljaka, a njegov nedostatak ograničava rast i razvoj. Brojna istraživanja su pokazala da bakterije poseduju sposobnost solubilizacije neorganskih fosfatnih jedinjenja, kao što su trikalcijum-fosfat, dikalcijum-fosfat, hidroksiapatit i prirodni fosfati, prevodeći ih time u rastvorljive forme dostupne biljkama (Fanai et al., 2024). IAA je jedan od najčešće proučavanih fitohormona i smatra se jednim od ključnih mehanizama kojima PGPB promovišu rast biljaka, putem indukcije formiranja listova, razvoja embriona, inicijacije i rasta korena, fototropizma, geotropizma, kao i razvoja plodova (Fanai et al., 2024). Usled klimatski izazvanog stresa često dolazi do pojačane produkcije etilena u biljkama, što može poremetiti fiziološke procese, dovesti do usporenog rasta, pa čak i do odumiranja biljaka ukoliko se ne kontroliše. Bakterije rizosfere koje promovišu rast biljaka (eng. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*, PGPR) ublažavaju ove negativne efekte putem aktivnosti ACC deaminaze, enzima koji razgrađuje ACC, neposredni prekursor etilena, čime se snižava njegov nivo u biljkama i unapređuje njihovo zdravlje i otpornost na stres (Galani et al., 2024). Bakterije sa katalaznom aktivnošću imaju ključnu ulogu u odbrani i zaštiti korenovog sistema biljaka od vodonik-peroksida (Fanai et al., 2024).

Štaviše, PGPB su poznate u zaštiti biljaka domaćina od fitopatogena posredstvom različitih mehanizama koji uključuju proizvodnju antimikrobnih komponenti, hidrolitičkih enzima, HCN-a, kompeticiju za hranljive materije i indukciju sistemske rezistencije (*eng. Immune System Response, ISR*) u biljci domaćinu (Dimkić et al., 2022). Hitinaze, glukonaze i proteaze su enzimi uključeni u kontrolu fungalnih patogena prvenstveno kroz degradaciju ćelijskog zida gljiva, koji zavisi od glikozidnih veza glavnih komponenti (hitina, glukana i proteina), što rezultira njegovim oštećenjem, razgradnjom i curenjem ćelijskog sadržaja. Takođe, poznato je da celulaze i ksilanaze podstiču otpornost biljaka indukujući produkciju odbrambenih antioksidativnih enzima u biljci domaćinu u prisustvu fungalnih patogena (Dimkić et al., 2022). Amilaze imaju važnu ulogu u promociji rasta biljaka kroz razgradnju skroba u zemljištu. Takođe, amilaze mogu doprineti i zaštiti biljaka hidrolizom polisaharidnih komponenti ćelijskog zida patogena, čime se sprečava razvoj fitopatogena i štiti domaćin (Fanai et al., 2024; Galani et al., 2024). HCN je visoko toksično isparljivo jedinjenje koje ima ulogu u inhibiciji razvoja patogenih gljiva, nematoda, insekata uključujući termine, kao i u suzbijanju korova (Fanai et al., 2024).



Slika 1. Mehanizmi PGP bakterija u promociji rasta biljaka.

1.4 Abiotički i biotički stresovi koji ograničavaju prinos šećerne repe i pšenice

Šećerna repa je najvažnija kultura u proizvodnji šećera umerenih klimata i zadovoljava oko 20% svetske proizvodnje šećera (Tayyab et al., 2023), dok je pšenica jedna od dve najvažnije žitarice koje se uzgajaju u Srbiji i intezivno se koristi u proizvodnji hrane (Krnjaja et al., 2018). Na rast i prinos poljoprivrednih kultura u velikoj meri utiču abiotički i biotički faktori. U Srbiji, 2017. godine zabeležen je smanjen prinos kukuruza, suncokreta, soje i šećerne repe između 30-60% usled letnje suše, dok je ukupan gubitak procenjen na 1,5 milijardu dolara (Mimić et al., 2022). Dok suša sama po sebi smanjuje rast šećerne repe i fotosintetsku efikasnost, umeren deficit vode može povećati sadržaj aminokiselina i organskih kiselina u listovima, stvarajući hranljivije okruženje koje pogoduje infestaciji lisnog minera šećerne repe *Pegomya cunicularia*, čije larve prave velike, nepravilne minirajuće površine (Rahman et al., 2026). Pokazano je da PGPB povećavaju toleranciju biljaka na stres izazvan sušom i salinitetom kod mnogih kultura (Brader et al., 2014; Yang et al., 2009). Pored toga, novija istraživanja ukazuju da mikrobiom biljaka doprinosi i aklimatizaciji na niske temperature, što je ključan faktor koji ograničava geografsko rasprostranjenje biljaka, ali i njihov razvoj i prinos u pojedinim regionima (Berg et al., 2016).

Pored ovih stresova, sve veći izazov predstavlja kontaminacija zemljišta toksičnim metalima poput kadmijuma i olova, koji dospevaju u zemljište pre svega kroz upotrebu fosfatnih đubriva i industrijske aktivnosti (Chang et al., 2003). Ovi metali nepovoljno utiču na fiziologiju biljaka,

uključujući smanjenje sadržaja hlorofila (Chang et al., 2003), poremećaje u metabolizmu nitrata i smanjenje akumulacije biomase (Kevrešan et al., 1998). Kao i kod drugih abiotičkih stresova, dokazano je da određene PGPB mogu ublažiti efekte toksičnih metala zahvaljujući sposobnostima heliranja, biosorpcije i jačanja antioksidativnih sistema biljaka, čime doprinose očuvanju prinosa i kvaliteta useva u kontaminiranim agroekosistemima (Gupta et al., 2024).

Šećerna repa i pšenica izložene su različitim fungalnim patogenima čije infekcije dovode do značajnih gubitaka u prinosu i kvalitetu. Pegavost lista je jedna od najraširenijih i najrazornijih folijarnih bolesti šećerne repe koju izaziva *Cercospora beticola* (Tayyab et al., 2023) (Slika 2A-B). Gumoznost korena (eng. *Rubbery taproot disease*, RTD) kod šećerne repe (Slika 2C) povezana je sa infekcijom prouzrokovanom stolbur fitoplazmom 'Candidatus Phytoplasma solani' i danas se beleži širom panonskog regiona, često sa epidemijskim intenzitetom (Duduk et al., 2023). Fitoplazmu 'Ca. P. solani' prenose cikade *Reptalus quinquecostatus*. Zaražene cikade se tokom juna i jula hrane na šećernoj repi, a nakon 3–4 nedelje fitoplazma prelazi u floem, gde počinje da ometa usvajanje vode. Kao posledica toga, na zaraženim biljkama repe javljaju se simptomi hloroze i uvelosti. Najnovija istraživanja iz Srbije ukazala su na snažnu povezanost između RTD-a i truleži korena koju izaziva *Macrophomina phaseolina*. U transmisijskim ogledima, kao i u prirodno zaraženim poljima, teški oblici truleži korena *M. phaseolina* javljali su se gotovo isključivo kod biljaka koje su već bile zaražene fitoplazmom 'Ca. P. solani', dok ni pod ekološki povoljnim uslovima gljiva nije zarazila biljke bez fitoplazme (Duduk et al., 2023). Ova interakcija između biotrofa i nekrotrofa stvara izuzetno izazovan kompleks bolesti za proizvođače. Trenutno ne postoje sorte šećerne repe otporne na 'Ca. P. solani'. Iako pojedine mere suzbijanja postoje, poput primene etarskih ulja (Gouda et al., 2009), bakterije *Bacillus atrophaeus* (Salman et al., 2022), kao i antibiotika koje proizvode *Bacillus* sp. i *Pseudomonas* sp. i pokazuju samo *in vitro* aktivnost protiv *M. phaseolina* (Reetha et al., 2014), efikasni tretmani protiv 'Ca. P. solani' i dalje nedostaju. Fuzariozno uvenuće (žutilo) (eng. *Fusarium yellows*) predstavlja jednu od ekonomski značajnijih bolesti šećerne repe, jer dovodi do velikog smanjenja prinosa korena, kao i redukovano sadržaja saharoze i čistoće soka. Bolest se tipično manifestuje venućem i intervenalnom hlorozom koje najpre zahvataju starije listove. Nekrotični listovi često ostaju pričvršćeni za krunu, a njihove drške poprimaju svetlobraon boju. Simptomi uključuju braon ili sivo-braon diskoloraciju provodnih snopova (Slika 2D-E). Primarni prouzrokovatelj ove bolesti je *Fusarium oxysporum* f. sp. *betae* (FOB) (Hanson and Hill, 2004), dok je *F. graminearum* (Hanson, 2006) prepoznat kao još jedan od uzročnika. Izolati *F. oxysporum* dovode i do bolesti klijanaca i do truleži korena odraslih biljaka, pri čemu je trulež povezana sa *F. oxysporum* f. sp. *radicis-betae*, različitom od patotipa koji uzrokuje fuzariozno uvenuće. Pored toga, *F. solani* uzrokuje poleganje klijanaca ili trulež korena odraslih biljaka (Hanson and Hill, 2004).



Slika 2. Bolesti šećerne repe izazvane fungalnim fitopatogenima; A-B) pegavost lista, C) gumoznost korena, D-E) Fuzariozno uvenuće.

Fuzariozna palež klasa (*eng. Fusarium head blight, FHB*) predstavlja jednu od najvažnijih bolesti pšenice širom sveta (Slika 3A-B). Bolest uzrokuje kompleks vrsta roda *Fusarium*, pri čemu je *F. graminearum* najznačajniji patogen. Osim velikih gubitaka prinosa i kvaliteta zrna, dodatnu zabrinutost predstavlja sposobnost *F. graminearum* da proizvodi mikotoksine, koji mogu izazvati zdravstvene probleme kod ljudi i životinja (Krnjaja et al., 2018).



Slika 3. Fuzariozna palež klasa pšenice.

Kontinuirana kultivacija šećerne repe je još jedno značajno ograničenje, zato što dovodi do pojave „zamora zemljišta“ i smanjenja kako kvaliteta prinosa, tako i sadržaja šećera. Monokultura menja fizičko-hemijske osobine zemljišta, aktivnosti enzima i rast biljaka, a istovremeno utiče na diverzitet i strukturu bakterijskih i fungálnih zajednica. Posebno su pogođene fungalne zajednice, kod kojih dolazi do povećanja zastupljenosti potencijalnih patogena, što može dodatno otežati probleme povezane sa ponovljenom setvom (Huang et al., 2020). Ovo narušavanje zdravlja zemljišta dodatno se pogoršava intenzivnim agrotehničkim praksama, uključujući prekomernu primenu azotnih i fosfatnih đubriva, što dovodi do smanjenja sadržaja organskog ugljenika u

zemljištu, njegove acidifikacije i smanjenja biodiverziteta korisnih mikroorganizama (Yimer and Tarnawa, 2025). Takva degradacija umanjuje prirodnu sposobnost zemljišta za kruženje hranljivih materija i zadržavanje vode, čineći useve još zavisnijim od spoljašnjih inputa (Kitir Sen et al., 2025). Pored toga, sintetički pesticidi negativno utiču na neciljne organizme, uključujući ključnu zemljišnu faunu i korisne mikroorganizme, čime se narušava prirodna otpornost agroekosistema. Njihovo širenje putem drifta, ispiranja i površinskog oticanja može dovesti do kontaminacije vodnih tela, uticati na biljke i dospeti u lanac ishrane, gde je biomagnifikacija ozbiljan rizik po zdravlje ljudi, uključujući pojavu kancera, bolesti bubrega i dijabetesa (Ayilara et al., 2023). Nedavno istraživanje sprovedeno u Vojvodini, koje je obuhvatilo 41 herbicid na 128 lokaliteta, pokazalo je smanjenje njihovih rezidua u odnosu na 2013. godinu, što ukazuje na napredak usled regulatornih mera i primene dobrih poljoprivrednih praksi (Šunjka et al., 2024). Ipak, prisustvo herbicida i dalje predstavlja izazov za zdravlje zemljišta i životne sredine, naglašavajući potrebu za daljim unapređenjem i razvojem strategija usmerenih ka smanjenju ili potpunoj eliminaciji upotrebe pesticida.

1.5 Izazovi savremene poljoprivrede

Pored negativnih posledica upotrebe pesticida, još dve činjenice izazivaju zabrinutost kada je u pitanju poljoprivredna proizvodnja, a to su ekspanzija rasta humane populacije i manjak obradivih površina (Sessitsch et al., 2018; Suchithkumar et al., 2024). Naime, očekuje se ekspanzija rasta svetskog stanovništva koji će prema proceni iznositi 9,5 milijardi ljudi do 2030. godine, pri čemu se naročito predviđa nesrazmerno veći porast u zemljama u razvoju i nerazvijenim državama (Suchithkumar et al., 2024).

Dodatno, migracija stanovništva iz ruralnih u urbana područja u potrazi za boljim životnim standardom stavlja ograničene resurse pod izuzetno veliki pritisak na relativno malim prostorima. To dovodi ekonomije država u rizik i dodatno produbljuje izazove povezane sa održivom poljoprivrednom proizvodnjom i upravljanjem zemljištem. Savremena poljoprivreda suočava se sa nizom izazova koji uključuju klimatske promene, upravljanje zemljištem, održavanje prinosa useva i očuvanje, odnosno povećanje biodiverziteta zemljišta na globalnom nivou. U uslovima rasta populacije i ubrzane urbanizacije, raspoložive površine za gajenje useva smanjuju se veoma značajnom brzinom. Uzimajući u obzir pomenute pritiske na savremenu poljoprivredu, budući razvoj biljne proizvodnje mora se zasnivati na održivim strategijama koje omogućavaju intenziviranje proizvodnje uz očuvanje prirodnih resursa. To podrazumeva integraciju savremenih tehnologija, unapređenih agrotehničkih mera i klimatski pametnih pristupa, a posebno perspektivno rešenje predstavlja primena korisnih mikroorganizama, odnosno pažljivo dizajniranih mikrobioloških konzorcijuma, koji mogu istovremeno povećati prinose, unaprediti zdravlje zemljišta i smanjiti zavisnost od hemijskih inputa (Suchithkumar et al., 2024).

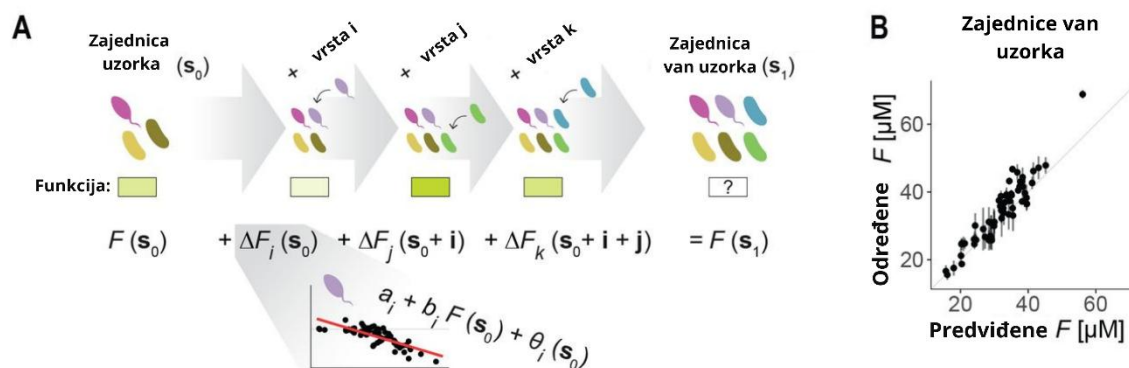
1.6 Mikrobiološki konzorcijumi kao strategija za održivu proizvodnju

Održiv pristup u poljoprivredi može biti rezultat manipulisanja mikrobiomom biljaka, koji ima potencijal da poveća poljoprivrednu proizvodnju, smanji hemijske inpute i emisiju gasova staklene bašte. Iako pojedinačni sojevi PGPB mogu imati snažan efekat, sve više se ističe značaj mikrobioloških konzorcijuma. Konzorcijumi kombinuju funkcionalne osobine više sojeva i pokazuju veću genetičku raznolikost, stabilnost i efikasnost u poređenju sa monokulturama. Oni omogućavaju istovremenu mobilizaciju nutritijenata, supresiju bolesti i jačanje tolerancije na stres. Najnovija istraživanja iz oblasti mikrobiološke ekologije pokazala su da se funkcionalni doprinosi pojedinačnih mikroorganizama u zajednicama mogu opisati predvidivim obrascima koji podsećaju na globalnu epistazu (Diaz-Colunga et al., 2023). Korišćenjem malih biblioteka izolata i parcijalnog testiranja kombinatornih zajednica, pokazano je da se funkcija bilo kog konzorcijuma može aproksimirati jednostavnim linearnim modelima tzv. jednačinama funkcionalnog efekta (*eng. Functional Effect Equations, FEE*), koji kvantifikuju kako se doprinos svake vrste menja u

zavisnosti od funkcionalnog stanja zajednice. Na taj način se smanjuje potreba za velikim brojem *in vitro* eksperimenata, koji su u praksi često ograničeni ili teško izvodljivi.

Značaj korišćenja pristupa modelovanja u kreiranju konzorcijuma prikazano je u radu Diaz-Colunga et al. (2023). Autori su u istraživanju koristili biblioteku od osam bakterijskih izolata iz zemljišta, iz koje se teoretski može formirati 255 različitih konzorcijuma. Kao model-funkciju odabrali su produkciju pioverdina čija je sinteza osetljiva na interakcije između vrsta i mehanizma razmene signala pod nazivom „quorum sensing“. Pet izolata roda *Pseudomonas* i proizvodilo je pioverdine u monokulturi, dok su preostala tri izolata, iz porodice *Enterobacteriaceae*, bila neprodukujuća. Umesto testiranja svih mogućih kombinacija, sastavili su 164 jedinstvena konzorcijuma i eksperimentalno izmerili njihovu funkciju. Svaki konzorcijum predstavljen je vektorom s (Slika 4A), koji opisuje prisustvo ili odsustvo vrste i ($s_i = 0,1$). Konzorcijumi su inokulisani na minimalnom tečnom medijumu sa jednakom početnom gustinom inokuluma za sve vrste, inkubirani 48 sati, a njihova funkcija ($F(s)$) definisana je kao koncentracija pioverdina u potrošenom medijumu. Dobijeni konzorcijumi su pokazali širok raspon funkcionalnih vrednosti, od 0 do 70 μM pioverdina. Na ovaj način autori pokazuju da je moguće rekonstruisati funkcionalni pejzaž čitave mikrobiološke zajednice iz ograničenog broja merenja, što predstavlja značajan konceptualni pomak u dizajniranju i optimizaciji mikrobioloških konzorcijuma. U nastavku su autori izračunali funkcionalni efekat svake vrste ($\Delta F_i(s) = F(s + i) - F(s)$) u odnosu na funkciju pozadinskih zajednica $F(s)$. U skladu sa inicijalnom pretpostavkom, funkcionalni efekti vrsta u različitim zajedničkim kontekstima bili su dobro opisani jednostavnim linearnim modelom oblika $\Delta F_i(s) = a_i + b_i F(s) + \theta_i(s)$ koji su autori definisali kao FEE. Vrednosti preseka (a_i) i koeficijenti nagiba (b_i) razlikovali su se između vrsta, što ukazuje da ih određuju specifične interakcije između pojedinačne vrste i njenih ekoloških partnera. Preostali član $\theta_i(s)$ predstavlja deo interakcija koji ne može biti predviđen linearnim uklapanjem. Takođe, kako bi odredili uspešnost modela, autori su generisali predikcije za produkciju pioverdina u 61 novom konzorcijumu koji prethodno nisu bili eksperimentalno testirani. Nakon toga, ove zajednice su uspostavljene u laboratoriji i njihova funkcija je empirijski izmerena. Dobijeni rezultati pokazali su izuzetno slaganje između predviđenih i izmerenih vrednosti ($R^2 = 0.80$), čime je potvrđena visoka tačnost ovog pristupa (Slika 4B).

Ovakav prediktivni pristup otvara mogućnost dizajniranja mikrobioloških zajednica prilagođenih specifičnim ciljevima – od suzbijanja bolesti i stimulacije rasta biljaka do povećanja otpornosti na abiotičke stresore – čime se nude održive alternative konvencionalnim pesticidima i mineralnim đubrivima. Razumevanje kompleksnih odnosa biljaka i mikroorganizama ne samo da poboljšava naše razumevanje biljaka kao metaorganizama, već takođe pruža mogućnost za kultivisanjem otpornijih i održivih poljoprivrednih useva izloženih različitim biotičkim i abiotičkim stresorima.



Slika 4. Predikcija funkcije konzorcijuma korišćenjem ekološke globalne epistaze (preuzeto iz Diaz-Colunga et al., 2023).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Glavni ciljevi istraživanja bili su izolacija PGP bakterija različitih hibrida/sorti šećerne repe i pšenice, ispitivanje njihovog potencijala u promociji rasta i zaštiti ovih poljoprivrednih kultura.

1. Ispitivanje diverziteta nekultivabilnih bakterijskih zajednica semena hibrida šećerne repe (Eduarda, Tajfun, Tibor, Koala i *Cercospora*-otporni) tehnikama sekvenciranja naredne generacije i bioinformatičkom analizom.
2. Izolacija, molekularna karakterizacija i identifikacija bakterijskih izolata iz rizosfere, korena i semena hibrida šećerne repe i rizosfere i korena sorti pšenice (Centurion, Genius, Modern).
3. Utvrđivanje sposobnosti izolata iz šećerne repe i pšenice u promociji rasta biljaka *in vitro*, njihove enzimске aktivnosti, stepena tolerancije na stres suše, soli i toksične metale, kao i antifungalnog potencijala prema odabranim fitopatogenima.
4. Dizajniranje bakterijskih konzorcijuma sa izolatima najboljih performansi u *in vitro* uslovima, kombinovanjem klasičnih mikrobioloških metoda i statističkim modelovanjem za odabir optimalnih članova konzorcijuma.
5. Ispitivanje potencijala stepena kolonizacije korenovog sistema *in planta*, pojedinačnim izolatima i dizajniranim konzorcijumima tradicionalnim mikrobiološkim metodama i tehnikama sekvenciranja naredne generacije uz definisanje promena sastava bakterijskih zajednica rizosfere i korena u odnosu na negativnu kontrolu.
6. Procena efekta pojedinačnih izolata i konzorcijuma na rast i prinos hibrida šećerne repe na oglednim poljima, kao i na rast i prinos ozime sorte pšenice u kontrolisanim uslovima.
7. Procena efekta konzorcijuma na rast i prinos hibrida šećerne repe izloženim vektorima '*Ca. P. solani*' u odnosu na negativnu kontrolu uz utvrđivanje sekundarne infekcije i pojave truleži korena šećerne repe uzrokovane sa *M. phaseolina*.
8. Sekvenciranje kompletnih genoma izolata od interesa i optimizacija bakterijskih formulacija sa potencijalom za komercijalizaciju.

3. MATERIJAL I METODE

3.1 Medijumi korišćeni u istraživanju

NFb

Jabučna kiselina	5 g
K ₂ HPO ₄	0,5 g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2 g
NaCl	0,1 g
CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,02 g
Rastvor mikroelemenata	2 mL
Bromtimol plavo	2 mL
FeEDTA	4 mL
Vitaminski rastvor	1 mL
KOH	4,5 g
dH ₂ O	do 1000 mL
pH 6,5	
Agar	15 g

LGI

Saharoza	5,0 g
K ₂ HPO ₄	0,2 g
KH ₂ PO ₄	0,6 g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2 g
CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,02 g
Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	0,002 g
Bromtimol plavo	5 mL
FeEDTA	4 mL
Vitaminski rastvor	1 mL
dH ₂ O	do 1000 mL
pH 6,0 - 6,2	
Agar	15 g

LGI sa dodatkom kiselina

Glukoza	10 g
K ₂ HPO ₄	200 mg
KH ₂ PO ₄	0,6 g
Hlorogena kiselina	200 mg
Kafeinska kiselina	100 mg
MgSO ₄ × 7H ₂ O	200 mg
CaCl ₂ × 2H ₂ O	20 mg
Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	2 mg
Bromtimol plavo	5 mL
FeEDTA	4 mL
Vitaminski rastvor	1 mL
dH ₂ O	do 1000 mL
pH 6,8	
Agar	15 g

JNFb

Jabučna kiselina	5,0 g
K ₂ HPO ₄	0,6 g
KH ₂ PO ₄	1,8 g

MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2 g
NaCl	0,1 g
CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,02 g
Rastvor mikroelemenata	2 mL
Bromtimol plavo	2 mL
FeEDTA	4 mL
Vitaminski rastvor	1 mL
KOH	4,5 g
dH ₂ O	do 1000 mL
pH 5,8	
Agar	17 g

LGI-P

Kristalizovani šećer od trske	100 g
K ₂ HPO ₄	0,2 g
KH ₂ PO ₄	0,6 g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2 g
CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,02 g
Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	0,002 g
Bromtimol plavo	5 mL
FeCl ₃ × 6H ₂ O	0,01 g
dH ₂ O	do 1000 mL
pH 5,5	
Agar	17 g

JMV (eng. Yeast Mannitol Agar)

Manitol	5,0 g
K ₂ HPO ₄	0,6 g
KH ₂ PO ₄	1,8 g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2 g
NaCl	0,1 g
CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,2 g
Bromtimol plavo	2 mL
FeEDTA	4 mL
Rastvor mikroelemenata	2 mL
Vitaminski rastvor	1 mL
dH ₂ O	do 1000 mL
pH 5,0 - 5,4	
Agar	25 g

M medijum

C ₄ H ₄ Na ₂ O ₅	5,0 g
CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,02 g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2 g
K ₂ HPO ₄	0,1 g
KH ₂ PO ₄	0,4 g
NaCl	0,1 g
FeCl ₃	0,010 g
Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	0,002 g
Ekstrakt kvasca	0,1 g
Biotin	2 µg
dH ₂ O	do 1000 mL

pH 6,8
Agar 15 g

M medijum bez biotina

C₄H₄Na₂O₅ 5 g
CaCl₂ × 2H₂O 20 mg
MgSO₄ × 7H₂O 200 mg
K₂HPO₄ 100 mg
KH₂PO₄ 0,4 g
NaCl 100 mg
FeCl₃ 10 mg
Na₂MoO₄ × 2H₂O 2 mg
Ekstrakt kvasca 100 mg
dH₂O do 1000 mL
pH 7,2-7,4
Agar 15 g

Supstance su dodavane tačno po zatom redosledu, kako bi se izbeglo taloženje gvožđa ili drugih soli usled visokog pH.

BMS

Krompirov dekstrozni agar 39 g
DL-Jabučuna kiselina 2,5 g
KOH 2,0 g
Kristalizovani šećer od trske 2,5 g
Rastvor vitamina 1 mL
Rastvor mikroelemenata 2 mL
Bromtimol plavo 2 kapi
dH₂O 1000 mL

Jabučna kiselina je rastvorena u 50 mL destilovane vode, nakon čega su dodate dve kapi bromtimol plavog. Zatim je dodat KOH do postizanja pH vrednosti 6,8–7,0, pri čemu je rastvor poprimio zelenu boju. Tako pripremljen rastvor je sjedinjen sa preostalim komponentama, dopunjen destilovanom vodom do zapremine od 1000 mL i potom sterilisan autoklaviranjem.

Tripton soja bujon (eng. *Tryptic Soy Broth*, TSB)

TSB 30 g
dH₂O 1000 mL

Tripton soja agar (eng. *Tryptic Soy Agar*, TSA)

TSB sa dodatkom agara 15g/L

GYC agar (eng. *Glucose Yeast Extract Calcium Carbonate Agar*)

Glukoza 50 g
Ekstrakt kvasca 10 g
CaCO₃ 20 g
Agar 15 g
dH₂O 1000 mL

Hranljivi bujon (eng. Nutrient Broth, NB)

NB	13 g
dH ₂ O	1000 mL

Hranljivi Agar (eng. Nutrient Agar, NA)

NB sa dodatkom agara	15 g/L
----------------------	--------

Luria-Bertani bujon (eng. Luria-Bertani Broth, LB)

Trypton	10 g
Ekstrakt kvasca	5 g
NaCl	5 g
dH ₂ O	1000 mL

Luria-Bertani agar (eng. Luria-Bertani Agar, LA)

LB sa dodatkom agara	15 g/L
----------------------	--------

Krompirov dekstrozni agar (eng. Potato Dextrose Agar, PDA)

PDA	39 g
dH ₂ O	1000 mL

Podloge za ispitivanje antifungalne aktivnosti

PDA	39 g
Ekstrakt kvasca	5 g
Agar	2 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za stokiranje

Trypton	10 g
Ekstrakt kvasca	5 g
NaCl	5 g
Glicerol	200 mL
dH ₂ O	1000 mL

DF minimalni medijum bez izvora azota

Na ₂ HPO ₄	0,6 g
KH ₂ PO ₄	3 g
NaCl	0,5 g
NH ₄ Cl	1 g
Glukoza	0,5 g
Manitol	0,5 g
Arabinoza	0,5 g
Trehaloza	0,5 g
dH ₂ O	997,9 mL
pH 7,0	
Agar	12 g

Rastvori kalcijum hlorida i magnezijum sulfata su zasebno pripremljeni, sterilizovani filtracijom i dodati u DF minimalni medijum bez izvora azota nakon autoklaviranja.

CaCl ₂ 1M	100μL
MgSO ₄ 1M	2 mL

DF minimalni medijum sa izvorom azota

Na ₂ HPO ₄	0,6 g
KH ₂ PO ₄	3 g
NaCl	0,5 g
Glukoza	0,5 g
Manitol	0,5 g
Arabinoza	0,5 g
Trehaloza	0,5 g
dH ₂ O	997,9 mL
pH 7,0	
Agar	12 g

Rastvori kalcijum hlorida i magnezijum sulfata su zasebno pripremljeni, sterilizovani filtracijom i dodati u DF minimalni medijum sa izvorom azota nakon autoklaviranja.

CaCl ₂ 1M	100µL
MgSO ₄ 1M	2 mL

Medijum za detekciju aktivnosti solubilizacije fosfata (NBRIP medijum)

Glukoza	10 g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5 g
MgCl ₂ × 6H ₂ O	5g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,25 g
KCl	0,2 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g
dH ₂ O	1000 mL
pH 7,0	
Agar	12 g

Medijum za detekciju produkcije indol-3-sirćetne kiseline

TSB	6 g
Triptofan	5 mM
pH 7,0	
dH ₂ O	1000 mL

Triptofan je dodat nakon autoklaviranja (prethodno sterilisan filtracijom), kada se medijum prohladio.

Medijum za detekciju produkcije egzopolisaharida (eng. *Yeast Mannitol Agar*, YMA)

Ekstrakt kvasca	0,5 g
Manitol	4 g
dH ₂ O	1000 mL
pH 7,0	
Agar	12 g

Medijum za detekciju sposobnosti rojenja bakterija

NB	13 g
Glukoza	5 g
Agar	5 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za detekciju sposobnosti plivanja bakterija

NB	13 g
Agar	2,5 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti amilaza

NB	8 g
NaCl	4 g
Rastvorljivi skrob	5 g
Agar	10 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti proteinaza

NB	8 g
NaCl	4 g
Želatin	4 g
Agar	10 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti lipaza

TSB	6 g
Tributirin	10 mL
Agar	12 g
pH 7,0	
dH ₂ O	1000 mL

Glicerol-tributirat je dodat u podlogu nakon autoklaviranja, tako što je u sterilnim uslovima TSA pomešan sa glicerol-tributiratom u jednakim količinama nakon hlađenja na 60 °C, a zatim sonifikovan (40 V tokom 3 minuta) dok emulzija nije postala bela (Smeltzer et al., 1992). Nakon toga emulzija je vraćena u podlogu i izlivena u Petri šolje.

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti ksilanaza

Ekstrakt kvasca	2 g
Pepton	5 g
MgSO ₄	5 g
NaCl	0,5 g
CaCl ₂	0,15 g
Ksilan iz drveta breze	1 g
Agar	20 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti mananaza

Ekstrakt kvasca	2 g
Pepton	5 g
MgSO ₄	5 g
NaCl	0,5 g
CaCl ₂	0,15 g
Karuba guma	10 g
Agar	20 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti celulaza

Tripton	10 g
Ekstrakt kvasca	5 g
NaCl	5 g
Karboksimetil celuloza	10 g
Agar	15 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti želatinaza

TSA	40 g
Želatin	16 g
dH ₂ O	1000 ml

Medijum za detekciju hidrolitičke aktivnosti pektinaze

Pektin	5 g
Ekstrakt kvasca	1 g
KH ₂ PO ₄	4 g
Na ₂ HPO ₄	6 g
Agar	15 g
dH ₂ O	1000 mL

Medijum za ispitivanje tolerancije povišenih koncentracija soli

NB sa dodatkom agara	15 g/L
----------------------	--------

Pre autoklaviranja u medijume je dodata odgovarajuća količina NaCl kako bi se postigle željene finalne koncentracije od 1, 3, 5, 8 i 10% NaCl u medijumu.

Medijum za ispitivanje tolerancije suše

TSB	10 g
dH ₂ O	1000 mL

Pre autoklaviranja u medijume su dodate odgovarajuće količine polietilen glikola (PEG 6000), kako bi se postigle željene finalne koncentracije od 5, 10, 20 i 30% u medijumu.

Medijum za ispitivanje tolerancije toksičnih metala

LB sa dodatkom agara	15 g/L
----------------------	--------

Pre autoklaviranja u medijume su dodate odgovarajuće količine olovo-hlorida, kadmijum-nitrata, kobalt-nitrat i živa-hlorida, kako bi se postigle željene finalne koncentracije od 0,005; 0,01; 0,025; 0,05 i 0,1% u medijumu.

3.2 Rastvori korišćeni u istraživanju**Rastvor mikroelemenata**

CuSO ₄ × 5H ₂ O	0,04 g
ZnSO ₄ × 7H ₂ O	0,12 g
H ₃ BO ₃	1,40 g
Na ₂ MoO ₄ × 2H ₂ O	1,0 g
MnSO ₄ × H ₂ O	1,175 g
dH ₂ O	1000 mL

Bromtimol plavo

Bromtimol plavo	5 g
0,2 N KOH	1000 mL

FeEDTA rastvor

FeEDTA	16,4 g
dH ₂ O	1000 mL

Vitaminski rastvor

Biotin	10 mg
Piridoksal-HCl	20 mg
dH ₂ O	100 mL

Vitaminski rastvor je pripremljen rastvaranjem biotina i piridoksal-HCl u 100 mL dH₂O, pri čemu je rastvaranje vršeno u toplom vodenom kupatilu.

Salkovski reagens

70% perhlorna kiselina	50 mL
0,5M FeCl ₃	26,66 mL
dH ₂ O	dopuniti do 100 mL

Lugolov rastvor

Kristalni jod	1 g
Kalijum jodid	2 g
dH ₂ O	300 mL

1% rastvor taninske kiseline

Taninska kiselina	10 g
dH ₂ O	1000 mL

Rastvor je autoklaviran pre upotrebe.

0,1% i 0,2% rastvor Kongo crveno

Kongo crveno	1 ili 2 g
dH ₂ O	1000 mL

1% rastvor cetrimonijum bromida (eng. *Cetyltrimethylammonium Bromide*, CTAB)

CTAB	10 g
dH ₂ O	1000 mL

0,5 × TBE pufer

50 mM Tris-borat
0,5 M EDTA
pH 8,0

35% rastvor trihlor sirćetne kiseline (eng. *Trichloroacetic Acid*, TCA)

Rastvor TCA je pripremljen u dejonizovanoj vodi i čuvan na sobnoj temperaturi u reagens bočicama.

3.3 Uzorkovanje biljnog materijala

U ovom istraživanju korišćeno je pet hibrida šećerne repe (Eduarda, Tajfun, Tibor, Koala i *Cercospora*-otporni) i tri sorti tvrde pšenice (Centurion, Genius, Modern). Uzorci korena i rizosfere hibrida šećerne repe prikupljeni su na oglednom polju Sunoko kompanije u Kovačici, Južnobanatski okrug, Srbija (45°05'06.7"N 20°38'07.2"E). Semena hibrida šećerne repe dobijena su ljubaznošću MK grupe. Uzorci korena i rizosfere sorti pšenice prikupljeni su na oglednom polju PSS Instituta Tamiš u Pančevu, Južnobanatski okrug, Srbija (44°56'35.4"N 20°43'10.6"E). Spisak hibrida i sorti prikazan je u Tabeli 1.

Tabela 1. Odabrane poljoprivredne kulture.

Vrsta	Hibrid/Sorta	Uzorak	Šifra	Boja semena
Šećerna repa (<i>Beta vulgaris</i>)	Eduarda	Rizosfera	ED1	Narandžasta
		Koren	ED2	
		Seme	ED3	
	Tibor	Rizosfera	T1	Tamno plava
		Koren	T2	
		Seme	T3	
	Tajfun	Rizosfera	TF1	Svetlo zelena
		Koren	TF2	
		Seme	TF3	
	Koala	Rizosfera	KO1	Berlinsko plava
		Koren	KO2	
		Seme	KO3	
	<i>Cercospora</i> -otporni	Rizosfera	C1	Narandžasta
		Koren	C2	
		Seme	C3	
Tvrda pšenica (<i>Triticum durum</i>)	Centurion	Rizosfera	MP5	
		Koren	MP6	
	Genius	Rizosfera	MP7	
		Koren	MP8	
	Modern	Rizosfera	MP9	
		Koren	MP10	

3.4 Priprema uzoraka biljnog materijala

Uzorci korena (pet korena po jednom hibridu/sorti) i semena (pet semena po hibridu) oprani su i očišćeni od zemljišnih partikula česmenskom vodom pre početka procesa površinske sterilizacije. Potom su prebačeni u flakone od 50 mL i 15 mL, naliveni sa 70% etanolom, mučkani ili invertovani u trajanju od 1 min, a potom isprani pod vodom. Postupak je ponovljen sa 3% varikinom, pri čemu su uzorci nakon mućkanja u istom vremenskom intervalu, isprani vodom više puta. Posle površinske sterilizacije uzorci su osušeni nakon čega su uzorci korena dodatno usitnjeni sterilnim pincetama i makazama i stavljeni u prethodno sterilisane avane. Koren i semena su potom izmrvljeni u avanu i prebačeni u medijum za stokiranje. Uzorci rizosfere bez prethodnog usitnjavanja prebačeni su u medijum za stokiranje. Pripremljeni stokovi su do početka eksperimenata čuvani na -80 °C.

3.5 Izolacija ukupne DNK iz semena hibrida šećerne repe, priprema biblioteke i sekvenciranje naredne generacije (eng. *Next-Generation Sequencing*, NGS)

Prethodno površinski sterilisana i izmrvljena semena, dodatno su sprášana korišćenjem tečnog azota. Izolacija ukupne DNK je izvršena korišćenjem Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Miniprep kita (Zymo Research, Irvin, SAD) prema uputstvima proizvođača. DNK je kvantifikovana korišćenjem Qubit fluorometrijskog kvantifikatora (Qubit 4 fluorometer, Invitrogen™, Waltham, MA, SAD). Uzorci DNK su komercijalno sekvencirani u kompaniji Novogene Co., Ltd. (Cambridge, UK) koristeći 2 × 250 bp sekvenciranje sa uparenim krajevima (eng. *paired-end*) na MiSeq sekvenceru, u skladu sa uputstvima proizvođača (Illumina, San Dijego, SAD). Prajmeri korišćeni za amplifikaciju V3 i V4 regiona (470 bp) 16SrRNK bili su: 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') i 806R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') (Klindworth et al., 2013).

3.5.1 Obrada sekvenci i taksonomska anotacija uzoraka semena hibrida šećerne repe

Nakon inicijalne provere kvaliteta, prajmeri su uklonjeni korišćenjem cutadapt 3.4 u „paired-end“ režimu sa podrazumevanim podešavanjima. U dalju obradu su uključeni samo parovi očitavanja koji su sadržali oba prajmera. Zatim je izvršena inferencija sekvenci korišćenjem DADA2 R paketa (Callahan et al., 2016). Uklanjanje niskokvalitetnih delova (eng. *Quality Trimming*) očitavanja urađeno je pomoću podrazumevanih parametara u funkciji filterAndTrim, uz dodatne kriterijume: sečenje nakon 223 nt za *forward* i *reverse* očitavanja i odbacivanje očitavanih sekvenci kraćih od 150 nt. Sekvence sa više od tri očekivane greške za *forward* i *reverse* nizove, izračunate na osnovu kvaliteta očitavanja (Q), su eliminisane ($\max EE = c(3,3)$, gde je Q definisan kao $\sum(10^{-(Q/10)})$). Za spajanje uparenih sekvenci korišćen je minimalno preklapanje od 12 nt (podrazumevano). Uklanjanje himera izvršeno je sa podrazumevanim opcijama u removeBimeraDenovo. Taksonomska dodela do nivoa roda izvršena je korišćenjem SILVA 138.1 (silva_nr99_v138.1) seta (<https://zenodo.org/record/4587955>), pomoću IDTAXA (Murali et al., 2018) sa podrazumevanim parametrima i pragom pouzdanosti od 50. Nakon anotacije pomoću baze Silva 138.1, taksonomija je dodatno dopunjena blast pretragom protiv NCBI 16S ribozomske RNK baze podataka (pristup 5. maja 2022). Za anotaciju nedostajućih taksona korišćena je funkcija BBH (eng. *Blast Best Hits*) sa najmanje 98% identičnosti i najmanje 99% pokrivenosti upita, ali samo ako se kompletna taksonomija do najvišeg nivoa poklapala između BBH i Silva anotacije. Anotacija na nivou vrste izvršena je metodom tačnog poklapanja sekvenci (0 nepodudarnosti) u odnosu na objedinjenu Silva bazu vrsta (silva_species_assignment_v138.1 na <https://zenodo.org/record/4587955>) i NCBI bazom 16S rRNK (pristup 5. maja 2022). U slučajevima kada su varijante amplikonskih sekvenci (eng. *Amplicon Sequence Variant*, ASV) poklapale sa više sekvenci, kao anotacija na nivou vrste korišćen je konkatenirani niz koji obuhvata sve tačno poklopljene vrste.

3.5.2 Bioinformatičke i statističke analize uzoraka semena hibrida šećerne repe

Alfa diverzitet, procenjen na nivou ASV, vrsta, rodova, familija i razdela korišćenjem R paketa phyloseq (McMurdie and Holmes, 2013) određen je nakon rarefakcije na ujednačenu dubinu sekvenciranja (101.470 očitavanja, što odgovara uzorku sa najmanjim brojem očitavanja). Za evaluaciju diverziteta korišćeni su indeksi bogatstva taksona Chao1, koji procenjuje pokrivenosti na osnovu zastupljenosti (eng. *Abundance-based Coverage Estimator*, ACE), broj opaženih karakteristika (eng. *Observed Features*, OBS), kao i Simpsonov (eng. *Simpson index*) i Šenonov indeks (eng. *Shannon index*) diverziteta. Univarijantna analiza varijanse (eng. *Analysis of Variance*, ANOVA) korišćena je za poređenje alfa diverziteta između pet hibrida, dok je Danov test prikazao značajne razlike koje su označene različitim slovima iznad plot barova u skladu sa statističkim značajnostima. Beta diverzitet, procenjen na nivou ASV, vrste i roda, analiziran je korišćenjem

dvostruke analize glavnih koordinata (*eng. Double Principal Coordinate Analysis, DPCoA*) (Pavoine et al., 2004). Pre ordinacije uklonjeni su svi ASV prisutni u samo jednom uzorku, kao i oni sa ukupnim brojem očitavanja manjim od 30 u svim uzorcima. Multivarijantna homogenost grupnih disperzija testirana je pomoću PERMDISP2 (Anderson, 2006) na DPCoA matrici distanci. Permutaciona multivarijantna analiza varijanse (*eng. Permutational Multivariate Analysis of Variance, PERMANOVA*) korišćenjem matrica rastojanja (ADONIS) (McArdle and Anderson, 2001) izvršena je da bi se testiralo da li dve ili više grupa imaju sličan sastav, dok je „pairwise“ ADONIS analiza korišćena za ispitivanje razlika između parova grupa. Diferencijalna procena zastupljenosti, agregirana do nivoa vrste nakon iste ordinacije kao za DPCoA, sprovedena je korišćenjem microbiomeMarker paketa (Yang, 2020) sa DESeq2 (Love et al., 2014), uz podrazumevana podešavanja. P-vrednosti su korigovane Bonferoni metodom (*eng. Bonferroni method*), pri čemu je $p < 0,01$ smatrano statistički značajnim. Pre analize diferencijalne abundance isključene su vrste koje su bile prisutne u samo jednom uzorku ili su imale ukupan broj očitavanja manji od 30 u svim uzorcima.

3.6 Izolacija endofitnih bakterija iz semena i korena

Proces izolacije endofitnih bakterija je izvršen površinskim zasejavanjem na agarizovanim podlogama bez azota (NFb, JNFb, LGI, LGI-P, LGI sa dodatkom kiselina, JMV, M medijum, M medijum bez biotina) (Baldani et al., 2014), kao i na GYC, TSA i NA podlogama. Po 100 μL određenog razblaženja (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} i 10^{-4}) početnog stoka naliveno je na svaku od podloga, utrljavano sterilnim štapićima i inkubirano na 30 °C narednih deset dana. Rast kolonija praćen je svakog dana od dana zasejavanja i sa svakom pojavom novog rasta, kolonije su dalje presejavane do čistih kultura na NA podloge. Obzirom da iste bakterije imaju sposobnost formiranja različitih morfologija na podlogama različitog sastava, za finalni odabir izolata korišćen je jedan tip podloge (NA) u cilju bolje selekcije izolata.

3.7 Izolacija vrsta roda *Bacillus* iz zemljišta

Izolacija potencijalnih bakterija iz roda *Bacillus* izvršena je metodom termalne inaktivacije. Subuzorak zemljišta svakog uzorka prebačen je u epruvete sa 3 mL hranljivog medijuma (NB), koje su potom inkubirane na 80 °C u trajanju od 10 minuta. Nakon toga epruvete su inkubirane na 30 °C do pojave rasta. Po pojavi rasta vršeno je zasejavanje na LA podlogu metodom išarane ploče. Na istim podlogama vršeno je i dalje presejavanje kolonija različitih morfologija do čistih kultura koje su potom čuvane u medijumu za stokiranje na -80 °C.

3.8 Molekularna identifikacija kultivabilnih bakterija

3.8.1 Izolacija genomske DNK

Prvobitno je rađena reakcija lančanog umnožavanja (*eng. Polymerase Chain Reaction, PCR*) iz pojedinačnih kolonija (Woodman, 2008). U mikrotube od 1,5 mL sipano je po 25 μL sterilne dejonizovane vode. Sa čistih kultura koje su rasle na NA podlogama vrhom sterilnog nastavka je pokupljena pojedinačna kolonija i potom resuspendovana u 25 μL dejonizovane vode. Tako pripremljeni uzorci su potom inkubirani na 98 °C u hitin bloku u trajanju od 10 minuta. Po završenoj inkubaciji, uzorci su kratkotrajno centrifugirani i potom je po 5 μL svakog uzorka mešano sa pripremljenom PCR smešom. Kod izolata kod kojih se PCR metodom iz kolonije nisu amplifikovali geni za 16S rRNK, rađena je izolacija genomske DNK pomoću kita za izolaciju prema uputstvu proizvođača (Quick-DNATM Fungal/Bacterial Miniprep Kit, Zymo Research, SAD).

3.8.2 Umnožavanje gena za 16S rRNK, provera genomske DNK i amplikona, prečišćavanje amplikona i sekvenciranje

Komponentne korišćene za amplifikaciju gena za 16S rRNK su FastGene Taq ready mix with dye (Nippon Genetics Europe, GmbH, Duren, Nemačka), forward prajmer (fD1Funi-16S – 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), reverzni prajmer (rP2Runi-16S – 5'-ACGGCTACCTTGTTAGGACTT-3') i PCR voda. Finalna zapremina PCR mix-a i uzorka iznosila je 25 μ L (master mix 12,5 μ L, svakog od prajmera po 0,5 μ L, PCR H₂O 6,5 μ L i DNK uzorka 5 μ L). Prilikom amplifikacije gena za 16S rRNK iz prethodno izolovane DNK finalna zapremina PCR mix-a i uzorka takođe je iznosila 25 μ L uz manje izmene u sastavu PCR mix-a (master mix 12,5 μ L, svakog od prajmera po 0,5 μ L, PCR H₂O 10,5 μ L i DNK uzorak 1 μ L). Negativna kontrola sadržala je komponente PCR mix-a i PCR vode u istoj zapremini kao i uzorak. Program za umnožavanje PCR produkta bio je: jedan korak inicijalne denaturacije na 95°C tokom 5 minuta, zatim 30 ciklusa denaturacije na 95 °C tokom 40 sekundi, vezivanje prajmera na 54 °C tokom 40 sekundi i elongacije na 72 °C tokom 90 sekundi, sa završnim korakom elongacije na 72 °C tokom 7 minuta.

Elektroforeza izolovane DNK i amplikona rRNK umnoženih PCR metodom je sprovedena na horizontalnom agaroznom gelu. Gelovi su pravljani otapanjem agaroze u 0,5×TBE puferu uz dodavanje etidijum bromida (0,5 μ g/mL finalna koncentracija) i kao pufer za elektroforezu je takođe korišćen 0,5×TBE. Pri proveru PCR amplikona, u prve bunariće sipano je 5 μ L ledera, dok je u preostale bunare naliveno po 5 μ L amplikona i elektroforeza je tekla pri konstantnom naponu od 70 V i jačini električne struje 300 mA u trajanju od 40 minuta. Gelovi su fotografisani na ChemiDoc-It®² sistemu pod UV svetlom i veličina umnoženih gDNK fragmenata je određivana u odnosu na gDNK fragmente poznatih veličina (100 bp standard DNA Ladder, 100-3000 bp) (Nippon Genetics Europe, BGmbH, Duren, Nemačka). Amplikoni čije je prisustvo zabeleženo na gelu dalje su prečišćavani korišćenjem kita za prečišćavanje (Euroclone spinNAker Gel&PCR DNA Purification Kit, Italija) i ponovo proveravani na agaroznom gelu u cilju krajnje potvrde. Po 5 μ L prečišćenih amplikona je pomešano sa 5 μ L 907R-16S prajmerom (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3') i poslato na uslužno sekvenciranje Sangerovom metodom (Eurofins Genomic Europe Sequencing service, Beč, Austrija).

3.8.3 Filogenija i taksonomija

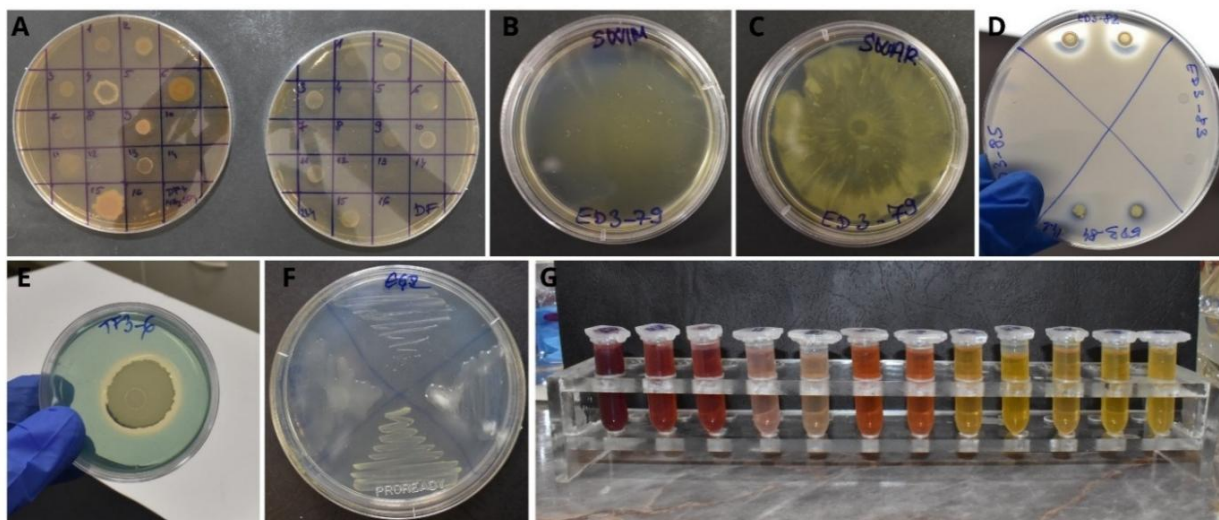
Za identifikaciju bakterijskih sojeva, na osnovu sekvenciranih amplikona gena za 16S rRNK tražene su homologe sekvence referentnih sojeva u GenBank bazi podataka Nacionalnog centra za biotehnoške informacije (*eng. National Center for Biotechnology Information, NCBI*) pomoću algoritma za upoređivanje primarnih bioloških sekvenci BLAST 16S (*eng. Basic Local Alignment Search Tool, BLAST*). Pozicija nukleotida je proveravana ručnim poravnanjem. Korišćene su sekvence najrodnijih sojeva kako bi se obezbedila taksonomska relevantnost. Sekvence referentnih sojeva su preuzete iz GenBank baze podataka. Sekvence su poravnate pomoću CLUSTAL W algoritma (Thompson et al., 1997) implementiranog u BioEdit 7.2.5 programu. Dendrogrami su konstruisani primenom „Neighbor-joining“ algoritma sa Kimura dvoparametarskim modelom supstitucije nukleotida u MEGA 7 programu. Topologija stabala je ocenjena „bootstrap“ metodom od 1000 ponavljanja.

3.9 In vitro testovi na izolatima šećerne repe i pšenice

3.9.1 Detekcija fiksacije azota

Sposobnost endofita da fiksiraju azot utvrđena je zasejavanjem izolata na podloge koje u svom sastavu sadrže azot (DF minimalni medijum sa izvorom azota, DF bez (NH₄)₂SO₄ i

istovremeno na podloge koje su bez azota (DF minimalni medijum bez izvora azota, DF sa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) (Slika 5A).



Slika 5. PGP karakterizacija izolata; A) azotofiksacija, B) plivanje, C) rojenje, D) solubilizacija fosfata, E) produkcija siderofora, F) produkcija egzopolisaharida, G) produkcija IAA

Izolati koji rastu na DF bez izvora azota podrazumevaju se da su azotofiksatori (Gupta and Pandey, 2019). Razlike u interpretaciji rasta na ovim podlogama prikazana je u Tabeli 2.

Tabela 2. Interpretacija rezultata azotofiksacije.

Medijum	Nema fiksacije azota	Fiksacija azota	Slabiji azotofiksator	Efikasniji azotofiksator
DF sa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	+	+	++	+
DF bez $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	-	+	+	++

3.9.2 Sposobnost rojenja i plivanja po podlozi

Sposobnost mobilnosti izolata procenjena je inokulacijom po 5 μL prekonocne kulture u centar polučvrstog medijuma za detekciju rojenja (Slika 5B) i plivanja (Slika 5C). Podloge su inkubirane 24 do 48 časova na 30 °C, nakon čega je određen stepen mobilnosti. Na osnovu obima kolonija, sposobnost rojenja i plivanja opisana je prema intenzitetu kao slaba (+), umerena (++) ili jaka (+++).

3.9.3 Solubilizacija fosfata

Sposobnost endofita da solubilizuju fosfat (Slika 5D) određena je inokulacijom sa po 5 μL radnog stoka izolata na NBRIP podlogu. Podloge su inkubirane na 30 °C u trajanju od 7-14 dana. Pojava prosvetljenih zona oko bakterijskih kolonija je potvrda solubilizacije fosfata. Na osnovu dimenzija zona dodeljena je sposobnost solubilizacije od slabe (+), preko umerene (++) do jake (+++) (Nautiyal, 1999).

3.9.4 Detekcija produkcije IAA

Potencijal izolata poreklom iz šećerne repe za produkciju IAA procenjen je modifikacijom starije metode (Gordon and Weber, 1951). U mikrotubama od 2 mL sipano je po 1 mL medijuma za detekciju IAA. Potom je punim zahvatom mikrobiološke eze od 1 μ L, čista bakterijska kultura inokulisana u mikrotubama sa medijumom i šejkirano je u horizontalnom položaju 24 časa na 30 °C. Kao negativna kontrola korišćen je samo medijum bez bakterija. Nakon inkubacije, sadržaj je centrifugiran na 10 000 rpm u trajanju od 10 minuta. Po 1 mL dobijenog supernatanta je pomešano sa 1 mL Salkovskog reagensa i tako pripremljeni uzorci ostavljeni su u mraku naredna 2 sata. Proizvodnja IAA određena je na osnovu promene boje u odnosu na kontrolu. Ukoliko postoji produkcija IAA, boja rastvora će preći iz žute (kontrola) u crvenu (Slika 5G). Rezultati su opisani na osnovu intenziteta promene boje, koji je proporcionalan aktivnosti: svetlo narandžasta (+), tamno narandžasta (++) , crvena (+++).

3.9.5 Produkcija egzopolisaharida (eng. *Exopolysaccharides*, EPS)

Produkcija egzopolisaharida određena je zasejavanjem izolata na YMA podlogama, metodom išarane ploče (Slika 5F). Podloge su inkubirane 24 do 48 časova na 30 °C. Produkcija egzopolisaharida određena je prema stepenu mukoidnosti izolata nakon inkubacije (Tabela 3). Izolati koji proizvode veliku količinu EPS-a su izrazito mukoidni, dok izolati koji proizvode malo ili nimalo EPS-a su delimično mukoidni ili nemaju mukoidni izgled (Zlosnik et al., 2008).

Tabela 3. Interpretacija rezultata produkcije egzopolosaharida.

Oznaka	Izgled mukoidnosti izolata	Produkcija EPS-a
-	Rast ne pokazuje produkciju EPS-a. Kolonije su suve i matiranog izgleda.	Nema produkcije
+	Vide se dokazi produkcije EPS-a u konfluentnom rastu, ali podloga sadrži pretežno nemukoidne kolonije	Slaba produkcija EPS-a
++	Konfluentni rast i išarani deo podloge su mukoidnog izgleda, dok je rast izolata ravan.	Dobra produkcije EPS-a
+++	Produkcija EPS-a preplavljuje išarani deo podloge i nemoguće je uočiti zasebne poteze eze. Rast izolata je izdignut.	Veoma dobra produkcija EPS-a
+++ ^d	Isto kao i +++ uz pojavu da izolat kaplje na poklopac šolje.	Odlična produkcija EPS-a

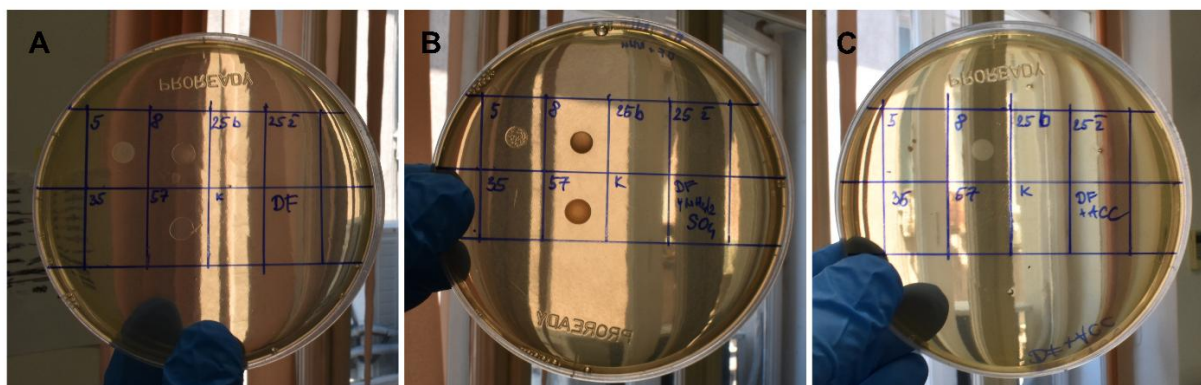
3.9.6 Produkcija siderofora

Proizvodnja siderofora je okarakterisana O-CAS metodom (Pérez-Miranda et al., 2007) sa izvesnim izmenama. U sterilne bunariće (pripremljene od nastavaka zapremine 20-200 μ L) prethodno postavljene na šolje sa hranljivim agarom sipano je 10 μ L prekononočne kulture. Ovako pripremljene šolje su inkubirane 24 časa na 30 °C. Posle inkubacije, velike šolje (\varnothing 90) su prelivene sa po 6 mL hrom azurol S (eng. *Chrome Azurol S*, CAS) medijuma, a male šolje (\varnothing 55) sa po 3 mL. Kada se CAS medijum ohladio i stegao, bunarići su sterilno uklonjeni i šolje su vraćene na inkubaciju na 30 °C do sledećeg dana. Pojava prosvetljenih zona oko bakterijskih kolonija bila je potvrda proizvodnje siderofora (Slika 5E). Na osnovu dimenzija zona dodeljena je sposobnost produkcije od slabe (+), preko umerene (++) do jake (+++).

3.9.7 Produkcija ACC deaminaze

Sposobnost izolata da proizvode ACC deaminazu testirana je praćenjem rasta na DF minimalnoj podlozi, DF minimalnoj podlozi sa dodatkom (NH₄)₂SO₄ (2g/L) i DF minimalnoj podlozi sa dodatkom 3 mM ACC-a (Slika 6). Po 5 μ L prekononočnih kultura je inokulisano na Petrijevim šoljama i inkubirano na 30 °C tokom 72 časa. Izolati su označeni kao proizvođači ACC

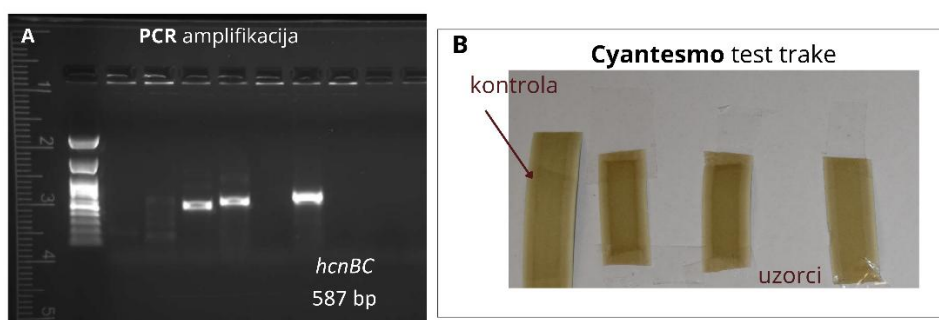
deaminaze ukoliko su ostvarili intenzivniji rast na DF minimalnoj podlozi sa dodatkom ACC-a u odnosu na druge dve podloge (Gupta and Pandey, 2019).



Slika 6. Ispitivanje produkcije ACC deaminaze korišćenjem; A) DF minimalne podloge, B) DF minimalne podloge sa amonijum sulfatom, C) DF minimalne podloge sa dodatkom ACC-a.

3.9.8 Produkcija cijanovodonične kiseline (HCN)

Za prvobitan skrining izolata sa potencijalom proizvodnje HCN, korišćena je PCR metoda amplifikacije *hcnBC* gena. Amplifikacija je izvedena prajmerima HCN-F (5'-ACTGCCAGGGGCGGATGTGC-3') i HCN-R (5'-ACGATGTGCTCGGCGTAC-3) u reakcionoj smeši od 25 μ L koja je sadržala 12,5 μ L Master mix-a, 1 μ L svakog prajmera (10 μ M), 5,5 μ L sterilne dejonizovane vode i 5 μ L uzorka dobijenog PCR metodom iz kolonije. Korišćeni su sledeći uslovi ciklusa: jedan korak početne denaturacije na 95 $^{\circ}$ C u trajanju od 5 min, zatim 30 ciklusa denaturacije na 95 $^{\circ}$ C u trajanju od 1 minuta, povezivanje prajmera pri 58 $^{\circ}$ C tokom 1 minuta i elongacija DNK na 72 $^{\circ}$ C tokom 2 minuta i završni korak elongacije na 72 $^{\circ}$ C 10 min (Dhole and Shelat, 2022). Očekivana dužina amplikona je oko 587 bp. Test sa Cyantesmo trakama (Macherey-Nagel GmbH&Co., Nemačka), kako je opisano u Knežević et al. (2021), primenjen je na izolate koji su imali pozitivne amplikone na gelu, radi finalne potvrde produkcije. Prekonoćne kulture su zasejane na NA podloge sa prethodno zalepljenim trakama (približno 2 cm) na poklopac šolje. Ploče su umotane u parafilm i inkubirane na 30 $^{\circ}$ C. Posle osam dana inkubacije, trake su upoređene sa kontrolnim trakama, pri čemu se promena boje traka iz žute u braon smatrala pozitivnim rezultatom testa. Intenzitet braon boje je direktno povezan sa količinom proizvedenog HCN (Slika 7).

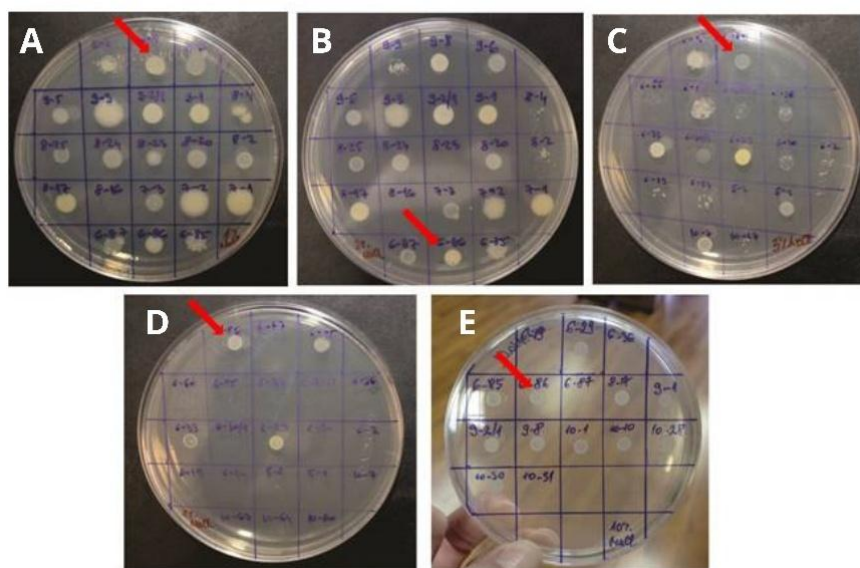


Slika 7. Ispitivanje produkcije HCN.

3.9.9 Tolerancija na stres soli

Hranljive agarizovane podloge, prethodno obogaćene sa 1, 3, 5 i 8% NaCl, korišćene su u testu tolerancije na stres soli (Gupta and Pandey, 2019). Kvadrati dužine 2 cm podeljeni su na ploče

markerom i iscrtani, a u svaki kvadrat je inokulisano po 5 μL prekonoćne kulture izolata. Šolje su inkubirane 24 časa na 30 °C, nakon čega je procenjen rast izolata. Intenzitet rasta je vizuelno ocenjen na osnovu dijametra kolonija i izražen pomoću oznaka +, ++ i +++, u poređenju sa rastom pri najnižoj koncentraciji soli (Slika 8).



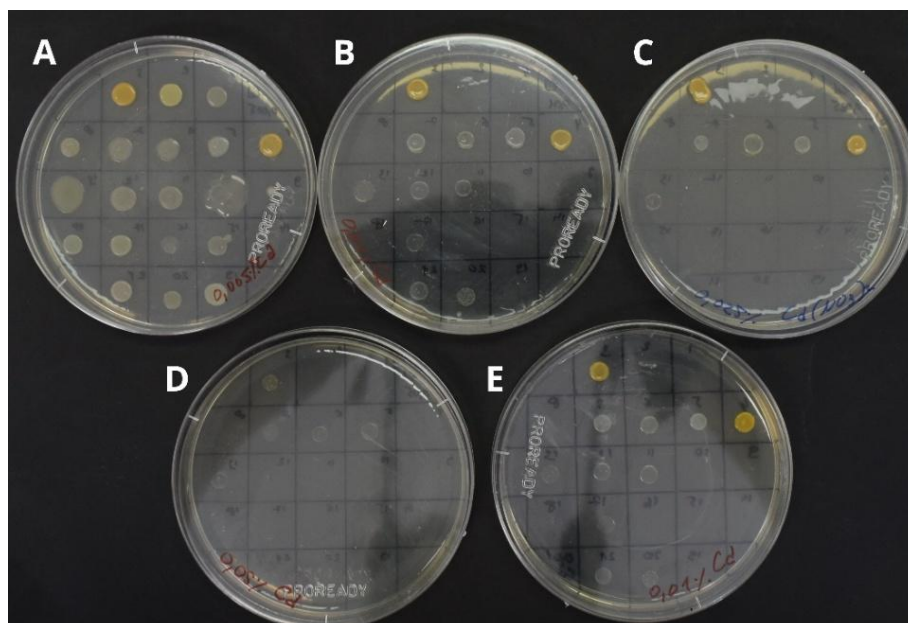
Slika 8. Test na toleranciju soli; A) 1%, B) 3%, C) 5%, D) 8%, E) 10%.

3.9.10 Tolerancija na stres suše

Test tolerancije na sušu sproveden je spektrofotometrijskim određivanjem intenziteta bakterijskog rasta u hranljivom medijumu (TSB 10g/L) sa dodatkom 5, 10, 20 i 30% polietilen glikola (PEG 6000) koji odgovara indukovanom stresu suše od -0,146 MPa, -0,292 MPa, -0,584 MPa i -0,876 MPa. Prvobitno su pripremljene prekonoćne kulture izolata u TSB-u (10g/L) pri 150 rpm 30 °C. Potom, prekonoćnim kulturama rast je procenjen merenjem optičke gustine (*eng. Optical Density*, OD) na 600 nm pomoću spektrofotometra. Svi uzorci su diluirani potom u TSB-a do 0,4 OD₆₀₀, pri sterilnim uslovima. Čist TSB medijum i TSB sa dodatkom različitih koncentracija PEG-a inokulisani su sa 1% ovako pripremljenih izoraka i ostavljeni da se rotiraju (150 rpm) preko noći na 30 °C. Inokulisani medijum bez PEG-a korišćen je kao kontrola. Nakon inkubacije, rast je procenjen merenjem OD na 600 nm pomoću spektrofotometra (Ali et al., 2013). Evaluacija procenta rasta izolata u različitim koncentracijama PEG-a je izvršena u poređenju sa kontrolom, sa optičkom gustinom kontrole podešenom na vrednost od 100%. Ovi procentualni rezultati su zatim označeni simbolima koji odgovaraju različitim intervalima koncentracije: + za opseg 0-30%, ++ za opseg 30-60% i +++ za opseg od 60-100%.

3.9.11 Tolerancija na toksične metale

Hranljive agarizovane podloge (LA), prethodno obogaćene sa 0,005, 0,01, 0,025, 0,05 i 0,1% olovo-hlorida, kadmijum-nitrata, kobalt-nitrata i žive-hlorida korišćene su u testu tolerancije na toksične metale. Po 5 μL prekonoćnih kultura izolata inokulisano je na svaku od podloga i ostavljeno na inkubaciju na 30 °C tokom 72 časa (Slika 9). Nakon inkubacije, određena je minimalna inhibitorna koncentracija (*eng. Minimal Inhibitory Concentration*, MIC) kao najmanja koncentracija metala za koju se smatra da inhibira rast bakterija (Slama et al., 2019).



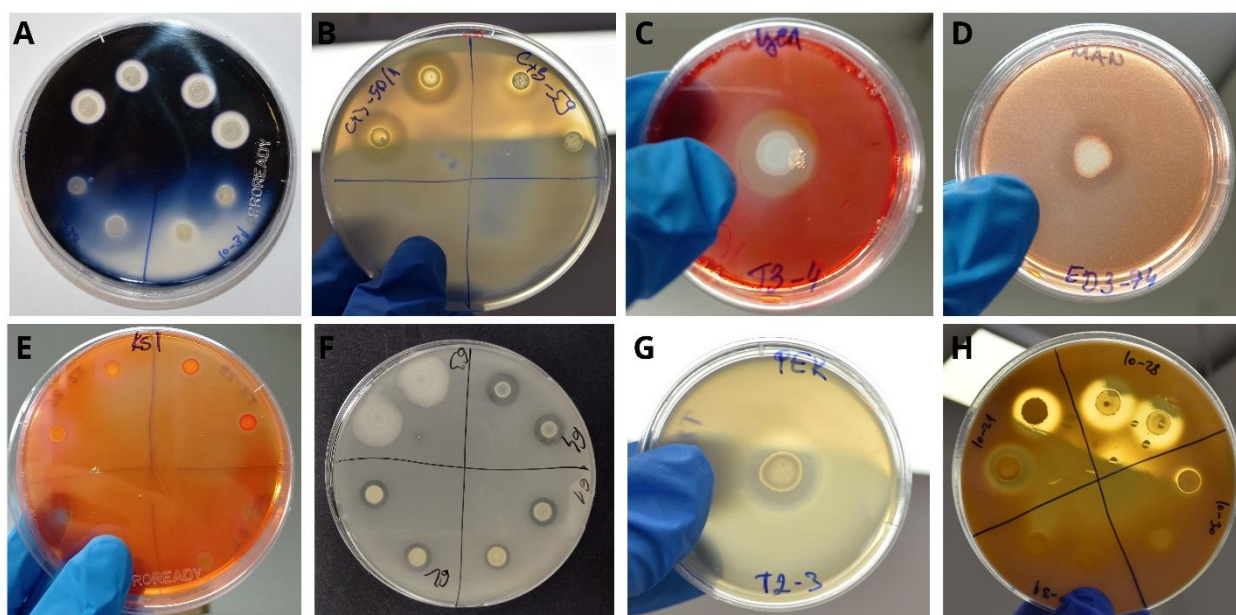
Slika 9. Test na toleranciju kadmijum-nitrata; A) 0.005%, B) 0.01%, C) 0.025%, D) 0.05%, E) 0.1%.

3.10 Skrining izolata na produkciju ekstracelularnih enzima

Sposobnost izolata na produkciju ekstracelularnih enzima amilaze, proteinaze, celulaze, ksilanaze, mananaze, želatinaze i pektinaze procenjena je inokulacijom po 5 μ L prekonoće kulture na specifične agarizovane podloge. Nakon 24 časa inkubacije na 30 °C, mereni su dijometri kolonija (mm) i potom su podloge prelivane odgovarajućim reagensima u zavisnosti od enzimske aktivnosti koja se pratila. Detekcija pojedinačnih enzima vršena je korišćenjem sledećih reagensa: Lugolov rastvor za amilaze, 1% rastvor taninske kiseline za proteinaze, 0,1% rastvor Kongo crvene boje za ksilanaze (Berić et al., 2009) i celulaze (Ben Slama et al., 2019), 0,2% rastvor Kongo crvene boje za mananaze (Berić et al., 2009), 35% rastvor TCA za želatinaze (Medina and Baresi, 2007), kao i 1% rastvor CTAB za pektinaze (Slama et al., 2019), dok je aktivnost lipaza određivana direktno na podlozi nakon inkubacije (Huber et al., 2001). Nakon preliivanja odgovarajućim reagensom, podloge su inkubirane na sobnoj temperaturi tokom 15 minuta, dok su u slučaju detekcije mananaza, ksilanaza i celulaza podloge dodatno ispirane 1 M rastvorom NaCl. Pojava halo zona oko bakterijskih kolonija smatrana je pokazateljem enzimske aktivnosti (Slika 10), nakon čega su mereni njihovi dijometri, a stepen enzimske aktivnosti izražen je kroz Enzimatski indeks (EI) (Saroj et al., 2018):

$$\text{Enzimatski indeks} = \frac{\text{Dijametar hidrolitičke zone (mm)}}{\text{Dijametar kolonije (mm)}}$$

Za EI < 1 aktivnost je smatrana lošom, EI=1-2 aktivnost je bila dobra, a za EI > 2 aktivnost je smatrana odličnom.



Slika 10. Testovi na produkciju hidrolitičkih enzima; A) amilaza, B) proteaza, C) celulaza, D) mananaza, E) ksilanaza, F) lipaza, G) pektinaza, H) želatinaza.

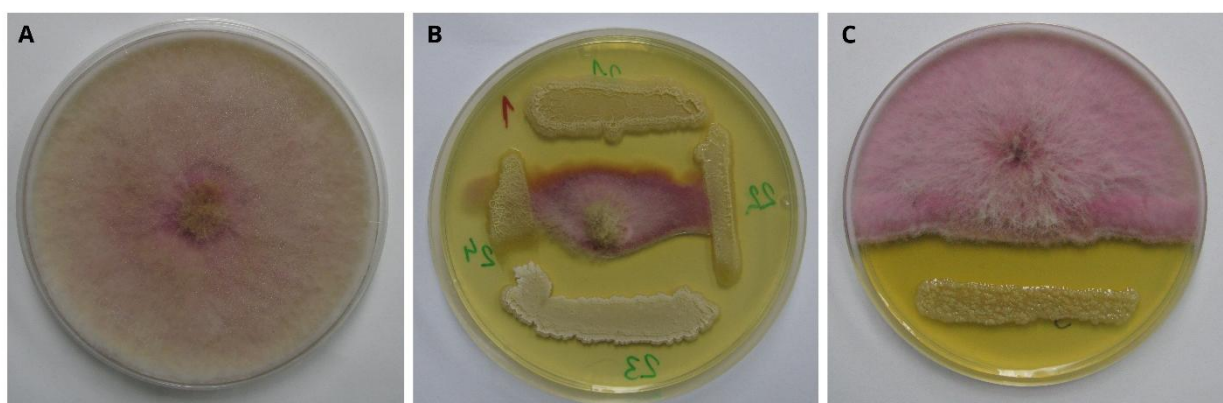
3.11 *In vitro* ispitivanje antifungalne aktivnosti

Antifungalni potencijal protiv fitopatogenih gljiva je procenjen korišćenjem inicijalnog skrininga i testa dualne kulture (Dimkić et al., 2015). Kolekcija fitopatogenih gljiva obuhvatala je izolate prikazane u Tabeli 4.

Tabela 4. Izolati gljiva rodova *Fusarium* i *Cercospora* korišćeni za procenu antifungalne aktivnosti izolata iz šećerne repe i pšenice.

Poreklo	Vrsta	Izolat
Centralni institut za konzervaciju vazduh	<i>F. graminearum</i>	CIK
Maslina	<i>F. venatum</i>	IB11-12
Maslina	<i>F. ipomoeae</i>	IB6I-10
Maslina	<i>F. bothi</i>	IB7I-1
Institut za povrtarstvo	<i>F. Foetens</i>	IP27
Institut za povrtarstvo	<i>F. falciforme</i>	IP31
Institut za povrtarstvo	<i>F. coffeatum</i>	IP32
Institut za povrtarstvo	<i>F. denticulatum</i>	IP39
Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), Brazil	<i>F. graminearum</i>	GD1
PROMIS projekat	<i>F. verticilioides</i>	K67 5.1
PROMIS projekat	<i>F. graminearum</i>	S3-7
PROMIS projekat	<i>F. oxysporum</i>	S4-2
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>Fusarium</i> sp.	TS1
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>F. equseti</i>	TS2
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>F. oxysporum</i>	TS3
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>Cercospora</i> sp.	TS4
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>F. subglutinans</i>	TS5
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>F. nigamai</i>	TS6
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>F. semitectum</i>	TS7
Institut "Dr Josif Pančić"	<i>F. solani</i>	TS8

Potencijal izolata poreklom iz šećerne repe ispitan je prema TS1, TS2, TS3, TS4, TS5, TS6, TS7, GD1, S3-7, CIK, S4-2, K67 5.1, IB11-12, IB6I-10, IP27, IP31, IP32 i IP39, dok je potencijal izolata poreklom iz pšenice ispitan prema GD1, CIK, IB7I-1, IB6I-10, IP27, IP31, TS6, TS7, TS8 i TS2. Inicijalni test protiv fitopatogenih gljiva obavljen je inokulacijom PDA podloga sa četiri bakterijska izolata poređana u pravougaoni oblik na udaljenosti od 2,5 cm od centralno postavljenog fungalnog inokuluma u vidu fragmenta micelije veličine 5 mm (Slika 11B). Podloge sa bakterijskim izolatima inkubirane su 24 časa na 30 °C, nakon čega su inokulisani fungalni patogeni. Nakon 7 dana inkubacije na 25 °C utvrđena je antagonistička aktivnost. Rezultati početnog skrininga opisani su na osnovu intenziteta inhibicije kao: kontaktna inhibicija (±), slaba (+), umerena (++) i jaka inhibicija (+++). U inicijalnom testu antifungalnog potencijala izolata iz šećerne repe korišćeni su TS1, TS2, TS3 i TS4 izolati gljiva, dok su kod izolata iz pšenice korišćeni GD1, CIK, IB7I-1, IB6I-10, IP7, IP31, TS3, TS6, TS7 i TS8.



Slika 11. Ispitivanje antifungalnog potencijala izolata na *Fusarium graminearum* GD1; A) kontrola, B) inicijalni test, C) test dualne kulture.

Bakterijski izolati sa najjačom antagonističkom aktivnošću su dalje testirani u testu dualne kulture protiv istih fungálnih sojeva. Fragmenti micelije veličine 5 mm su uzorkovani sa periferije 7 dana starih kultura i postavljeni na površinu PDA podloga, oko 25 mm od centra svake Petrijeve šolje. Uz pomoć bakterioloških eza (10 µL) bakterijske kulture nanete su na 3 cm udaljenosti od mesta nanošenja fungalnog inokuluma na istoj Petri šolji (Slika 11C). Podloge sa bakterijskim izolatima inkubirane su 24 časa na 30 °C. Nakon inkubacije, podloge su inokulisane gljivama i ponovo inkubirane u trajanju do 7 dana na 25 °C. Efekti na rast micelija procenjeni su izračunavanjem procenta inhibicije rasta (*eng. Percentage of growth inhibition, PGI*):

$$PGI(\%) = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

R1 predstavlja rastojanje (mereno u mm) od tačke inokulacije do kraja rasta na kontrolnim šoljama, a R2 rastojanje fungalnog rasta od tačke inokulacije do ivice kolonije na Petrijevim šoljama u pravcu antagonista. Eksperimenti su ponovljeni dva puta nezavisno, sa tri ponavljanja za svaku gljivu. Inhibitorna aktivnost bakterijskih izolata iz šećerne repe utvrđena je metodom dualne kulture prema TS1, TS2, TS3, TS4, TS5, TS6, TS7, TS8, CIK, GD1, IB7I-1, IB6I-10, IP27 i IP31. Inhibitorna aktivnost izolata iz pšenice utvrđena je prema GD1, CIK, IB7I-1, IB6I-10, IP7, IP31, TS3, TS6, TS7 i TS8.

3.12 Dizajniranje konzorcijuma šećerne repe tradicionalnim pristupom i inokulacija semena šećerne repe za *in planta* eksperimente

Tradicionalni pristup podrazumevao je manuelnu selekciju izolata na osnovu PGP karakteristika, produkcije enzima, antifungalne aktivnosti i tolerancije izolata na abiotički stres. Formulirana su tri konzorcijuma (Mix1, Mix2, Mix3). Mix1 činili su izolati koji su imali najbolje PGP karakteristike, Mix2 se sastojao od izolata sa najboljom antagonističkom aktivnošću i Mix 3 kombinacija prva dva tipa. Spisak izolata koji ulaze u sastav konzorcijuma prikazani su u Tabeli 5.

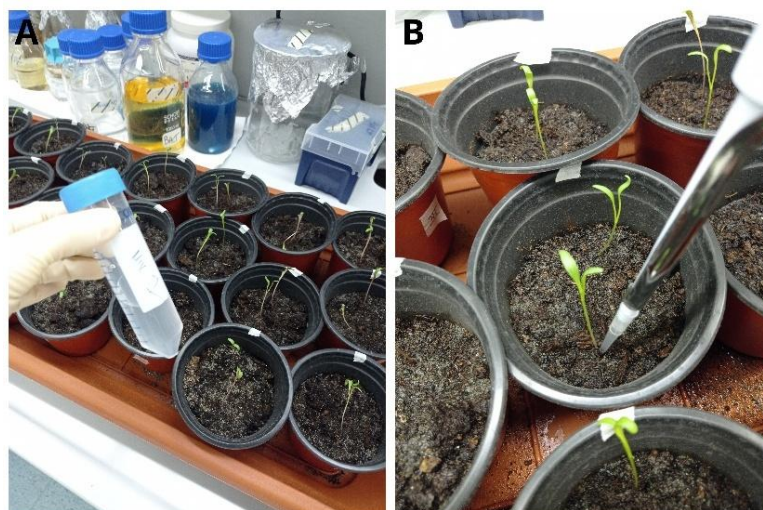
Tabela 5. Sastav konzorcijuma šećerne repe za *in planta* eksperimente.

	Konzorcijum		
	Mix1	Mix3	Mix3
Izolati	<i>Bacillus halotolerans</i> C3 -16/2.1	<i>Bacillus halotolerans</i> C3 -16/2.1	<i>Bacillus halotolerans</i> C3 -16/2.1
	<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> C3 -19	<i>Paenibacillus polymyxa</i> C3 -36
	<i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19	<i>Paenibacillus polymyxa</i> C3 -36	<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18
	<i>Mixta theicola</i> KO3-44	<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18	<i>Mixta theicola</i> KO3-44
	<i>Curtobacterium pusillum</i> ED2-6	<i>Bacillus velezensis</i> T2-23	<i>Bacillus velezensis</i> T2-23

3.12.1 Priprema konzorcijuma i inokulacija semena šećerne repe

Pojedinačne kolonije odabranih izolata nakon dva dana rasta na NA podlogama na 30 °C inokulisano je u 50 mL TSB (10g/L) i ostavljeno na šejkeru preko noći na 30 °C pri 150 rpm. Prekonoćne kulture su centrifugirane pri 3 500 rpm na 20 °C u trajanju od 10 minuta. Supernatanti su odliveni i ćelije su vorteksovane u flakonima i resuspendovane u 20 mL 1×PBS (*eng. Phosphate Buffered Saline*, PBS). Tako pripremljeni uzorci su ponovo centrifugirani po istom principu. Supernatanti su ponovo odliveni, ćelije vorteksovane i resuspendovane u 15 mL 1×PBS. Merena je apsorbanca na 600 nm i na osnovu dobijenih apsorbanci suspenzija pravljena su razblaženja da bi se dobila finalna apsorbanca 0,4. Po 10 mL svakog uzorka mešano je u jednakim razmerama (1:1) za pravljenje definisanih konzorcijuma.

Nakon pripreme konzorcijuma, semena su potopljena u periodu od sat vremena u određeni konzorcijum i kontrolu (50 mL 1×PBS). Ovaj korak je rađen u različitim vremenskim intervalima kako bi se omogućio podjednak tretman svih semena pre zasejavanja u saksije. Semena su sterilnim pincetama vađena iz suspenzije i zasejana u saksije na rastojanju 5 cm i 1 cm ispod površine zemlje. Za rast šećerne repe korišćena zemlja bila je sa dodatkom peska u odnosu 10:8. Nakon 10 dana, ponovo su pripremljeni konzorcijumi i po 200 µL svakog konzorcijuma je inokulisan u rizosferu (Slika 12). Ogledi su izvođeni u komori za rast biljaka pri kontrolisanim uslovima temperature od 28 °C i ciklusu svetlosti/tama od 16/8 časa. Vlažnost vazduha nije bila kontrolisana. Biljke su zalivane na svaka dva dana.



Slika 12. Sekundarna inokulacija šećerne repe; A) pripremljen inokulum, B) sekundarna inokulacija.

3.12.2 Uzorkovanje šećerne repe iz *in planta* ogleda

Ogledi na šećernoj repi postavljeni su 26. oktobra 2022. godine i nakon 34, 42 i 49 dana (u daljem tekstu, grafičkim i tabelarnim prikazima označeni kao vremenska tačka A, B i C) biljke su uzorkovane u triplikatu (Slika 13). Visina i suva masa nadzemnih delova procenjeni su nasumičnim odabirom tri biljke po tretmanu i kontroli. Uzorci korena zajedno sa rizosferom homogenizovani su u tečnom azotu i čuvani na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ za naknadne metabarkoding analize. Nadzemni delovi su izmereni (dužina stabljike), zatim stavljeni u papirne kese po tretmanima i sušeni na $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tokom 4 dana, nakon čega je zabeležena suva masa nadzemnog dela. Svi zabeleženi parametri analizirani su pomoću univarijantnog ANOVA testa, nakon čega je primenjen Dankanov post-hoc test, sa nivoom statističke značajnosti $p < 0,05$. Statističke analize su sprovedene korišćenjem IBM SPSS Statistics v.23 (SPSS Inc., Armonk, NY, SAD).



Slika 13. Izgled biljaka šećerne repe nakon tretmana Mix2 iz ogleda u saksijama; A) prvo uzorkovanje; B) drugo uzorkovanje, C) treće uzorkovanje.

3.12.3 Izolacija ukupne bakterijske DNK iz uzoraka šećerne repe (*in planta* ogledi)

Metagenomska DNK (mDNA) ekstrahovana je iz udruženih uzoraka korena i rizosfere koji su prethodno zajedno usitnjeni u tečnom azotu i čuvani na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ekstrakcija je izvedena

korišćenjem DNeasy PowerSoil Pro Kit-a (Qiagen, Nemačka) u skladu sa uputstvom proizvođača, a uzorci su čuvani na -80 °C do pripreme biblioteka. Koncentracija mDNK merena je pomoću pomoću Nanodrop ONE spektrofotometra (Thermo Scientific), nakon čega je svaki uzorak razblažen u 10 mM Tris(hidroksimetil)aminometanu (TRIS), pH 8,5, do konačne koncentracije od 15 ng/μL.

3.12.4 Priprema 16S rRNK amplikonskih biblioteka iz uzoraka šećerne repe (*in planta* ogledi)

Za amplifikaciju dela 16S rRNK gena odabrani su V3 i V4 regioni korišćenjem bar-kodiranih prajmera kompatibilnih sa Illumina platformom i PCR uslova prema protokolu proizvođača (Illumina Inc., San Diego, CA, SAD). Sledeći prajmeri korišćeni su za amplifikaciju V3 i V4 regiona 16S rRNK gena: 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') i 806R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') (Klindworth et al., 2013). Dobijeni PCR produkti prečišćeni su AMPure XP magnetnim kuglicama radi uklanjanja viška prajmera i kratkih fragmenata. Druga PCR reakcija (Index PCR) izvedena je korišćenjem Illumina Nextera XT Index Kita za ugradnju dvostrukih indeksa i sekvencijskih adaptera, čime je omogućeno istovremeno sekvenciranje više uzoraka. Indeksirani amplikoni ponovo su prečišćeni AMPure XP kuglicama radi uklanjanja rezidualnih prajmera i adapter dimera. Veličina amplikona, integritet i čistoća provereni su pomoću Bioanalyzer uređaja (Agilent Inc., Santa Clara, CA, SAD), dok su koncentracije DNK određene fluorometrijski korišćenjem Qubit 2 sistema (Invitrogen Inc., Carlsbad, CA, SAD). Biblioteke su zatim normalizovane, ekvimolarno pomešane, denaturisane i pripremljene za sekvenciranje prema Illumina MiSeq protokolu. Sekvenciranje naredne generacije je izvršeno na Illumina MiSeq platformi koristeći „paired-end“ konfiguraciju 2 × 250 bp.

3.12.5 Obrada sekvenci i bioinformatičke analize bakterijskih konzorcijuma iz uzoraka šećerne repe (*in planta* ogledi)

Sirovi FASTQ fajlovi obrađeni su u QIIME2 (Bolyen et al., 2019) korišćenjem DADA2 dodatka (Callahan et al., 2016) za klasterovanje ASV. Kontrola kvaliteta sekvenci sprovedena je pomoću QIIME2 dodatka q2-dada2 ili q2-deblur, dok je dodatna procena kvaliteta urađena korišćenjem ShortRead paketa u R 4.4.1. Taksonomska anotacija izvršena je korišćenjem SILVA 138 baze podataka (pristupljeno 6. marta 2023) (McMurdie and Holmes, 2013), zajedno sa prilagođenim skupom 16S rRNK sekvenci izolata korišćenih u ovoj studiji, radi procene prisustva inokulisanih sojeva u rizosferi i endosferi korena. Za izradu prilagođenog skupa podataka korišćen je program cd-hit sa pragom sličnosti od 98% za klasterovanje i poređenje ASV-ova na osnovu sekvencijske sličnosti. Svi ASV-ovi koji nisu odgovarali nijednoj sekvenci dela gena za 16S rRNK iz prilagođenog skupa podataka uklonjeni su iz analize. Oba dobijena skupa podataka importovana su u R pomoću paketa qiime2R (Bolyen et al., 2019) radi dalje analize. Sastav zajednice i diverzitet analizirani su pomoću paketa phyloseq, microbiome, vegan i reshape2 (McMurdie and Holmes, 2013), dok je diferencijalna zastupljenost procenjena korišćenjem DESeq2 (Love et al., 2014) i MaAsLin2 (Mallick et al., 2021). Radi fokusiranja na dominantne članove zajednice, uključeni su samo taksoni prisutni u najmanje 10% uzoraka, a prevalenca je izračunata na nivou razdela i rodova. Alfa diverzitet procenjen je na ASV nivou korišćenjem Šenonovog indeksa. Normalnost podataka proverena je Shapiro–Wilk testom, a homogenost varijansi Levene-ovim testom. Statistički značajne razlike u alfa diverzitetu određene su Welch-ovom jednofaktorskom ANOVA analizom, uz pomoć Tukey post-hoc testa. Beta diverzitet je procenjen na ASV nivou korišćenjem Bray–Curtis indeksa disimilarnosti i vizualizovan pomoću analize glavnih koordinata (*eng. Principal Coordinate Analysis*, PCoA). Statističke razlike u sastavu zajednica testirane su PERMANOVA analizom (adonis2, vegan). Diferencijalna zastupljenost dodatno je analizirana pomoću linearne diskriminantne analize (LDA) implementirane u DESeq2 paketu u R-u. Kruskal–Wallis test korišćen je za identifikaciju značajno različitih taksona, nakon čega su sprovedeni Wilcoxon testovi ($\alpha = 0,01$) radi potvrde rezultata. Radi preglednosti, rezultati LDA prikazani su u

obliku grupisanih stubičastih dijagrama, pri čemu vertikalne linije predstavljaju značajno obogaćene ASV koji pripadaju istom rodu u specifičnim eksperimentalnim uslovima.

3.12.6 Izolovanje DNK iz bakterijskih konzorcijuma šećerne repe i NGS sekvenciranje

Izolati korišćeni u dizajnu konzorcijuma zasejavani su odvojeno u 10 mL TSB medijuma (10 g/L) tokom noći na 30 °C. Optička gustina (OD_{600}) prekonocnih kultura je izmerena, a kulture su razblažene u TSB medijumu kako bi se dostigla vrednost $OD_{600}=0,4$. Sve kulture su zatim pomešane i centrifugirane na 5 000 g tokom 3 minuta. Supernatant je uklonjen, a ćelije su suspendovane u 200 μ L 1 \times PBS i mešane na vorteksu. Ceo volumen je korišćen za izolaciju ukupne DNK upotrebom DNeasy PowerSoil Pro kita (Qiagen, Nemačka), u skladu sa uputstvom proizvođača. Koncentracija DNK je izmerena na nanodrop uređaju, kako je opisano u potpoglavlju 3.12.3, a amplifikacija, priprema biblioteka, sekvenciranje naredne generacije i obrada sekvenci sprovedeni su na isti način kao i za kombinovane uzorke rizosfere i korena kako je prethodno opisano u potpoglavljima 3.12.4 i 3.12.5.

3.13 Ispitivanje kolonizacije korena i rizosfere hibrida Koala i priprema Rif^r izolata za kolonizaciju semena u eksperimentima *in planta*

Da bi se procenila sposobnost kolonizacije odabranih izolata, indukovana je spontana rezistencija na antibiotik rifampicin u izolatima, nakon čega su mutirani izolati korišćeni za inokulaciju semena hibrida Koala, koja su potom zasejavana u saksije. Uspešnost kolonizacije određena je ponovnom izolacijom rifampicin-rezistentnih (Rif^r) sojeva iz uzoraka rizosfere i korena.

Osam odabranih izolata inokulisano je u 20 mL TSB (10g/L) i ostavljeno da se inkubira preko noći na 30 °C, pri 150 rpm. Nakon inkubacije, po 100 μ L prekonocnih kultura utrljano je na prethodno pripremljene podloge sa dodatkom rifampicina (50 μ g/mL) u duplikatu. Petrijeve šolje su obavijene aluminijumskom folijom i ostavljene na inkubaciji naredna dva dana na 30 °C. Nakon inkubacije, da bi se potvrdila identifikacija do nivoa vrste urađen je PCR iz kolonija. Sa Petrijevih šolja su vrhom nastavka uzete pojedinačne kolonije i resuspendovane u 50 μ L sterilne vode i potom istim nastavkom ponovo istačkane po podlogama sa rifampicinom kako bi se dobijeni rezistentni izolati sačuvali. Šolje su inkubirane naredna dva dana po istom principu. Nakon inkubacije, pojedinačne kolonije su inokulisane u tečni medijum sa rifampicinom i ostavljene na inkubaciji preko noći na 30 °C, pri 150 rpm. Nakon inkubacije napravljeni su stokovi rifampicin rezistentnih izolata u 25% glicerolu (pomešano je 800 μ L prekonocne kulture sa 800 μ L 25% glicerola u vajlicama zapremine 2 mL) i ostavljeni na -80 °C do daljeg korišćenja. Molekularna identifikacija dobijenih Rif^r izolata odrađena je po istom principu kao i u do sada pomenutim metodama za bakterijske izolate.

Stepen kolonizacije rizosfere i korena pojedinačnih izolata koji su ulazili u sastav konzorcijuma određen je preko indeksa kolonizacije izraženog kroz CFU/mL (*eng. Colony Forming Unit*, CFU). Rif^r izolati kultivisani su iz stoka u glicerolu na NA podloge i ostavljeni da rastu na 30 °C naredna dva dana. Nakon inkubacije, pojedinačne kolonije inokulisane su u 50 mL tečnog medijuma sa rifampicinom i ostavljeni da se šejkiraju pri 150 rpm na 30 °C preko noći. Nakon inkubacije, prekonocne kulture su centrifugirane pri 3 500 rpm na 20 °C u trajanju od 10 minuta. Supernatanti su odliveni i ćelije su vorteksovane u flakonima i resuspendovane u 20 mL 1 \times PBS. Tako pripremljeni uzorci su ponovo centrifugirani po istom principu. Supernatanti su ponovo odliveni, ćelije vorteksovane i resuspendovane u 15 mL 1 \times PBS. Merena je apsorbancija na 600 nm. Na osnovu dobijenih apsorbanci pravljena su razblaženja da bi se dobila finalna apsorbancija 0,4 i finalna zapremina od 30 mL. Nakon pripreme resuspendovanih ćelija izolata, semena su potopljena u pojedinačne suspenzije i kontrolu (30 mL 1 \times PBS) i ostavljena jedan sat u tim uslovima. Zasejavanje semena izvršeno je kako je opisano u potpoglavlju 3.12.1. Nakon 10 dana od zasejavanja, biljke su uzorkovane iz zemljišta, odvojeni su nadzemni delovi (po tri biljke po izolatu) i ostavljeni da se suše na 80 °C u trajanju od dva dana, nakon čega je merena suva masa nadzemnih

delova. Odvojeni koreni sa rizosferom prebačeni su u flakone sa 10 mL 1×PBS i dobro vorteksovani. Za svaki izolat uzorkovano je po tri biljke kojima su dodeljene šifre A, B i C i analizirane su pojedinačno. Nakon vorteksovavanja pravljena su razblaženja 10^{-1} i 10^{-2} u 1×PBS za uzorke rizosfere i po 100 μ L koncentrovanog i razblaženog uzorka utrljavano je na podloge sa rifampicinom.

Dalje, uzorci korena su prebačeni u nove flakone i površinski sterilisani upotrebom 75% etanola i razblažene varikine (5%), sa višekratnim ispiranjima vodom između koraka površinske sterilizacije. Tako pripremljeni uzorci korena izmrvljeni su u avanu i dodato im je po 2 mL 1×PBS. Iz avana je prebačeno 1 mL uzorka je u nove mikrotube i napravljeno je razblaženje od 10^{-1} . Po 100 μ L koncentrovanog i razblaženog uzorka korena utrljano je na podloge sa rifampicinom. Šolje su inkubirane dva dana na 30 °C. Nakon inkubacije kolonije su prebrojane i indeks kolonizacije izražen je kroz CFU/mL.

3.14 Dizajniranje konzorcijuma pšenice i šećerne repe modelom pregleda funkcionalnosti zajednice (eng. Community-Function Landscape Model)

U cilju dizajniranja modela za predviđanje optimalnog konzorcijuma, 19 selektovanih izolata iz šećerne repe je testiran *in vitro* u ko-kulturi za proizvodnju pet različitih karakteristika (produkcija siderofora, IAA, lipaza, i pektinaza, kao i solubilizacija fosfata). Odabrani izolati pšenice testirani su u ko-kulturi na četiri karakteristike (produkcija siderofora i IAA, solubilizacija fosfata i antagonistički potencijal prema *Fusarium graminearum* metodom dualne kulture).

3.14.1 Priprema konzorcijuma i *in vitro* testiranje za potrebe modela pregleda funkcionalnosti zajednice

Pripremljene su prekonoćne kulture (30 °C pri 150 rpm tokom 24 časa) pojedinačnih izolata iz čistih kultura sa Petrijevih šolja. Nakon inkubacije, merena je apsorbancija na 600 nm. Na osnovu dobijenih apsorbanci pravljena su razblaženja u TSB medijumu da bi se dobila finalna apsorbancija 0,4, nakon čega su se izolati mešali u odnosu 1:1 u nove mikrotube i kao takvi korišćeni u testovima.

Testovi su odrađeni po prethodno opisanom principu. Rezultati prosvetljenih zona u testovima produkcije siderofora, lipaza, pektinaza i solubilizacije fosfata izražene su kroz enzimatski indeks, dok je koncentracija IAA određena standardnom krivom čiste indol-3-sirćetne kiseline u rasponu između 0 i 100 mg/mL (Gupta and Pandey, 2019). U ispitivanju antifungalnog potencijala u ko-kulturi korišćena je metoda dualne kulture i rezultati su izraženi u procentima. Eksperimetni su odrađeni u tri nezavisne biološke replike.

3.14.2 Prediktivno modelovanje funkcije zajednice

Za svaku zajednicu i funkciju, u modelu predikcije korišćene su srednje vrednosti replika, kako bi se dobila jedna funkcionalna vrednost po zajednici. Radi kvantifikacije funkcionalnih interakcija u ko-kulturi, posmatrana funkcija svake ko-kulture upoređena je sa očekivanom funkcijom dobijenom na osnovu odgovarajućih vrednosti iz monokultura, korišćenjem aditivnog „nul-modela“. Distribucije interakcija sumirane su zasebno za svaku osobinu koja podstiče rast biljaka. Ispitivano je da li se funkcije na nivou zajednice mogu predvideti na osnovu njenog sastava primenom modelom pregleda funkcionalnosti zasnovan na globalnoj epistazi (Diaz-Colunga et al., 2024). Za model pregleda funkcionalnosti zasnovan na globalnoj epistazi, matrice binarnog sastava zajednica korišćene su kao prediktori, pri čemu su kolone odgovarale izolatima, a redovi zajednicama iliti konzorcijumima. Za svaku funkciju, model je treniran na eksperimentalno izmerenim monokulturama i kulturama u paru, a zatim korišćen za predviđanje funkcija neispitanih ili izdvojenih konzorcijuma. Za LASSO model, sastav zajednice je kodiran kao binarno prisustvo/odsustvo sojeva i transformisan u $-1/+1$ kodiranje. Matrica modela uključivala je glavne

efekte svih sojeva, kao i sve parne interakcione termine. LASSO regresija je sprovedena korišćenjem R paketa *glmnet* (Friedman et al., 2010), pri čemu je parametar regularizacije odabran internom unakrsnom validacijom korišćenjem vrednosti λ_{\min} . Prediktivne performanse procenjujane su iterativnom unakrsnom validacijom. U svakoj iteraciji modeli su trenirani na podskupu dostupnih zajednica, a evaluirani na izdvojenim zajednicama. Kod modela pregleda funkcionalnosti zasnovan na globalnoj epistazi monokulture su zadržane u trening skupu, dok je nasumični podskup preostalih zajednica izdvojen za testiranje. Kod LASSO regresije korišćene su nasumične podele na trening i test skup. Za svaku funkciju, metod i iteraciju, kvalitet predikcije kvantifikovan je pomoću srednje kvadratne greške (*eng. Root Mean Square Deviation, RMSD*), normalizovanog RMSD, koeficijenta determinacije (R^2) i Spirmanove korelacije između predviđenih i izmerenih vrednosti. Radi provere validnosti modela, odabrani su nasumični konzorcijumi sastavljeni od tri i više izolata koji su na isti način testirani i kasnije upoređeni sa rezultatima dobijenim putem modela predviđanja. Kvalitet predikcije sumiran je preko iteracija pomoću box dijagrama. Za vizualizaciju odnosa između predviđenih i izmerenih vrednosti, eksperimentalne vrednosti su prikazane kao srednje vrednosti replika, sa standardnom devijacijom kao greškom. Predviđene vrednosti prikazane su kao srednje vrednosti kroz iteracije unakrsne validacije, uz standardnu devijaciju između iteracija. Za svaku funkciju i metod generisani su posebni paneli, pri čemu su posebno istaknuti konzorcijumi koji nisu korišćeni u trening skupu. Predviđene i izmerene funkcionalne vrednosti objedinjene su u jedinstvenu matricu zajednica \times funkcija. Za zajednice sa eksperimentalnim podacima korišćene su srednje izmerene vrednosti, dok su za neispitane zajednice korišćene predikcije. Dodatno je zadržana indikator varijabla koja razlikuje izmerene od predviđenih vrednosti.

Za višefunkcionalno rangiranje analizirane su samo zajednice sastavljene od sojeva uključenih u originalni dizajnerski prostor. Svaka funkcija je standardizovana, a zajednice su rangirane prema dva kriterijuma: srednjoj standardizovanoj vrednosti i minimalnoj standardizovanoj vrednosti. Prvi kriterijum identifikuje zajednice sa visokim prosečnim performansama, dok drugi favorizuje uravnotežene zajednice bez izraženih slabosti u pojedinačnim funkcijama.

Sve analize su sprovedene u programskom okruženju R. Obrada i organizacija podataka izvršene su prvenstveno korišćenjem paketa *data.table* (Barrett et al., 2026). LASSO regresija je sprovedena uz upotrebu paketa *glmnet* (Friedman et al., 2010). Grafički prikazi generisani su pomoću paketa *ggplot2* (Wickham, 2016), dok su mrežne vizualizacije izrađene korišćenjem paketa *visNetwork*.

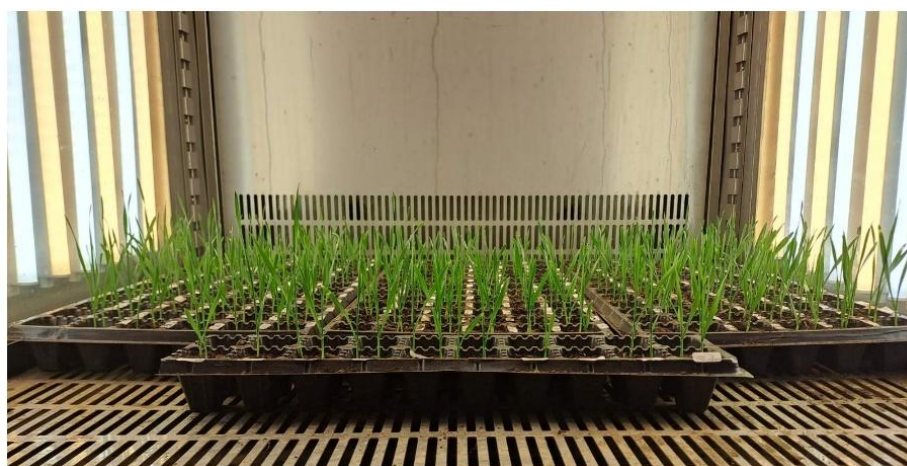
3.14.3 Selekcija konzorcijuma pšenice na osnovu modela pregleda funkcionalnosti zajednice i ogledi *in planta*

Na osnovu rezultata dobijenih modelom pregleda funkcionalnosti zajednice odabrano je 11 konzorcijuma (četiri konzorcijuma sačinjena od dva izolata i sedam konzorcijuma od tri izolata). Pojedinačni izolati koji su činili sastav konzorcijuma i sami konzorcijumi prikazani su u Tabeli 6.

Tabela 6. Sastav konzorcijuma pšenice za *in planta* eksperimente.

Izolati/Konzorcijumi	Tretman
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i> MP6-33	Tp1
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36	Tp2
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1	Tp3
<i>Bacillus halotolerans</i> MP9-8	Tp4
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1	Tp5
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i> MP10-20	Tp6
<i>Bacillus mojavenensis</i> MP10-28	Tp7
<i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp8
<i>Microbacterium maritypicum</i> MP10-44	Tp9
<i>Curtobacterium plantarum</i> MP10-31	Tp10
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36_ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1	Tp11
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp12
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus mojavenensis</i> MP10-28	Tp13
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus halotolerans</i> MP9-8	Tp14
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Paenibacillus glycanilyticus</i> MP10-20 _ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp15
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1_ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp16
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i> MP6-33_ <i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp17
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1 _ <i>Bacillus mojavenensis</i> MP10-28	Tp18
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1 _ <i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1	Tp19
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1 _ <i>Microbacterium maritypicum</i> MP10-44	Tp20
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i> MP6-33 _ <i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1	Tp21

Semena pšenice sorte Modern su potopljena u 50 mL pripremljenih konzorcijuma, pojedinačnih izolata kao i u kontrolu (50 mL 1×PBS) i ostavljena na inkubaciju tokom sat vremena. Nakon toga, semena su zasejana tik ispod površine zemlje u komoricama za rasad koje sadrže prethodno sterilisanu zemlju (120 °C, 15 min). U okviru jedne ćelije (komorice) zasejavano je po 2 semena. Komorice za rasad postavljene su u komoru za rast pri intenzitetu svetlosti od 100-250 mmol m⁻² s⁻¹ na 15-20 °C dnevnoj i 5-10 °C noćnoj temperaturi, ciklusu svetlosti/tama od 12/12 časa i relativnoj vlažnosti od 50-70% (Slika 14). Parametri u komori za rast uspostavljeni su na osnovu podataka o spoljašnjim uslovima za početak oktobra na području Srbije.



Slika 14. Promocija rasta pšenice *in planta*.

Ogledi na pšenici postavljeni su 8. novembra 2023. godine i nakon 35 dana biljke su uzorkovane. Biljke su pažljivo odvojene od zemlje i koreni su isprani pod česmenskom vodom. Biljke su ostavljene da se trenutno osuše i potom je izmerena visina korena i izdanaka, kao i visina cele biljke na papiru za merenje. Nakon merenja, 12 biljaka po tretmanu je sušeno na 70 °C

narednih 3 dana, nakon čega je izmerena suva masa korena i nadzemnog dela svake pojedinačne biljke.

3.14.4 Selekcija konzorcijuma šećerne repe na osnovu modela pregleda funkcionalnosti zajednice i ogledi u polju

Na osnovu rezultata dobijenih modelom pregleda funkcionalnosti zajednice odabrano je šest konzorcijuma T9-T14 (tri sastavljena od po dva izolata, dva od po tri izolata i jedan od četiri izolata). Pored toga, u ogledu u polju uključen je i konzorcijum Mix3, koji je odabran tradicionalnim pristupom na osnovu najboljih rezultata u *in planta* eksperimentima. Za potrebe terenskih ogleda, ovaj konzorcijum je preimenovan u T15. Pojedinačni izolati koji su činili sastav konzorcijuma i sami konzorcijumi prikazani su u Tabeli 7.

Tabela 7. Sastav konzorcijuma šećerne repe za ogledu u polju.

Izolati/Konzorcijumi	Tretman
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1	T1
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> C3-19	T2
<i>Paenibacillus polymyxa</i> C3-36	T3
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18	T4
<i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19	T5
<i>Mixta theicola</i> KO3-44	T6
<i>Curtobacterium pusillum</i> ED2-6	T7
<i>Bacillus velezensis</i> T2-23	T8
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44	T9
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44	T10
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19	T11
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44 _ <i>Curtobacterium pusillum</i> ED2-6	T12
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44	T13
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44 _ <i>Curtobacterium pusillum</i> ED2-6	T14
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1 _ <i>Paenibacillus polymyxa</i> C3-36 _ <i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44 _ <i>Bacillus velezensis</i> T2-23	T15

Terenski ogledi sa hibridom šećerne repe Koala sprovedeni su na oglednom polju Instituta PSS Tamiš u Pančevu i Instituta za ratarstvo i povrtarstvo od aprila do septembra 2023. godine. Agrohemijske analize zemljišta, dobijene od strane Instituta, prikazane su u Tabeli 8.

Tabela 8. Agrohemijske analize zemljišta.

Ogledno polje	Humus (%)	pH (H ₂ O)	pH (KCl)	P ₂ O ₅ (mg/100)	K ₂ O (mg/100)	CaCO ₃ (%)	Ukupno azota (kg/ha)
Tamiš	3.45	7.45	7.56	21.02	21.10	10.56	99.00
Novi Sad	2.34	7.02	6.03	18.85	23.58	0.58	0.17%

Bakterijske kulture podešene na OD₆₀₀=0,4 mešane su u jednakim proporcijama radi formiranja konzorcijuma. Za oblaganje semena, konzorcijum i 2,5% natrijum-alginat kombinovani su u odnosu 4:1. Prvo uzorkovanje šećerne repe obavljeno je nakon 48 dana na lokalitetu Novi Sad i nakon 52 dana na oglednom polju Instituta PSS Tamiš. Za svaki tretman i kontrolu postojale su tri replike, a svaka replika obuhvatala je po četiri biljke. Biljke su pažljivo očišćene od zemlje, koren temeljno opran vodom iz česme, a zatim sušene u papirnim kesama na spoljašnjoj temperaturi od 20 do 30 °C 21 dan. Nakon sušenja, izmerena je masa suvog korena i nadzemnog dela biljaka. Drugo uzorkovanje sprovedeno je na kraju vegetacione sezone, kada su analizirani prinos, sadržaj šećera

(digestivnom metodom), alfa-amino azot, kalijum i natrijum u korenu. Analize su izvršene u nezavisnoj akreditovanoj Laboratoriji za tehnologiju, kvalitet i bezbednost hrane (FINSLab), prema sledećim metodama: SR001 (sadržaj šećera), SR003 (alfa-amino azot), MA036 (kalijum) i MA035 (natrijum).

3.15 Uticaj odabranog konzorcijuma na šećernu repu u prisustvu vektora '*Ca. P. solani*'

Eksperiment je sproveden na oglednim parcelama Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Pre setve šećerne repe, na eksperimentalnoj površini obuhvaćenoj kavezima gajena je ozima pšenica. Četiri mrežna kaveza (2m×2m×2,5m), međusobno udaljena približno 15 m, postavljena su unutar parcele sa šećernom repom, pri čemu je svaki kavez sadržao po 40 biljaka hibrida Koala (Slika 15).



Slika 15. Eksperiment prenosa '*Candidatus Phytoplasma solani*' putem vektora *Reptalus quinquecostatus*; A) organizacija eksperimenta, B) sekundarna inokulacija.

Bakterijske kulture podešene na $OD_{600}=0,4$ pomešane su u jednakim razmerama radi pripreme Mix3 konzorcijuma. Za oblaganje semena, konzorcijum je pomešan sa 2.5% natrijum-algintom u odnosu 4:1. Obložena semena zatim su posejana unutar kaveza i održavana pod istim agrotehničkim uslovima kao i okolna parcela. Adulti vrste *Reptalus quinquecostatus*, vektora i prenosioca '*Ca. P. solani*', sakupljeni su sa polja šećerne repe na lokalitetu Rimski šančevi. Insekti su predstavljali fitoplazma-pozitivnu vektorsku populaciju i korišćeni su za inokulaciju biljaka u tretmanima izloženim vektoru. Četiri kaveza organizovana su u različite eksperimentalne tretmane. U jedan kavez uneti su samo insekti vektori '*Ca. P. solani*' i taj kavez je predstavljao pozitivnu kontrolu izloženu vektoru. U drugi kavez uneti su insekti vektori u kome su iznikle biljke iz semena obloženog Mix3 konzorcijumom. Treći kavez sadržao je biljke poreklom od Mix3-obloženog semena, ali bez prisustva vektora. Četvrti kavez, sa neobloženim semenom i bez insekata, služio je kao negativna kontrola (Slika 15A). Četrdeset osam dana nakon sejanja biljaka, izvršena je sekundarna inokulacija rizosfere Mix3 konzorcijumom kod svih tretmana sa konzorcijumom (Slika 15B). Svaka biljka tretirana je sa 10 mL bakterijske suspenzije podešene na $OD_{600}=0,4$, primenjene direktno na zemljište oko biljaka. Na kraju vegetacionog perioda, biljke iz sva četiri kaveza su prikupljene i pripremljene za dalju analizu.

3.15.1 Priprema uzorka korena iz eksperimenta transmisije '*Ca. P. solani*' za molekularne i kultivabilne testove

Koren šećerne repe postavljen je na sterilnu radnu površinu, a sečivo je dezinfikovano 70% etanolom (Slika 16). Repa je uzdužno presečena, nakon čega je iz jedne polovine izdvojen centralni (srednji) deo. Sa izdvojenog segmenta uklonjeni su ostaci kore, čime je dobijen blok tkiva u obliku kocke. Uzorak je opran deterdžentom i sunderom, a zatim temeljno ispran tekućom vodom. Oprani isečci postavljeni su na sterilne ubruse prethodno poprskane 70% etanolom. Nakon toga, u sterilnim uslovima laminarne komore uzorci su potopljeni u 70% etanola tokom približno 15 sekundi, a zatim sterilnom pincetom preneti na sterilne ubruse natopljene 70% etanolom. Rubni delovi tkiva uklonjeni su sterilnim nožićem, dok je preostali deo isečen na manje fragmente koji su potom smešteni u sterilne sudove i čuvani na $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ do dalje analize. U slučajevima kada je koren bio potpuno truo, za analizu je korišćen isključivo centralni deo repe. Ukoliko koren nije bio u potpunosti zahvaćen bolešću, uzorkovanje je vršeno na prelazu između zaraženog i zdravog tkiva. U odsustvu vidljivih simptoma bolesti, uzorci su uzimani iz centralnog dela korena.



Slika 16. Priprema korena šećerne repe iz eksperimenta transmisije '*Candidatus Phytoplasma solani*' za molekularne i kultivabilne testove.

3.15.2 Ekstrakcija ukupne bakterijske i fungalne DNK iz korena šećerne repe u ogleđima sa '*Ca. P. solani*'

Pet uzoraka sterilisane unutrašnjosti korena iz potpoglavlja 3.17.1 i rizosfere tretiranih i netretiranih biljaka konzorcijumom, izloženih i neizloženih vektorima '*Ca. P. solani*', korišćeno je za analizu bakterijskih zajednica primenom tehnika sekvenciranja naredne generacije. Uzorci korena označeni su kao Koren (netretirane biljke), Koren+Mix3 (koren biljaka tretiranih Mix3 konzorcijumom), Koren+Fito (koren biljaka izloženih vektorima '*Ca. P. solani*') i Koren+Fito+Mix3 (koren biljaka koje su istovremeno bile izložene vektorima '*Ca. P. solani*' i tretirane Mix3 konzorcijumom). Uzorci rizosfere označeni su na isti način: Rizosfera (netretirane biljke), Rizosfera+Mix3 (rizosfera biljaka tretiranih Mix3 konzorcijumom), Rizosfera+Fito (rizosfera biljaka izloženih vektorima '*Ca. P. solani*') i Rizosfera+Fito+Mix3 (rizosfera biljaka istovremeno izloženih vektorima '*Ca. P. solani*' i tretiranih Mix3 konzorcijumom). Ekstrakcija mDNK izvršena je pomoću Quick-DNA™ Faecal/Soil Microbe Miniprep Kita (Zymo Research, Irvin, SAD) prema uputstvu proizvođača.

Količina mDNK određena je fluorometrijski pomoću Qubit uređaja (Qubit 4 fluorometer, Invitrogen™, Voltam, SAD) i svaki uzorak je zatim razblažen u 10 mM TRIS, pH 8,5, do konačne koncentracije od 15 ng/μL. Uzorci mDNK su komercijalno sekvencirani u kompaniji Novogene Co., Ltd. (Kembridž, UK) korišćenjem 2 × 250 bp „paired-end“ MiSeq sistema za sekvenciranje u skladu sa uputstvima proizvođača (Illumina, San Diego, CA, SAD). U ovoj studiji korišćene su sekvence specifične za gen za 16S rRNK koje ciljaju V3 i V4 regione (470 bp), sa prajmerima 341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') i 806R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') (Klindworth et al., 2013). Prajmeri korišćeni za amplifikaciju ITS2 regiona (380 bp) bili su: ITS3-F (5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3') i ITS4-R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (Tedersoo et al., 2015).

3.15.3 Obrada sekvenci i taksonomska anotacija uzoraka iz ogleda sa '*Ca. P. solani*'

Uklanjanje prajmera iz sekvenci je odrađeno pomoću alata Cutadapt (v5.0), dok su filtriranje kvaliteta, denoising, inferencija ASV-ova i uklanjanje himera sprovedeni u okviru platforme QIIME2 (verzija 2025.10.1) korišćenjem DADA2 algoritma (Callahan et al., 2016). Taksonomska anotacija bakterija primarno je izvršena korišćenjem SILVA 138.1 baze podataka (silva_nr99_v138.1) (pristupljeno 16. januara 2025), dok je za gljive korišćena UNITE 10.0 baza (Abarenkov et al., 2024) (pristupljeno 16. januara 2025). Radi dodatnog poboljšanja anotacija, sprovedene su BLAST pretrage prema NCBI 16S rRNK i ITS bazi podataka (pristupljeno 16. januara 2025); najbolja poklapanja sa $\geq 98\%$ identiteta i $\geq 99\%$ pokrivenosti prihvaćena su ukoliko su bila u skladu sa SILVA klasifikacijom. Rezolucija na nivou vrste dodeljena je na osnovu potpunog poklapanja sekvenci (0 neslaganja) u kombinovanim SILVA i NCBI bazama, pri čemu u slučaju više identičnih podudaranja, sve vrste su prikazane kao kombinovani naziv. Sekvence mitohondrijalne i hloroplasne DNK uklonjene su na osnovu taksonomske pripadnosti.

Alfa diverzitet (Chao, ACE, OBS, Simpsonov i Šenonov indeks) određen je na nivou ASV, roda, familije i razdela pomoću phyloseq paketa (McMurdie and Holmes, 2013) bez rarefakcije, a razlike između grupa testirane su univarijantnom ANOVA analizom praćenom Danovim testom. Beta-diverzitet procenjen je metodom DPCoA (Pavoine et al., 2004), nakon uklanjanja singleton ASV i onih sa ukupnim brojem očitavanja < 10 . Struktura zajednica na nivou roda, familije i razdela vizualizovana je pomoću paketa ggplot2 i heatmap. Dok su analize alfa- i beta-diverziteta sprovedene isključivo na 16S rRNK skupu podataka, analiza diferencijalne zastupljenosti urađena je i za 16S i za ITS podatke kako bi se potvrdilo prisustvo *M. phaseolina* kao sekundarnog uzročnika infekcije. Diferencijalna analiza, agregirana na nivou roda, sprovedena je primenom ANCOM-BC2 metode u okviru R paketa ANCOMBC. Pre analize, taksoni su filtrirani uz uslov minimalne prevalencije od 10% kroz uzorke, dok su uzorci sa veličinom biblioteke manjom od 1000 očitavanja isključeni. P-vrednosti su korigovane za višestruka testiranja korišćenjem Benjamini–Hochberg procedure za kontrolu lažne stope otkrića (FDR). Strukturne nule su detektovane i tretirane tokom modelovanja, a primenjena je i korekcija negativne donje granice radi smanjenja lažno pozitivnih rezultata. Statistička značajnost određena je na osnovu FDR-korigovanog praga od $\alpha = 0,1$. U cilju rešavanja problema nultih vrednosti, dodat je pseudo-broj 1, a sprovedena je i analiza osetljivosti na izbor pseudo-broja (Lin and Peddada, 2024).

3.15.4 Molekularna identifikacija *Macrophomina phaseolina*

Sterilisani unutrašnji deo korena tretiranih biljaka šećerne repe (potpoglavlje 3.17.1) korišćen je za izolaciju fitopatogene gljive *M. phaseolina* na PDA podlogama. Dobijene čiste kolonije i morfološka identifikacija izvršene su prema metodi opisanoj u Duduk et al. (2023). Genomska DNK izolovana je iz sedmodnevnihih kultura dobijenih izolata korišćenjem kita Quick-DNA™ Fungal/Bacterial Miniprep, u skladu sa uputstvom proizvođača. PCR amplifikacija je sprovedena u reakcionoj smeši od 25 μL, koja je sadržala 12,5 μL FastGene Taq ready mix-a sa bojom (NIPPON Genetics Europe, GmbH, Düren, Nemačka), 0,25 μL svakog prajmera (10 μM), 2

μ L DNK matrice i PCR vode do finalnog volumena. Molekularna identifikacija sprovedena je amplifikacijom dva genska regiona: ITS1 (delimični 18S + ITS1 + delimični 5.8S) i ITS2 (delimični 5.8S + ITS2 + delimični 28S). Korišćene sekvence prajmera bile su: ITS1-F (TCCGTAGGTGAACCTGCGG) i ITS4-R (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White et al., 1990); kao i ITS3-F (GCATCGATGAAGAACGCAGC) i TW13-R (GGTCCGTGTTTCAAGACG) (White et al., 1990; Tedersoo et al., 2015). Za amplifikaciju pomoću ITS1-F/ITS4-R prajmera, PCR program se sastojao od inicijalne denaturacije na 95 °C tokom 10 minuta, zatim 30 ciklusa denaturacije na 95 °C tokom 45 sekundi, vezivanja prajmera na 55 °C tokom 45 sekundi i polimerizacije na 72 °C tokom 90 sekundi. Završna polimerizacija izvedena je na 72 °C tokom 10 minuta. Kada su korišćeni ITS3-F/TW13-R prajmeri, program je uključivao inicijalnu denaturaciju na 94 °C tokom 4 minuta, zatim 30 ciklusa denaturacije na 94 °C tokom 30 sekundi, vezivanje prajmera na 55 °C tokom 30 sekundi i polimerizacije na 72 °C tokom jednog minuta, sa završnom polimerizacijom na 72 °C tokom 10 minuta. PCR produkti su prečišćeni korišćenjem kita za prečišćavanje amplikona (Euroclone spinNAker Gel&PCR DNA Purification Kit, Italija) prema uputstvu proizvođača, a zatim sekvencirani putem Eurofins Genomics Europe Sequencing servisa (Beč, Austrija), korišćenjem prajmera ITS1 ili ITS3-F, u zavisnosti od toga koji su korišćeni u PCR amplifikaciji. Dobijene sekvence analizirane su pretragom homolognih sekvenci referentnih sojeva u NCBI GenBank bazi podataka primenom BLASTn algoritma. Sekvence filogenetski najbližih sojeva korišćene su za potvrdu taksonomske identifikacije. Poravnanje sekvenci izvršeno je pomoću CLUSTAL W algoritma, implementiranog u programu BioEdit 7.2.5, a nukleotidne pozicije su ručno proverene.

3.16 Sekvenciranje genoma bakterijskih kandidata i bioinformatička analiza

Za sekvenciranje celokupnog genoma (*eng. Whole Genome Sequencing*, WGS) bakterijskih kandidata KO3-18, KO3-19, KO3-44, C3-16/2.1 i C3-19, DNK uzorci prethodno izolovani pomoću ZymoBIOMICSTM DNA Mini Kit D4300 (Zymo Research, Irvin, SAD) u skladu sa uputstvom proizvođača, poslani su u komercijalni servis Novogene Co (Cambridge Science Park, UK). Kvalitet biblioteka za sekvenciranje procenjen je korišćenjem uređaja Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Klara, SAD) uz upotrebu Agilent DNA 1000 kita istog proizvođača. Sekvenciranje je sprovedeno na platformi Illumina MiSeq, primenom uparenog sekvenciranja (*eng. paired-end*) 2 × 250 bp, koristeći MiSeq Reagent Kit v3 (Illumina Inc., San Dijego, SAD), u skladu sa uputstvom proizvođača.

Provera kvaliteta sirovih sekvenci urađena je pomoću alata fastQC (Andrews, 2010), dok je uklanjanje adaptera, prekratkih, sekvenci lošeg kvaliteta i poli-G-repova izvršeno pomoću alata *fastp* (Chen et al., 2018). Asembliranje genoma sprovedeno je korišćenjem Shovill toka obrade (Seemann, 2016). U prvom koraku izvršeno je „downsampling“ sekvenci na dubinu pokrivenosti od 100×, u cilju smanjenja vremena obrade i potrošnje memorijskih resursa, kao i poboljšanja kvaliteta asembliranih kontiga. Nakon toga sprovedeno je preprocesiranje sekvenci, koje je obuhvatalo dodatnu kontrolu kvaliteta kontiga. *De novo* asembliranje genoma izvedeno je korišćenjem alata SPAdes, koji primenjuje de Bruijn graf pristup. U završnom koraku, kvalitet asembliranog genoma unapređen je primenom alata Pilon (Walker et al., 2014), koji je korišćen za korekciju manjih grešaka u očitavanjima, kao i za uklanjanje nekonzistentnih i prekratkih kontiga, čime je obezbeđena veća tačnost i pouzdanost finalnih sekvenci. Provera kvaliteta asembliranog genoma izvršena pomoću alata QUAST (Gurevich et al., 2013). Sva očitavanja mapirana su na asemblirani genom pomoću algoritma za poravnanje sekvenci BWA-MEM (Li, 2013), nakon čega je sprovedeno finalno sređivanje genoma korišćenjem Pilon alata (Walker et al., 2014). Pilon je primenjen za korekciju manjih insercija i delecija, kao i za potvrdu baza sa visokom dubinom pokrivenosti, čime je unapređena tačnost i kvalitet finalnih sekvenci. Potpunost i kvalitet asembliranih genoma procenjeni su korišćenjem alata BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) (Simão et al., 2015). BUSCO analiza je sprovedena primenom baze podataka *bacteria_odb12*, zasnovane na OrthoDB kolekciji, pri čemu se očekuje prisustvo jednog ortolognog

gena po grupi u potpunom genomu. Anotacija genoma izvršena je pomoću alata Prokka (Seemann, 2014), koji identifikuje kodirajuće gene, tRNK, rRNK i druge genomske elemente. Prosečne sličnosti nukleotida (*eng. Average Nucleotide Identity, ANI*) između genoma izračunata je korišćenjem alata fastANI (Jain et al., 2018), dok je filogenetska analiza sprovedena je korišćenjem alata PhyloPhlAn za analizu više mikrobioloških genoma (Segata et al., 2013). Alat je bio podešen tako da se fokusira na visoko varijabilne pozicije, ukloni fragmentirane ili niskokvalitetne zapise i konstruiše filogenetsko stablo na osnovu konzerviranih marker gena. Potencijalni faktori virulencije identifikovani su korišćenjem baze podataka faktora virulentnosti VFDB (*eng. Virulence Factor Database*) (Zhou et al., 2025) u kombinaciji sa alatom ABRicate (Seemann, 2025), Victors baze podataka (Sayers et al., 2019), dok je alat BTyp3 (Carroll et al., 2020) korišćen za analizu izolata koji pripadaju *Bacillus cereus* grupi. Geni za antimikrobnu rezistenciju pretraženi su primenom alata AMRFinderPlus (NCBI) (Feldgarden et al., 2021), ARG-ANNOT (Antibiotic Resistance Gene-ANNOTation) (Gupta et al., 2014), kao i dodatnom analizom korišćenjem sveobuhvatne baze podataka o rezistenciji na antibiotike (*eng. Comprehensive Antibiotic Resistance Database, CARD*) (Alcock et al., 2023) u kombinaciji sa RGI alatom (Alcock et al., 2023). Dodatno, pretražene su ResFinder (Florensa et al., 2022) i MEGARes baza podataka (Bonin et al., 2023). Pretraga biosintetičkog potencijala za produkciju sekundarnih metabolita izvršena je korišćenjem alata antiSMASH 8.0 (Blin et al., 2025).

4. REZULTATI

4.1 Analiza alfa i beta diverziteta endofitnih bakterija semena hibrida šećerne repe

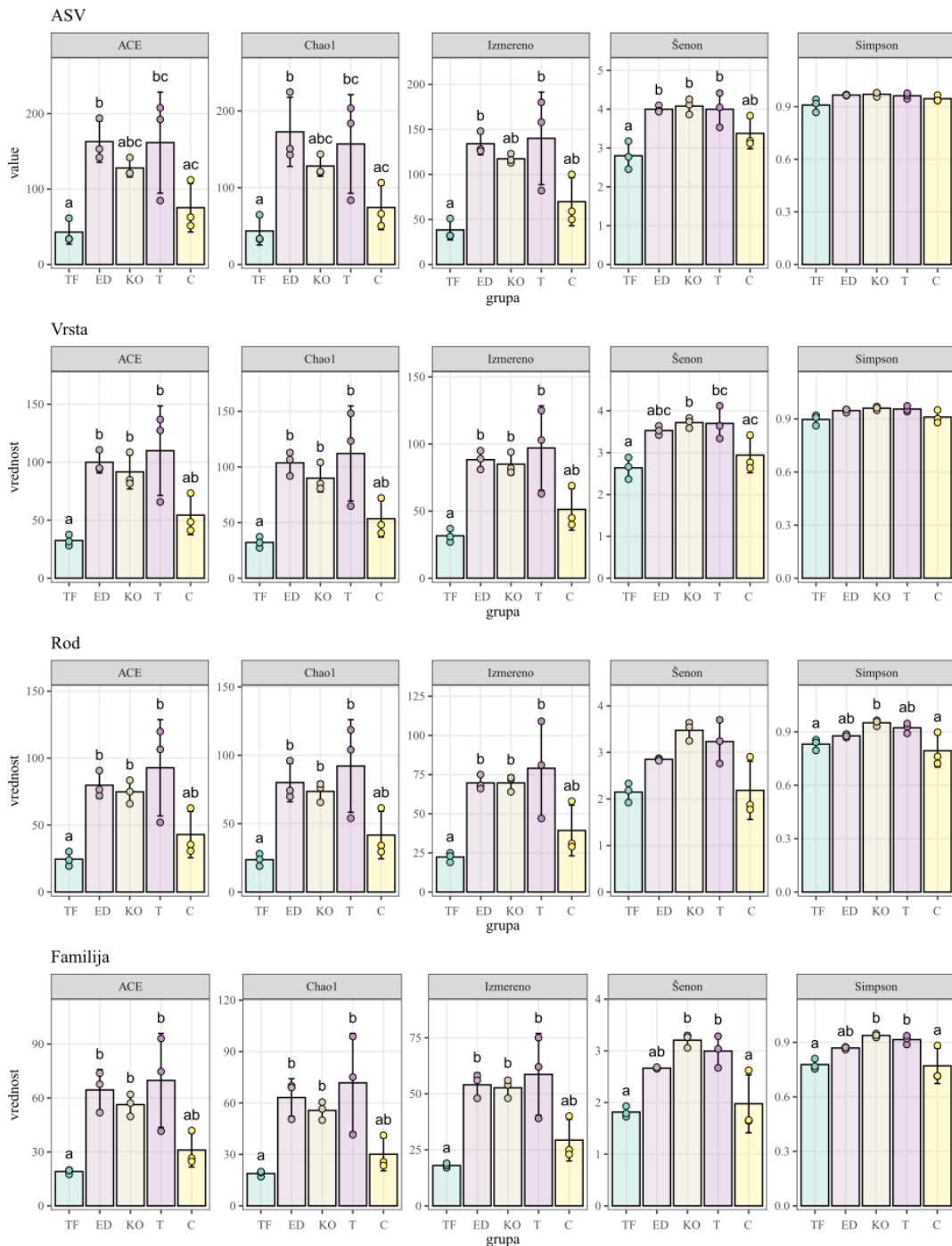
Prosečan broj varijanti amplikonskih sekvenci (*eng. Amplicon Sequence Variant, ASV*) po hibridu, nakon uklanjanja himera, iznosio je 75 838,33 (C), 71 714,33 (ED), 77 315,67 (KO), 73 495,00 (T) i 75 020,67 (TF) (Tabela 9).

Tabela 9. Broj očitanih sekvenci u pet različitih uzoraka semena šećerne repe nakon svake faze obrade.

Uzorak	Ulazni broj sekvenci	Uklanjanje adaptera	Filtrirane sekvence	Denoizirane sekvence (forward)	Denoizirane sekvence (reverse)	Spojene sekvence	Uklanjanje himera	H+M	Konačni procenat
TF1.1	105 248	104 264	62 487	61 950	61 803	61 158	58 541	3 658	3,48%
TF1.2	111 036	110 562	87 648	87 260	87 339	86 680	83 247	3 946	3,55%
TF1.3	116 831	116 194	87 151	86 811	86 914	86 456	83 274	1 285	1,1%
ED1.1	116 927	115 977	85 270	84 287	83 985	82 014	76 499	6 231	5,33%
ED1.2	104 409	103 697	79 438	78 249	77 888	75 313	69 646	7 486	7,17%
ED1.3	109 353	108 312	76 639	75 469	75 179	73 213	68 998	5 833	5,33%
KO1.1	116 652	115 753	79 789	78 885	78 613	77 236	73 485	3 606	3,09%
KO1.2	103 073	102 414	81 388	80 415	80 131	78 430	72 304	6 920	6,71%
KO1.3	118 360	117 804	95 333	94 478	94 206	92 234	86 158	4 235	3,58%
T1.1	102 613	101 721	72 203	71 387	71 221	69 809	66 016	4 524	4,41%
T1.2	110 570	109 453	85 930	84 806	84 293	82 111	76 010	8 216	7,43%
T1.3	114 251	113 606	88 201	86 828	86 106	83 499	78 459	5 085	4,45%
C1.1	101 470	100 661	68 275	67 433	67 081	65 743	62 361	4 014	3,96%
C1.2	102 891	102 383	82 522	82 214	82 184	81 711	77 900	2 982	2,9%
C1.3	117 585	116 969	93 107	92 702	92 786	92 232	87 254	2 288	1,95%

Eduarda (ED), Koala (KO), Tibor (T), Tajfun (TF) and *Cercospora*-otporni (C); H+M - Uklanjanje hloroplastnih i mitohondrijskih sekvenci i sekvenci neodređenog taksona

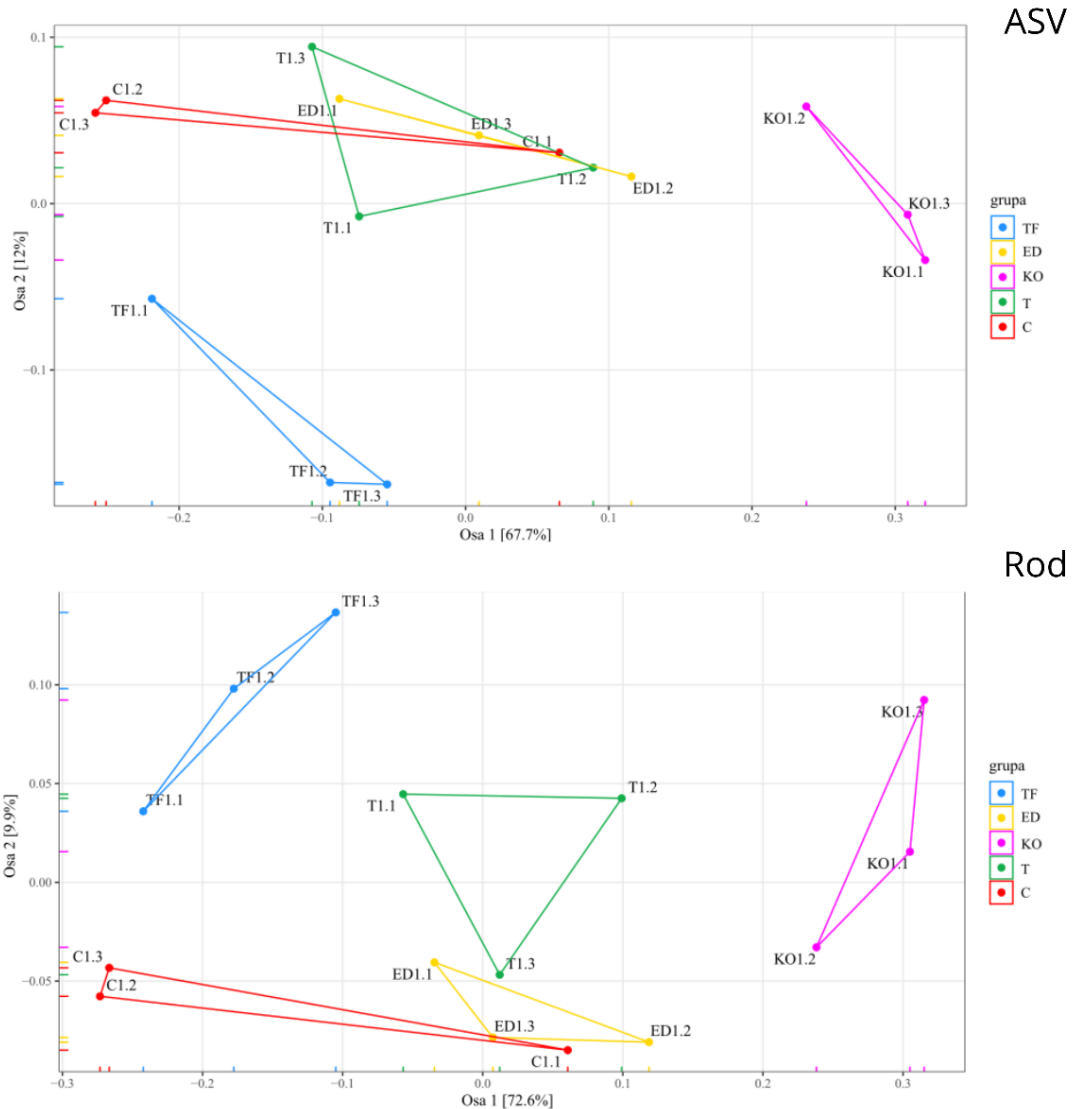
Alfa diverzitet je procenjen na osnovu broja opaženih taksona, kao i indeksa Chao1, ACE, Šenon i Simpson, na nivou familije, roda, vrste i ASV (Slika 17). Veći alfa diverzitet uočen je kod hibrida ED, KO i T na svim taksonomskim nivoima, za razliku od hibrida C i TF, pri čemu je opaženo bogatstvo pokazalo dobru korelaciju sa procenjenim bogatstvom vrsta, osim na ASV nivou. Hibrid ED je pokazao najveće bogatstvo prema Chao1 i ACE indeksima na ASV nivou, dok su hibridi ED i T imali najveće opaženo bogatstvo prema OBS indeksu. Nasuprot tome, hibrid TF je dosledno pokazivao najniže bogatstvo na svim taksonomskim nivoima, kako prema procenjenim, tako i prema opaženim indikatorima bogatstva. Šenonov i Simpsonov indeks nije ukazao na statistički značajne razlike u alfa diverzitetu na nivou familije između hibrida TF i C, kao ni između hibrida KO i T. Međutim, na nivou vrste utvrđene su statistički značajne razlike između svih hibrida, pri čemu je Šenonov indeks bio diskriminatorni faktor. Suprotno tome, na ASV nivou nisu uočene statistički značajne razlike između hibrida ED, KO i T, dok su hibridi C i TF pokazali značajne razlike u odnosu na sve ostale hibride.



Slika 17. Alfa diverzitet semena pet hibrida - Tajfun (TF), Eduarda (ED), Koala (KO), Tibor (T) i *Cercospora*-otporni (C).

PCoA analiza je pokazala da se hibrid KO na ASV nivou odvaja od ostalih hibrida duž ose 1, koja objašnjava 67,7% varijabilnosti, dok su hibridi ED, C i T grupisani zajedno (Slika 18). Hibrid TF pokazao je jasno razdvajanje duž ose 2, koja objašnjava 12% varijanse. Jasnija separacija hibrida uočena je na nivou roda. Prva osa (72,6% varijabilnosti) ukazala je da se hibridi C i TF razlikuju od ostalih hibrida na osnovu sastava rodova, pri čemu je hibrid KO bio najudaljeniji od svih ostalih. Dodatno, duž druge ose (9,9% varijabilnosti) uočeno je jasno razdvajanje hibrida C od hibrida TF i ostalih hibrida, kao i njegova povezanost sa hibridom ED. Na nivou roda i ASV, hibridi KO i TF su se pokazali udaljenijim u odnosu na preostale hibride. Rezultati PERMDISP2 analize nisu ukazali na statistički značajne razlike u disperziji između hibrida ni na jednom taksonomskom

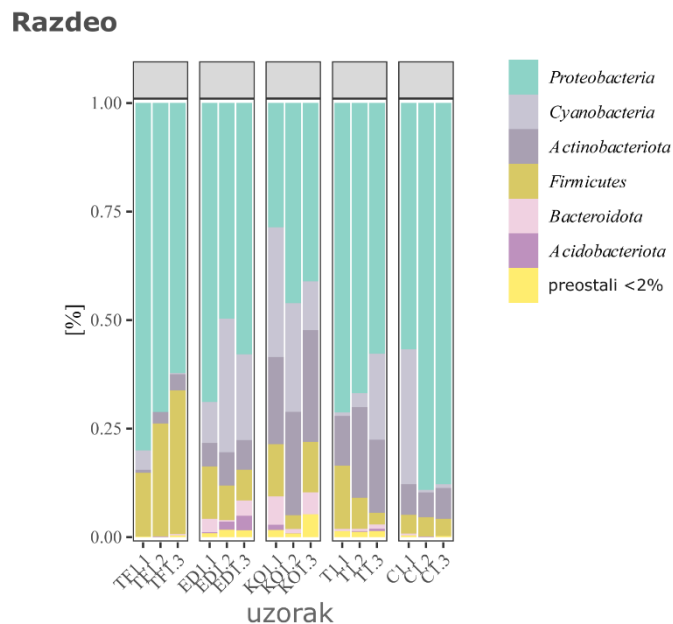
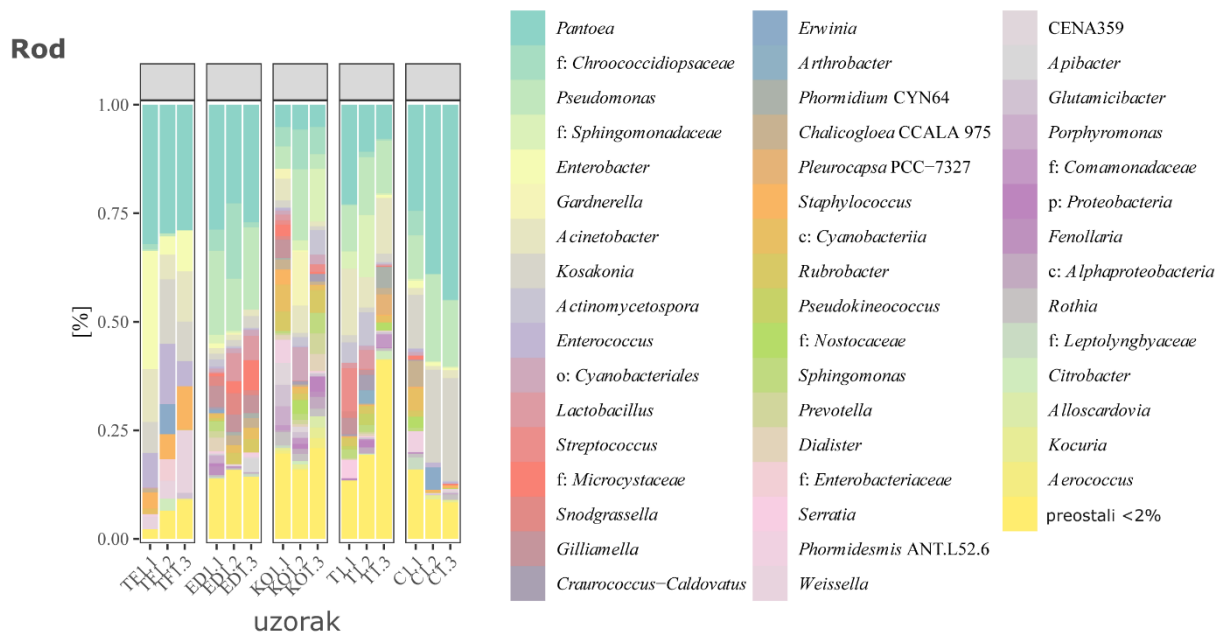
nivou. Međutim, PERMANOVA test je pokazao statistički značajne razlike između hibrida ($p = 0,001$) na svim taksonomskim nivoima.



Slika 18. Beta diverzitet semena pet hibrida - Tajfun (TF), Eduarda (ED), Koala (KO), Tibor (T) i *Cercospora*-otporni (C).

4.2 Relativna zastupljenost bakterijskih razdela i rodova u semenu hibrida šećerne repe

Ukupno je detektovano 16 bakterijskih razdela, pri čemu je razdeo *Proteobacteria* bio najzastupljeniji kod svih pet hibrida, sa RA u rasponu od 38,63% kod hibrida KO do 77,90% kod hibrida C (Slika 19).



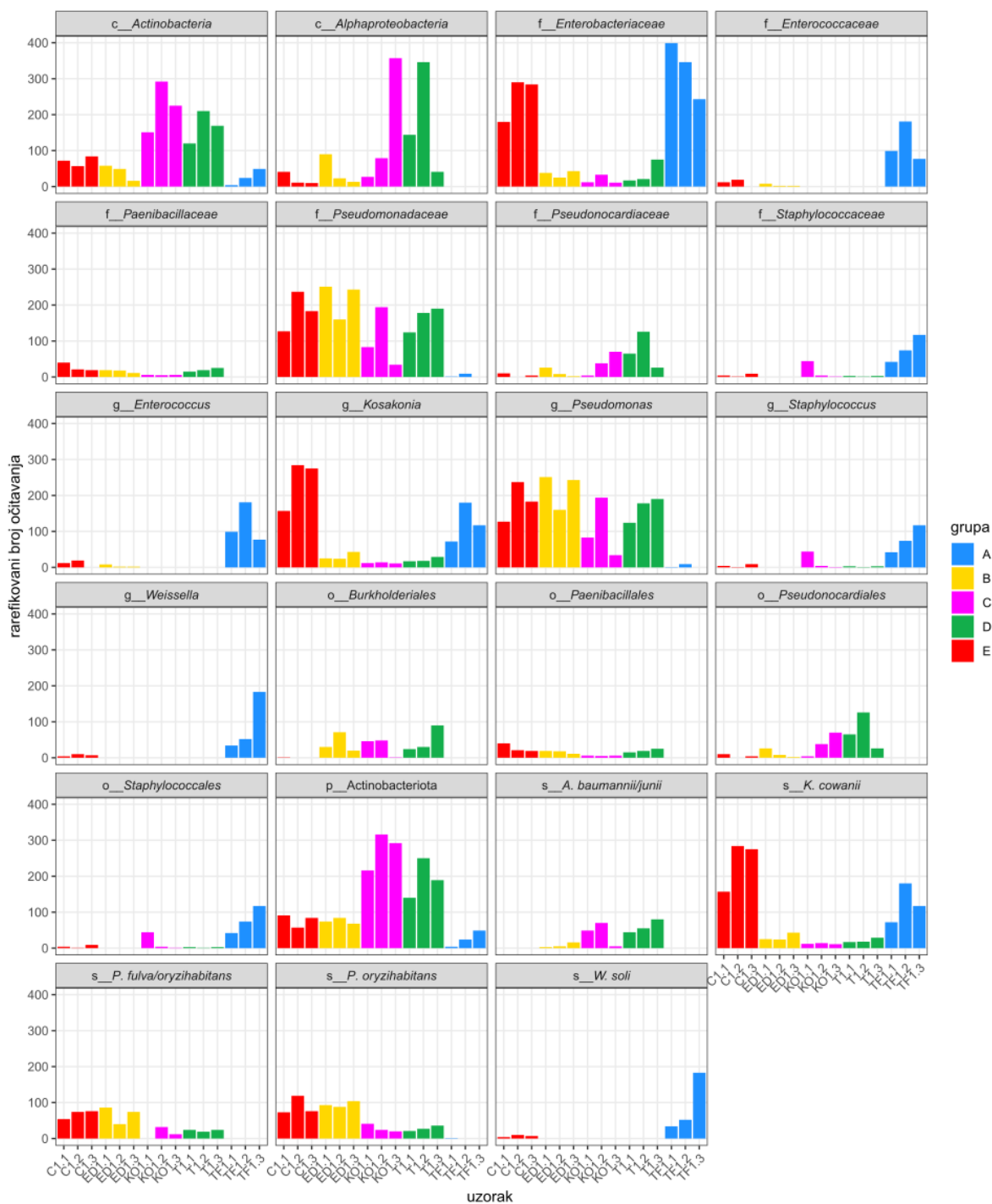
Slika 19. Relativna zastupljenost bakterijskih taksona povezanih sa semenom pet hibrida šećerne repe na nivou razdela (dole) i rodova (gore): Tajfun (TF), Eduarda (ED), Koala (KO), Tibor (T) i *Cercospora*-otporni (C).

Sledeći dominantni razdeli kod većine hibrida bili su *Cyanobacteria* i *Actinobacteriota*, izuzev hibrida TF. Najveća zastupljenost razdela *Firmicutes* zabeležena je kod hibrida TF (RA 24,65%), dok je *Bacteroidota* bio najzastupljeniji kod hibrida KO (4,20%). Na nivou roda, najzastupljeniji je rod *Pantoea*, detektovana kod svih hibrida, a najviše zastupljen kod hibrida C (36,09%), TF (30,23%) i ED (26,17%). Rod *Pseudomonas* bio je drugi po zastupljenosti kod svih hibrida, osim kod hibrida TF. Hibrid TF se generalno odlikovao dominacijom rodova *Pantoea* (30,23%), *Enterobacter* (13,63%), *Kosakonia* (10,35%), *Acinetobacter* (9,82%), *Enterococcus* (9,22%), *Weissella* (7,14%), *Staphylococcus* (6,47%) i *Erwinia* (2,31%). Kod hibrida KO najzastupljeniji su bili rodovi *Pseudomonas* (8,27%), neidentifikovan rod iz familije *Chroococcidiopsaceae* (6,65%), *Pantoea* (5,30%), *Gardnerella* (4,88%), *Acinetobacter* (4,13%) i *Rubrobacter* (3,71%). Dominantni rodovi kod hibrida T bili su *Pantoea* (13,87%), *Pseudomonas*

(12,09%) i *Acinetobacter* (11,74%), a zatim *Actinomycetospora* i *Streptococcus* (4,25% i 3,38%, redom). Hibrid C pokazao je najniži diverzitet rodova i bio je dominantno kolonizovan rodovima *Pantoea* (36,09%), *Kosakonia* (19,15%) i *Pseudomonas* (15,10%). Kod hibrida ED najčešće su detektovani rodovi *Pantoea* (26,17%), *Pseudomonas* (16,76%), *Gilliamella* (4,37%) i *Lactobacillus* (4,11%), kao i dva neidentifikovana taksona koji pripadaju familijama *Chroococcidiopsaceae* (7,81%) i *Microcystaceae* (3,48%). Rod *Songrasella* (2,72%) bio je posebno zastupljen kod hibrida ED. Najveći prosečan broj očitavanja za *Pantoea agglomerans/ananatis/conspicua/eucalypti/vagans* na ASV nivou zabeležen je kod hibrida TF, C i T (Prilog 1). *Kosakonia cowanii*, sa najvećim procentom očitavanja, detektovana je kod hibrida C i TF, dok je njena zastupljenost bila značajno smanjena kod hibrida ED, KO i T. *Acinetobacter lwoffii* je detektovana kod hibrida T. Pored toga, ASV povezani sa *Acinetobacter baumannii/junii* pokazali su sličnu zastupljenost kod hibrida T i KO, dok su ASV koji pripadaju vrstama *Acinetobacter bouvetii/haemolyticus/johnsonii/oryzae* bili karakteristični za hibrid TF. Rod *Weissella* bio je visoko zastupljen kod hibrida TF, pri čemu je 7% očitavanja pripadalo vrsti *Weissella soli*. Takođe, *Enterococcus saccharolyticus* je bio izrazito zastupljen kod hibrida TF. Veći procenat ASV očitavanja za *Pseudomonas oryzihabitans* i *Pseudomonas fulva/oryzihabitans* zabeležen je kod hibrida C i ED.

4.3 Analiza diferencijalne zastupljenosti endofitnih bakterija semena između hibrida

Analizom diferencijalne zastupljenosti identifikovana su 23 taksona koji su bili značajno zastupljeniji u pojedinim hibridima (Slika 20). Konkretno, taksoni iz razdela *Actinobacteria* i *Alphaproteobacteria* pokazali su značajno veću zastupljenost kod hibrida KO i T. Nasuprot tome, familije *Pseudomonadaceae*, *Paenibacillaceae*, *Pseudonocardiaceae*, *Enterococcaceae* i *Staphylococcaceae* ispoljile su statistički značajne razlike u zastupljenosti između hibrida. Hibridi TF i C pokazali su značajno veću zastupljenost familije *Enterobacteriaceae* u poređenju sa ostalim hibridima. Iako je familija *Pseudomonadaceae* detektovana u svim uzorcima, njena zastupljenost bila je statistički viša kod hibrida ED, KO, T i E u odnosu na hibrid TF. Slično tome, familija *Paenibacillaceae* bila je zastupljenija kod hibrida T i C, dok je familija *Pseudonocardiaceae* bila dominantnija kod hibrida KO i T. Familije *Enterococcaceae* i *Staphylococcaceae* pokazale su najvišu zastupljenost kod hibrida TF u poređenju sa ostalim hibridima. Razdvajanje hibrida bilo je uslovljeno prisustvom redova *Burkholderiales*, *Paenibacillales*, *Pseudonocardiales* i *Staphylococcales*. Red *Burkholderiales* pokazao je statističko značajnu zastupljenost kod hibrida ED, KO i T, dok je red *Paenibacillales* bio karakterističan za sve hibride u poređenju sa hibridom TF.



Slika 20. Analiza diferencijalne zastupljenosti taksona u semenu pet hibrida šećerne repe: Tajfun (TF), Eduarda (ED), Koala (KO), Tibor (T) i *Cercospora*-otporni (C).

Red *Pseudonocardiales* bio je zastupljeniji kod hibrida KO i T, dok je red *Staphylococcales* dominirao kod hibrida TF. Na nivou roda, *Weissella*, *Staphylococcus* i *Enterococcus* bili su značajno zastupljeni isključivo kod hibrida TF. Slično tome, *Weissella soli* je pokazala najvišu učestalost kod hibrida TF. Rod *Kosakonia*, sa vrstom *K. cowanii*, pokazao je statistički značajno veću zastupljenost kod hibrida TF i C u poređenju sa ostalim hibridima, pri čemu je najveća prevalenca zabeležena kod hibrida C. Pored toga, rod *Pseudomonas* bio je zastupljeniji kod hibrida ED i KO u odnosu na ostale hibride, što je potvrđeno i za vrstu *Pseudomonas oryzihabitans*. Sveukupno, analiza diferencijalne zastupljenosti ukazala je na jasne taksonomske razlike između hibrida, potvrđujući značajne varijacije u zastupljenosti specifičnih taksona i rodova, i pružajući važne uvide u sastav i diverzitet mikrobioloških zajednica u ispitivanim populacijama.

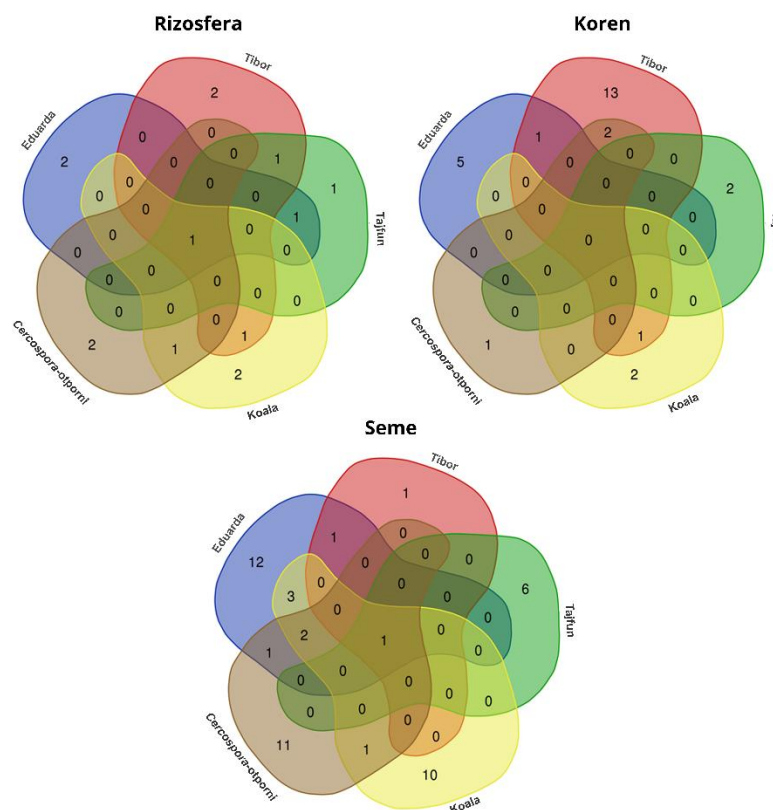
4.4 Diverzitet kultivabilnih endofita i bakterija rizosfere hibrida šećerne repe

Ukupno je iz svih hibrida dobijeno 156 izolata, među kojima su identifikovane redom 22, 31 i 63 jedinstvene vrste iz rizosfere, korena i semena (Tabela 10).

Tabela 10. Broj jedinstvenih i zajedničkih vrsta za rizosferu, koren i seme svih hibrida šećerne repe.

Hibridi	Broj vrsta	Broj jedinstvenih vrsta
Rizosferni izolati		
<i>Cercospora</i> -otporni	4	4
Eduarda	4	4
Koala	7	5
Tajfun	4	4
Tibor	7	5
Ukupan broj	26	22
Endofiti korena		
<i>Cercospora</i> -otporni	5	3
Eduarda	7	6
Koala	5	3
Tajfun	2	2
Tibor	18	17
Ukupan broj	37	31
Endofiti semena		
<i>Cercospora</i> -otporni	25	16
Eduarda	26	20
Koala	28	17
Tajfun	9	7
Tibor	5	3
Ukupan broj	93	63

Rizosfera svakog hibrida šećerne repe sadržala je vrste specifične isključivo za taj hibrid, dok je samo jedna zajednička vrsta bila prisutna kod svih hibrida (Slika 21).



Slika 21. Zajedničke i jedinstvene kultivabilne bakterijske vrste u rizosferi, korenu i semenu šećerne repe.

Za korene svih pet hibrida nije identifikovana zajednička vrsta. Posebno se istakao hibrid T, čiji je koren imao najviši diverzitet sa 13 jedinstvenih vrsta. Poređenjem različitih hibrida uočeno je da su koreni ED, KO i C hibrida delili jednu do dve vrste isključivo sa hibridom T. Rizosfera hibrida šećerne repe pokazala je da je *Lysinibacillus macroides* fundamentalna vrsta za svih pet analiziranih hibrida i centralni član ove ekološke niše. Iz različitih uzoraka su pored *L. macroides* identifikovane vrste *L. pakistanensis* i *L. fusiformis*, za koje je utvrđeno da su sve tri prisutne u rizosferi hibrida TF (Tabela 11, Prilog 2).

Koren je bio posebno bogat rodovima *Paenibacillus*, *Curtobacterium*, *Mycetocola*, *Knoellia*, *Neorhizobium*, *Microbacterium*, *Rhodococcus*, *Massilia* i *Rathayibacter*, sa ukupno 93 izolata. Najveći diverzitet u semenu zabeležen je kod hibrida ED, KO i C (Prilog 2). *Bacillus subtilis* je bio jedinstvena vrsta pronađena u semenu svih hibrida (Tabela 11). Pored toga, značajni endofiti semena pripadali su rodovima *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Kocuria*, *Sanguibacter*, *Pantoea*, *Glutamicibacter*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Providencia* i *Pseudoclavibacter*. Takođe, *Curtobacterium pusillum* je bio jedinstvena vrsta za seme hibrida C, ED i KO, dok je *Bacillus sonorensis* izolovan isključivo iz semena hibrida T (Tabela 11, Prilog 2). Analiza diverziteta kultivabilnih bakterija u rizosferi, korenu i semenu svakog hibrida zasebno pokazala je minimalno preklapanje vrsta među različitim nišama.

Tabela 11. Preklapanje kultivabilnih bakterija kod pet hibrida šećerne repe iz rizosfere, korena i semena.

Hibridi	Broj jedinstvenih vrsta	Vrsta
Rizosfera		
<i>Cercospora</i> -otporni, Eduarda, Koala, Tajfun i Tibor	1	<i>Lysinibacillus macroides</i>
Eduarda i Tajfun	1	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>
Tajfun i Tibor	1	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>
Koala i Tibor	1	<i>Bacillus wiedmannii/proteolyticus/fungorum</i>
<i>Cercospora</i> -otporni i Koala	1	<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>
Eduarda	2	<i>Cytobacillus ciccensis; Bacillus badius</i>
Tibor	2	<i>Priestia aryabhattai; Bacillus altitudinis/aerophilus/stratosphericus</i>
Tajfun	1	<i>Bacillus mobilis</i>
Koala	2	<i>Brevibacillus reuszeri; Rossellomorea marisflavi</i>
<i>Cercospora</i> -otporni	2	<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis; Brevibacillus borstelensis</i>
Koren		
Eduarda i Tibor	1	<i>Bacillus velezensis</i>
Koala i Tibor	1	<i>Micrococcus aloeverae</i>
<i>Cercospora</i> -otporni i Tibor	2	<i>Massilia timonae; Micrococcus luteus</i>
Eduarda	5	<i>Knoellia locipacati; Microbacterium thalassium; Mycetocola manganooxydans; Paenibacillus taichungensis; Curtobacterium pusillum</i>
Tibor	13	<i>Kocuria rosea; Rathayibacter tritici; Paenibacillus lautus; Microbacterium testaceum; Arthrobacter oryzae; Neorhizobium huautlense; Neobacillus niacini; Paenibacillus catalpae/lupini; Rhodococcus cerastii; Metabacillus indicus; Rhodococcus corynebacterioides; Paenibacillus azotifigens; Bacillus halotolerans</i>
Tajfun	2	<i>Micrococcus luteus/aloeverae; Bacillus subtilis</i>
Koala	2	<i>Staphylococcus epidermidis; Micrococcus terreus</i>
<i>Cercospora</i> -otporni	1	<i>Bacillus pseudomycooides</i>
Seme		
<i>Cercospora</i> -otporni, Eduarda, Koala, Tajfun i Tibor	1	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Cercospora</i> -otporni, Eduarda, i Koala	2	<i>Bacillus zhangzhouensis; Curtobacterium pusillum</i>
Eduarda i Tibor	1	<i>Acinetobacter lactucae</i>
Eduarda i Koala	3	<i>Kosakonia cowanii; Micrococcus aloeverae; Pseudomonas oryzihabitans</i>
<i>Cercospora</i> -otporni i Eduarda	1	<i>Bacillus mobilis</i>
<i>Cercospora</i> -otporni i Koala	1	<i>Pantoea agglomerans/Curtobacterium plantarum</i>
Eduarda	12	<i>Glutamicibacter mishrai; Klebsiella michiganensis; Sanguibacter keddieii; Erwinia tasmaniensis; Erwinia persicina; Microbacterium testaceum; Alkalihalobacillus rhizosphaerae; Micrococcus luteus; Providencia sneebia; Staphylococcus succinus subsp. succinus; Providencia vermicola; Frigoribacterium faeni</i>
Tibor	1	<i>Bacillus sonorensis</i>
Tajfun	6	<i>Paenibacillus lautus; Brevundimonas nasdae/vesicularis; Bacillus oleivorans; Bacillus licheniformis; Microbacterium paludicola; Weizmannia ginsengihumi</i>

Koala	10	<i>Okibacterium fritillariae</i> ; <i>Alkalihalobacillus gibsonii</i> ; <i>Pantoea allii</i> ; <i>Microbacterium saccharophilum</i> ; <i>Pantoea agglomerans</i> ; <i>Enterococcus gallinarum</i> ; <i>Bacillus haynesii</i> ; <i>Microbacterium arborescens/imperiale</i> ; <i>Sanguibacter inulinus</i> ; <i>Mixta theicola</i>
<i>Cercospora</i> -otporni	11	<i>Lysinibacillus macroides</i> ; <i>Corynebacterium doosanense</i> ; <i>Bacillus mojavensis</i> ; <i>Lysinibacillus pakistanensis</i> ; <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ; <i>Paenibacillus polymyxa</i> ; <i>Pseudoclavibacter helvolus</i> ; <i>Bacillus pumilus/zhangzhouensis/safensis</i> ; <i>Bacillus wiedmannii/proteolyticus/fungorum</i> ; <i>Bacillus halotolerans</i> ; <i>Bacillus altitudinis/aerophilus/stratosphericus</i>

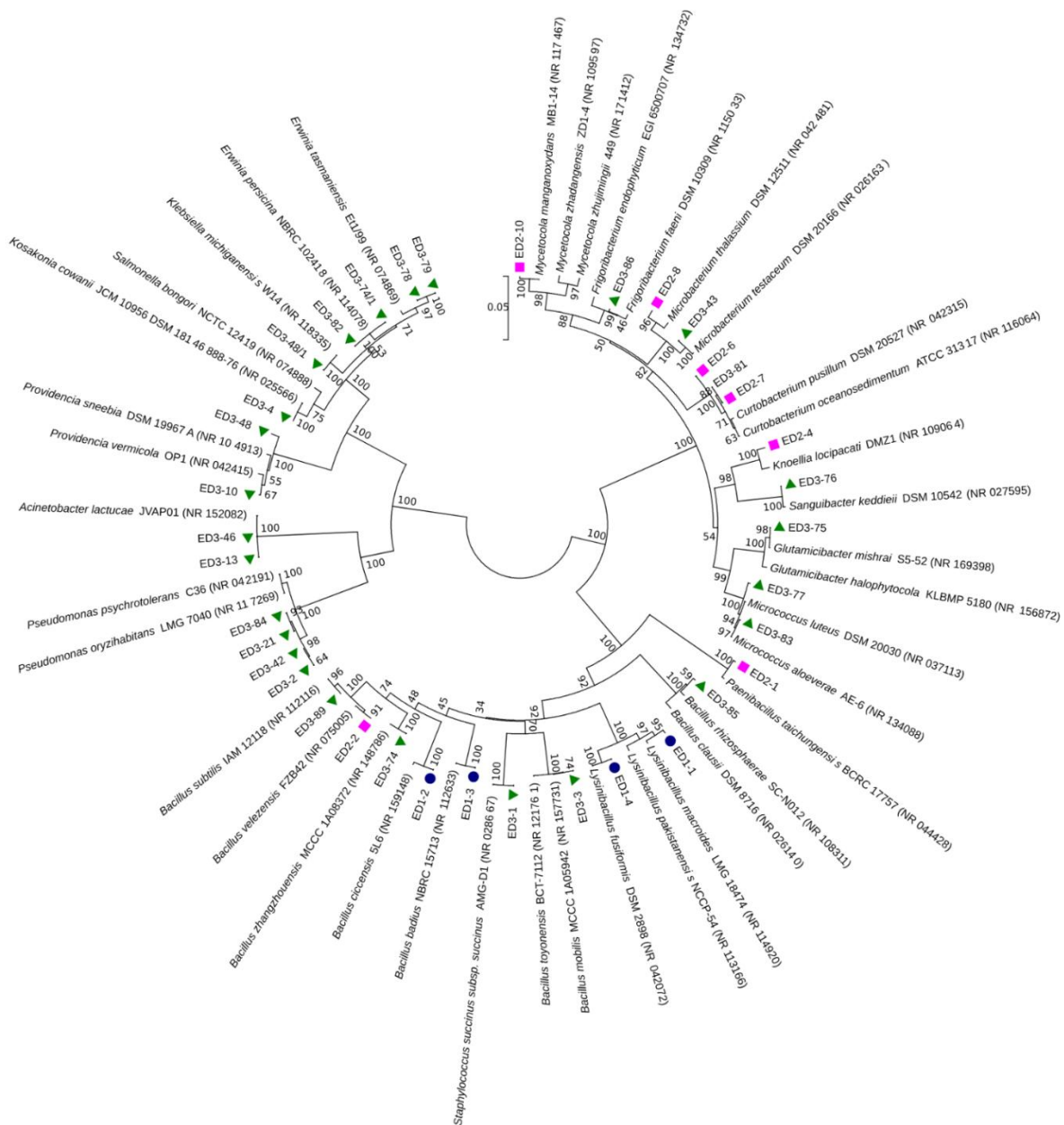
Među 156 izolata utvrđeno je ukupno 11 različitih vrsta oportunih humanih i biljnih patogena prikazanih u Tabeli 12.

Tabela 12. Spisak patogenih bakterijskih izolata iz rizosfere, korena i semena hibrida šećerne repe.

Izolat	Patogene vrste
ED3-1	<i>Staphylococcus succinus</i> subsp. <i>succinus</i>
ED3-2	<i>Pseudomonas oryzae/psychrotolerans</i>
ED3-4	<i>Kosakonia cowanii</i>
ED3-42	<i>Pseudomonas oryzae/psychrotolerans</i>
ED3-48	<i>Providencia sneebia</i>
ED3-74/1	<i>Erwinia persicina</i>
ED3-77	<i>Micrococcus luteus</i>
ED3-82	<i>Erwinia persicina</i>
T2-18	<i>Rathayibacter tritici</i>
T2-22	<i>Micrococcus luteus</i>
KO2-6	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
KO3-2	<i>Kosakonia cowanii</i>
KO3-14	<i>Enterococcus gallinarum</i>
KO3-28/1	<i>Pantoea agglomerans</i>
KO3-30	<i>Pantoea allii</i>
KO3-32	<i>Pseudomonas oryzae/psychrotolerans</i>
C2-5	<i>Micrococcus luteus</i>
C2-6	<i>Micrococcus luteus</i>

4.4.1 Identifikacija izolata iz hibrida Eduarda

Ukupno 37 izolata dobijeno je iz hibrida Eduarda, 4 izolata iz rizosfere, 7 iz korena i 26 iz semena (Slika 22).

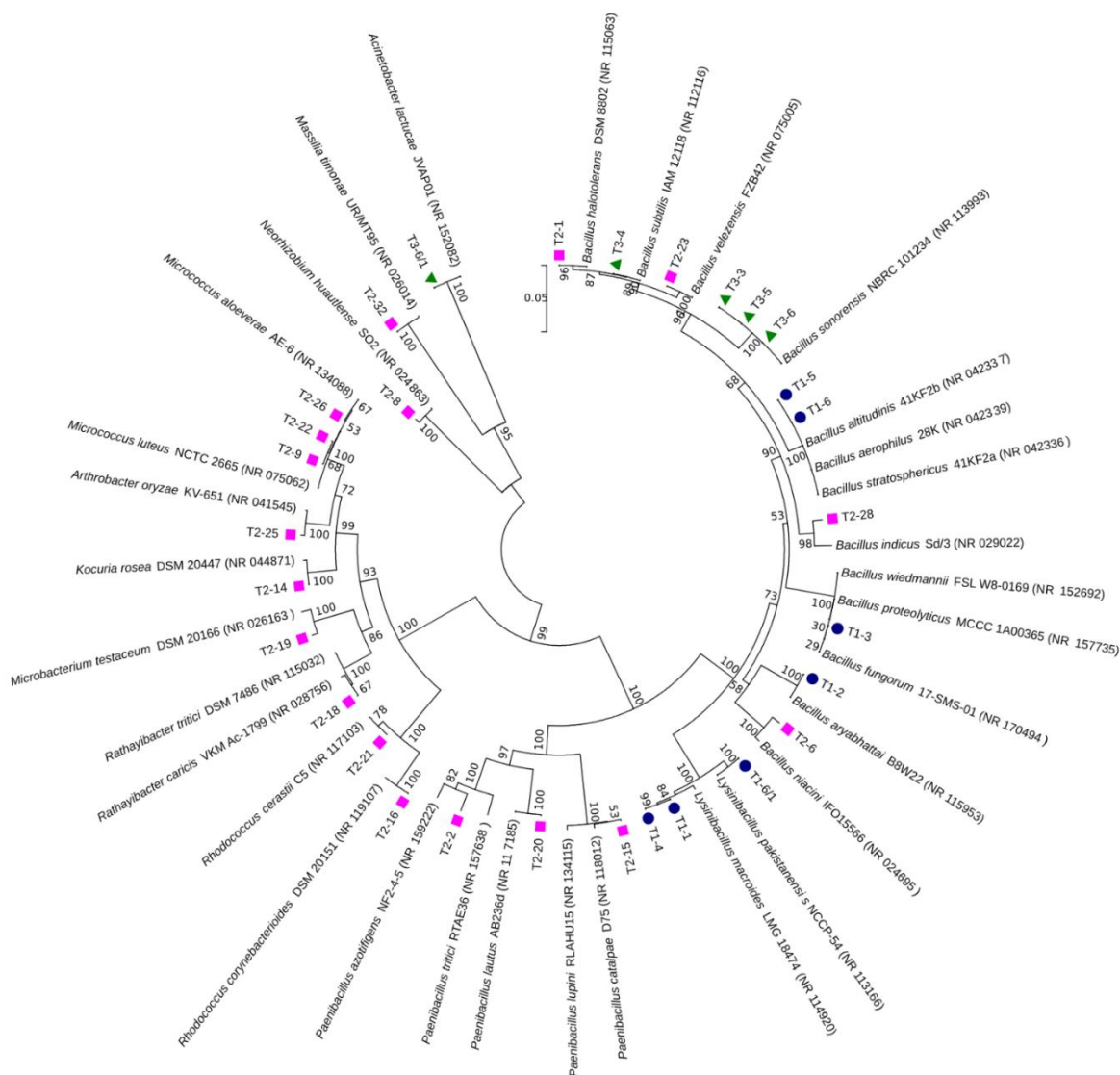


Slika 22. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz hibrida Eduarda; ● – rizosfera, ■ – koren, ▲ – seme.

Curtobacterium pusillum uspešno je izolovan iz korena (ED2-6, ED2-7) i semena (ED-81), čineći time jedinu zajedničku vrstu za koren i seme. Međutim, nije bilo preklapanja u dobijenim vrstama iz rizosfere, korena i semena ovog hibrida istovremeno. Jedinствене vrste koje su karakterisale rizosferu hibrida Eduarda bile su *Cytobacillus ciccensis* (sinonim *Bacillus ciccensis*) i *Bacillus badius*. Jedinствене vrste izolovane iz korena bile su *Paenibacillus taichungensis*, *Knoellia locipacati*, *Mycetocola manganoxydans* i *Microbacterium thalassium*, dok je *B. velezensis* pored hibrida Eduarda bila karakteristična vrsta i za koren hibrida Tibor. Među endofitima semena našle su se i vrste *B. subtilis*, *B. mobilis*, *B. zhangzhouensis*, *Acinetobacter lactucae* i *Microbacterium testaceum* koje su pronađene i kod drugih hibrida, dok su *Glutamicibacter mishrai*, *Erwinia tasmaniensis*, *Alkalihalobacillus rhizosphaerae* (sinonim *Bacillus rhizosphaerae*), *Sanguibacter keddieii*, *Klebsiella michiganensis*, *Providencia vermicola* i *Frigoribacterium faeni* bile jedinstvene vrste izolovane samo iz semena hibrida Eduarda.

4.4.2 Identifikacija izolata iz hibrida Tibor

Molekularna identifikacija kultivabilnih bakterija pokazala je da nema preklapanja u vrstama između rizosfere, korena i semena (Slika 23).

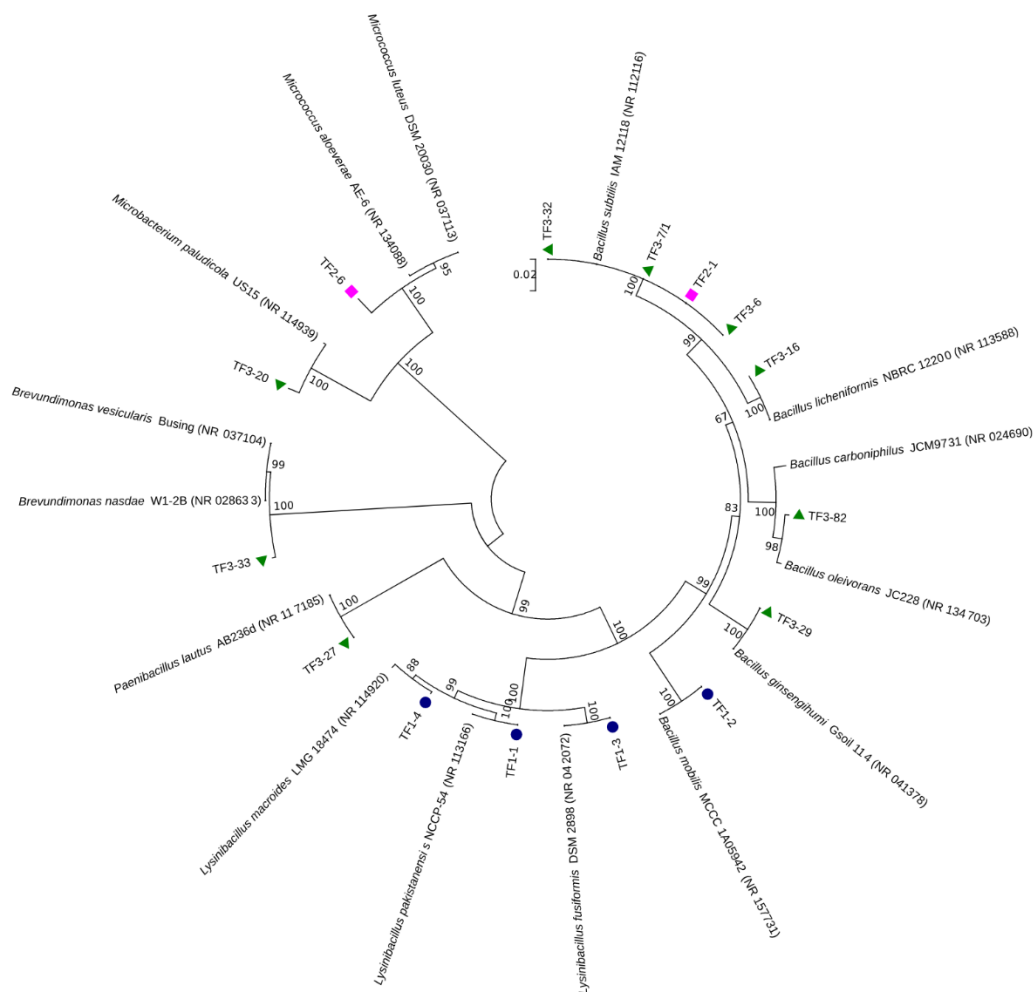


Slika 23. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz hibrida Tibor; ● – rizosfera, ■ – koren, ▲ – seme.

Ukupno 30 izolata dobijeno je iz hibrida Tibor, 7 izolata iz rizosfere, 18 iz korena i 5 iz semena. U rizosferi dominiraju vrste rodova *Bacillus* i *Lysinibacillus*, dok je diverzitet endofita poreklom iz korena daleko raznovrsniji. Pored sveprisutne vrste u rizosferama *L. macroides*, rod *Lysinibacillus* u rizosferi zastupljen je i sa vrstom *L. pakistanensis*. Vrste kao što su *Paenibacillus azotifigens*, *Neobacillus niacini*, *Neorhizobium huautlense*, *Kocuria rosea*, *Paenibacillus catalpae*, *Rhodococcus corynebacterioides*, *Rhodococcus cerastii*, *Arthrobacter oryzae*, *B. halotolerans*, *Paenibacillus lautus*, *M. testaceum* i *Metabacillus indicus* izolovane su samo iz hibrida Tibor i bile su specifične za koren ovog hibrida. Kao endofiti korena dobijeni su *Micrococcus aloeverae*, *B. velezensis* i *Massilia timonae*. Seme hibrida Tibor karakteriše zastupljenost vrsta *B. subtilis*, *A. lactuca*, kao i *B. sonorensis* koja se izdvojila kao jedinstvena vrsta semena ovog hibrida.

4.4.3 Identifikacija izolata iz hibrida Tajfun

Prema molekularnoj identifikaciji *B. subtilis* jedini je izolat koji je istovremeno zastupljen u korenu i semenu hibrida Tajfun (Slika 24), dok su preostali izolati bili specifični po poreklu izolacije.

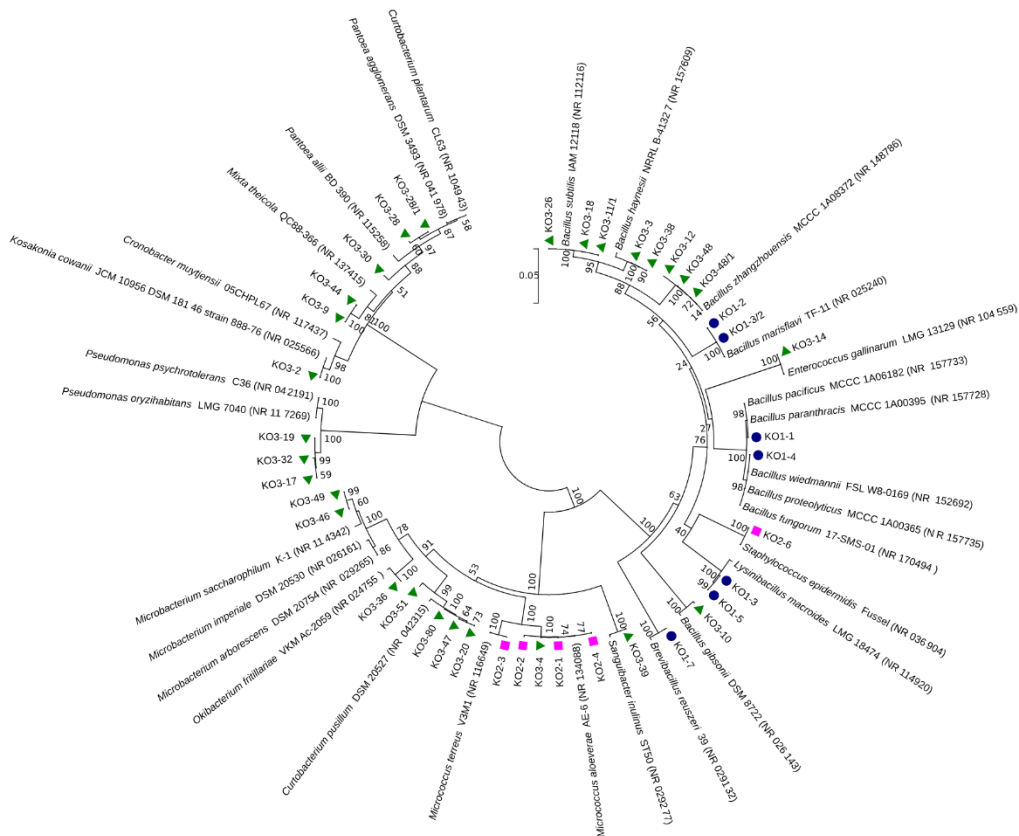


Slika 24. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz hibrida Tajfun; ● – rizosfera, ■ – koren, ▲ – seme.

U rizosferi najdominantniji rod bio je *Lysinibacillus* sa tri različite vrste. Pored vrste *B. subtilis* iz korena je izolovan još jedan izolat koji deli visoku srodnost sa genom za 16S rRNK vrsta *Micrococcus aloeverae* i *Micrococcus luteus*. Izuzev vrste *B. subtilis* koja je su identifikovana i kod drugih hibrida, *B. licheniformis*, *P. lautus*, *Microbacterium paludicola*, *Weizmannia ginsengihumi* (sinonim *Bacillus ginsengihumi*), *Brevundimonas nasdae/vesicularis* i *Bacillus oleivorans* bile su jedinstvene samo za seme ovog hibrida.

4.4.4 Identifikacija izolata iz hibrida Koala

U okviru hibrida Koala sve dobijene vrste bile su specifične za poreklo izolacije (Slika 25), izuzev vrste *M. aloeverae*, koja je istovremeno bila zastupljena u korenu i semenu hibrida.

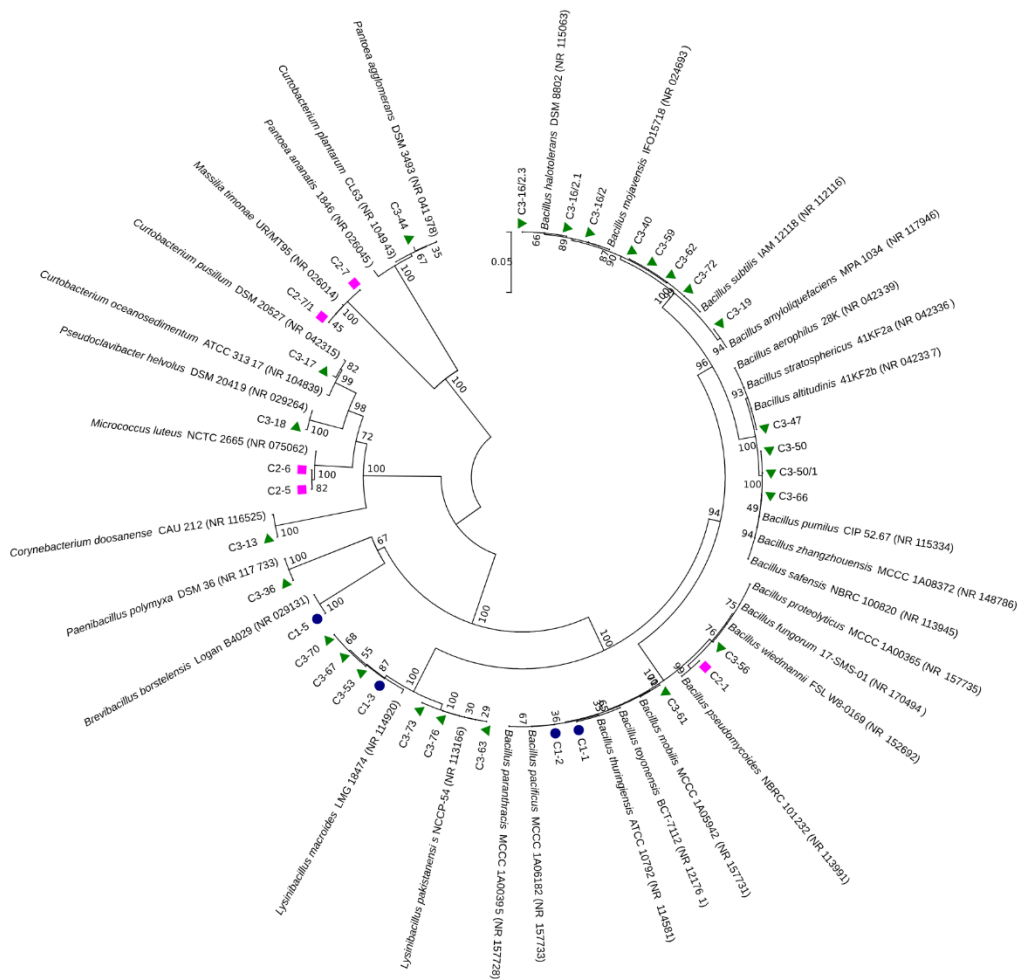


Slika 25. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz hibrida Koala; ● – rizosfera, ■ – koren, ▲ – seme.

Sedam izolata dobijeno je iz rizosfere, pet iz korena i 28 iz semena ovog hibrida. Vrste zastupljene u rizosferi pored *L. macroides* bile su i dve jedinstvene *Rosellomorea marisflavi* (sinonim *B. marisflavi*) i *Brevibacillus reuszeri*, kao i dva izolata koja se na nivou gena za 16S rRNK nisu mogli razdvojiti do konkretne vrste (*Bacillus pacificus/paranthracis*, *Bacillus wiedmannii/proteolyticus/fungorum*). Dobijeni endofiti korena pripadaju rodu *Micrococcus*, pri čemu se kod ovog hibrida dodatno javlja još jedna vrsta *Micrococcus terreus*, pored već pomenutih. Veći diverzitet bakterija zabeležen je u semenu ovog hibrida, pri čemu je zabeleženo prisustvo jedinstvenih vrsta *B. haynesii*, *Mixta theicola*, *Alkalihalobacillus gibsonii* (sinonim *Bacillus gibsonii*), *Microbacterium saccharophilum*, *Okibacterium fritillariae*, *Sanguibacter inulinus* i *Microbacterium arborescens/imperiale*. Ostali endofiti semena među kojima su *C. pusillum*, *B. zhangzhouensis*, *B. subtilis* i *Pantoea agglomerans/Curtobacterium plantarum* bili su zajednički sa drugim hibridima.

4.4.5 Identifikacija izolata iz hibrida *Cercospora*-otporni

Rodovi *Bacillus*, *Brevibacillus* i *Lysinibacillus* bili su karakteristični za rizosferu hibrida *Cercospora*-otporni (Slika 26), dok su vrste roda *Lysinibacillus* istovremeno izolovane iz rizosfere i semena samo ovog hibrida.



Slika 26. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz hibrida *Cercospora*-otporni; ● – rizosfera, ■ – koren, ▲ – seme.

Takođe, C2-1 jedini je izolat koji pripada vrsti *Bacillus pseudomycoloides* i specifičan je za koren pomenutog hibrida. U velikoj meri dominantni rod semena bio je *Bacillus* sa devet različitih vrsta od kojih su *B. amyloliquefaciens*, *B. halotolerans*, *B. mojavensis* i *B. pumilus/zhangzhouensis/safensis* bile specifične samo za seme ovog hibrida. *Corynebacterium doosanense*, *Pseudoclavibacter helvolus* i *Paenibacillus polymyxa* takođe su bile karakteristične vrste semena ovog hibrida.

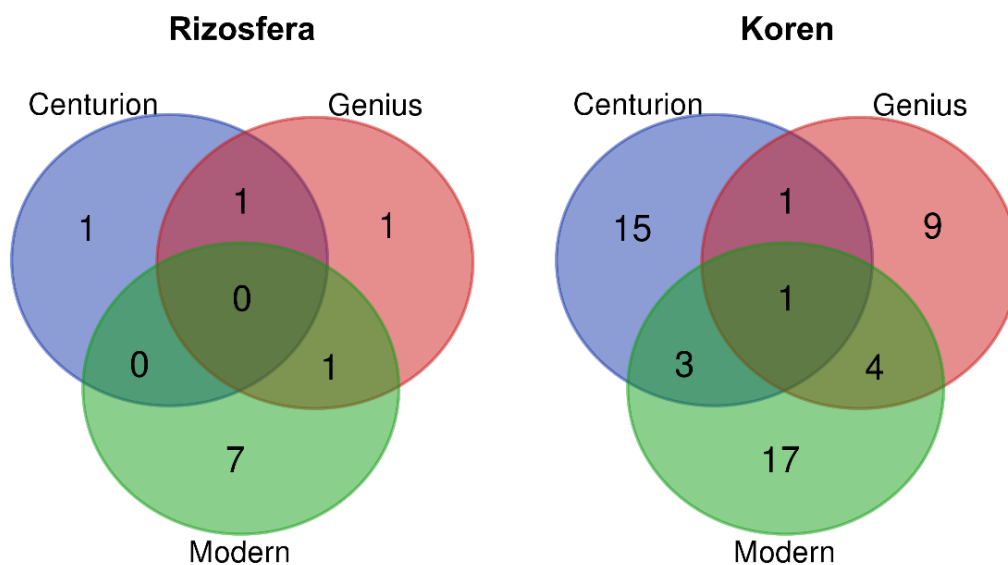
4.5 Diverzitet kultivabilnih endofita korena i rizosfernih bakterija sorti pšenice

Od ukupnog broja izolata, 89, identifikovano je 12 jedinstvenih vrsta iz rizosfere i 50 iz korena (Tabela 13, Slika 27).

Tabela 13. Broj jedinstvenih i zajedničkih vrsta za rizosferu i koren svih sorti pšenice.

Sorte	Rizosfera		Koren	
	Broj vrsta	Broj jedinstvenih vrsta	Broj vrsta	Broj jedinstvenih vrsta
Centurion	2	2	25	20
Genius	4	3	18	15
Modern	9	8	31	25
Ukupan broj	15	12	74	50

Bacillus toyonensis/thuringiensis izolovan je iz rizosfere sorti Centurion i Genius, dok je *Lysinibacillus pakistanensis* bio zajednički predstavnik rizosfere sorti Genius i Modern. Iz korena svih sorti izolovana je vrsta *Agrobacterium tumefaciens*. Kultivabilnim pristupom, pokazano je da sorta Modern ima najveći diverzitet bakterija, kako u rizosferi, tako u korenovom sistemu (Tabela 14).



Slika 27. Zajedničke i jedinstvene kultivabilne bakterijske vrste u rizosferi i korenu pšenice.

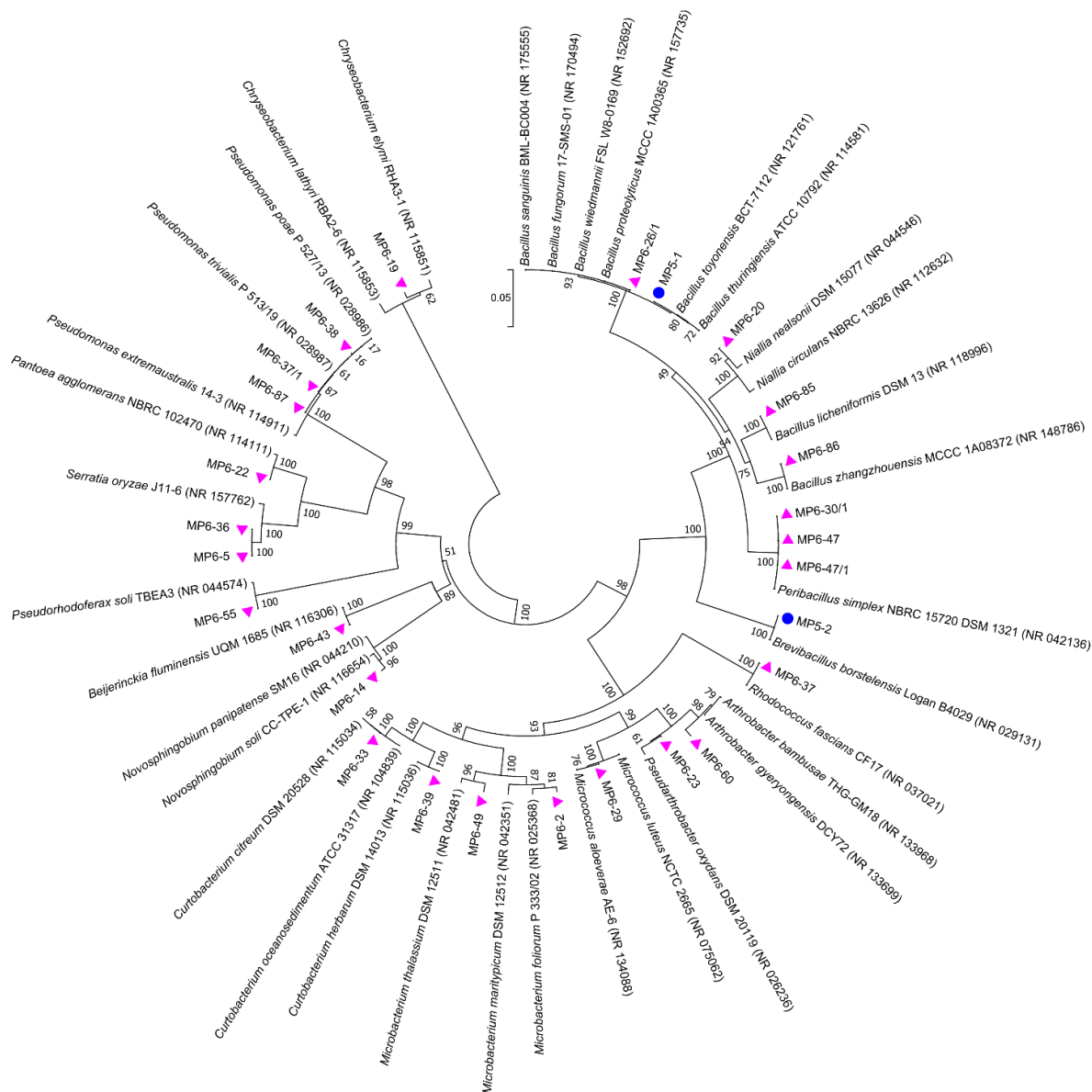
Uopšteno govoreći, u rizosferi svih sorti dominirao je rod *Bacillus*, dok su za koren karakteristične bile vrste rodova *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Variovorax*, *Microbacterium* i *Curtobacterium*. Takođe, nije izolovana nijedna zajednička vrsta za rizosferu i koren kod svih sorti ponaosob.

Tabela 14. Preklapanje kultivabilnih bakterija kod tri sorte pšenice iz rizosfere i korena.

Hibridi	Broj jedinstvenih vrsta	Vrsta
Rizosfera		
Centurion i Genius	1	<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>
Genius i Modern	1	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>
Centurion	1	<i>Brevibacillus borstelensis</i>
Genius	1	<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>
Modern	7	<i>Lysinibacillus macroides; Cytobacillus ciccensis; Priestia endophytica; Paenibacillus lautus; Priestia aryabhatai; Metabacillus idriensis; Bacillus halotolerans</i>
Koren		
Centurion, Genius i Modern	1	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Centurion i Genius	1	<i>Peribacillus simplex</i>
Centurion i Modern	3	<i>Bacillus zhangzhouensis; Pseudarthrobacter oxydans; Pseudomonas trivialis/poae</i>
Genius i Modern	4	<i>Brevundimonas nasdae; Variovorax paradoxus; Microbacterium maritypicum; Curtobacterium pusillum</i>
Centurion	15	<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae; Curtobacterium herbarum; Serratia oryzae; Pantoea agglomerans; Novosphingobium panipatense/soli; Curtobacterium citreum/oceanosedimentum; Microbacterium thalassium; Chryseobacterium lathyri/elymi; Bacillus licheniformis; Pseudorhodoferax soli; Rhodococcus fascians; Micrococcus aloeverae; Niallia nealsonii/circulans; Microbacterium foliorum; Bacillus proteolyticus/wiedmannii/sanguinis/fungorum</i>
Genius	9	<i>Phyllobacterium ifriqiense; Pantoea allii; Olivibacter soli; Peribacillus frigoritolerans; Lysinibacillus fusiformis; Sphingopyxis fribergensis; Bacillus mycoides; Pantoea agglomerans/allii; Priestia aryabhatai</i>
Modern	17	<i>Pseudomonas lutea; Flavobacterium saccharophilum; Stenotrophomonas chelatiphaga; Agrobacterium rubi/Rhizobium skierniewicense; Pseudomonas lini; Pseudomonas koreensis; Curtobacterium plantarum; Sphingomonas aurantiaca; Rhizobium soli; Bacillus mojavensis; Promicromonospora callitridis; Bacillus aerophilus/stratosphericus /altitudinis; Micrococcus luteus; Paenibacillus glycanilyticus; Microbacterium phyllosphaerae; Bacillus velezensis; Lysobacter antibioticus</i>

4.5.1 Identifikacija izolata iz sorte Centurion

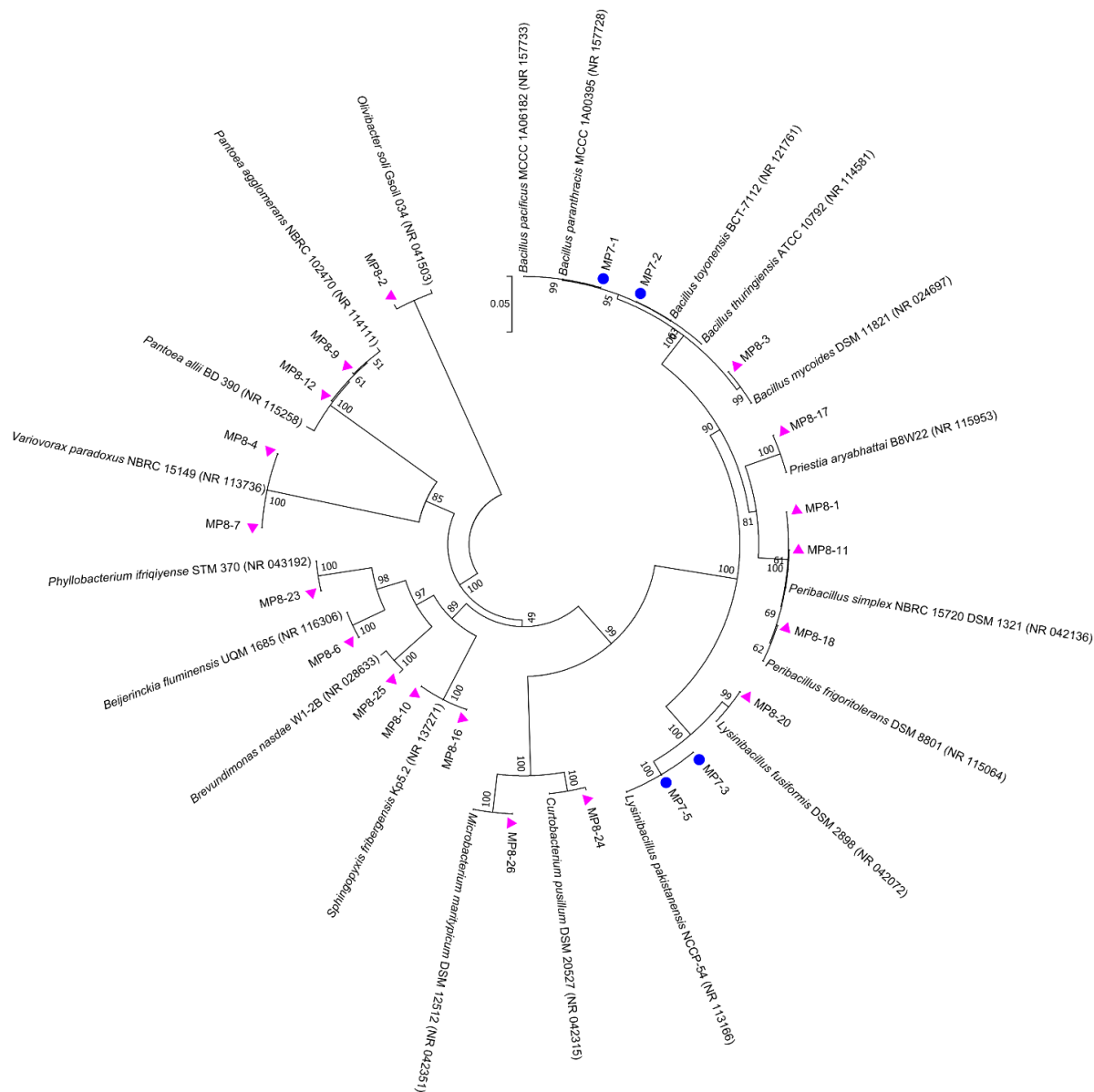
Ukupno 27 izolata dobijeno je iz sorte Centurion, 2 izolata iz rizosfere i 25 iz korena (Slika 28, Prilog 3). Iz rizosfere izolovane su vrste *Bacillus toyonensis/thuringiensis* i *Brevibacillus borstelensis*, pri čemu je *B. borstelensis* bila specifična za rizosferu ove sorte, s obzirom na to da nije zabeležena u rizosferi drugih ispitivanih sorti pšenice. Jedinstvene vrste koje su karakterisale koren ove sorte bile su *Arthrobacter gyeryongensis/bambusae*, *Curtobacterium herbarum*, *Serratia oryzae*, *Pantoea agglomerans*, *Novosphingobium panipatense/soli*, *Curtobacterium citreum/oceanosedimentum*, *Microbacterium thalassium*, *Chryseobacterium lathyri/elymi*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudorhodoferax soli*, *Rhodococcus fascians*, *Micrococcus aloeverae*, *Niallia nealsonii/circulans*, *Microbacterium foliorum* i *Bacillus proteolyticus/wiedmannii/sanguinis/fungorum*.



Slika 28. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz sorte Centurion; ● – rizosfera, ▲ – koren.

4.5.2 Identifikacija izolata iz sorte Genius

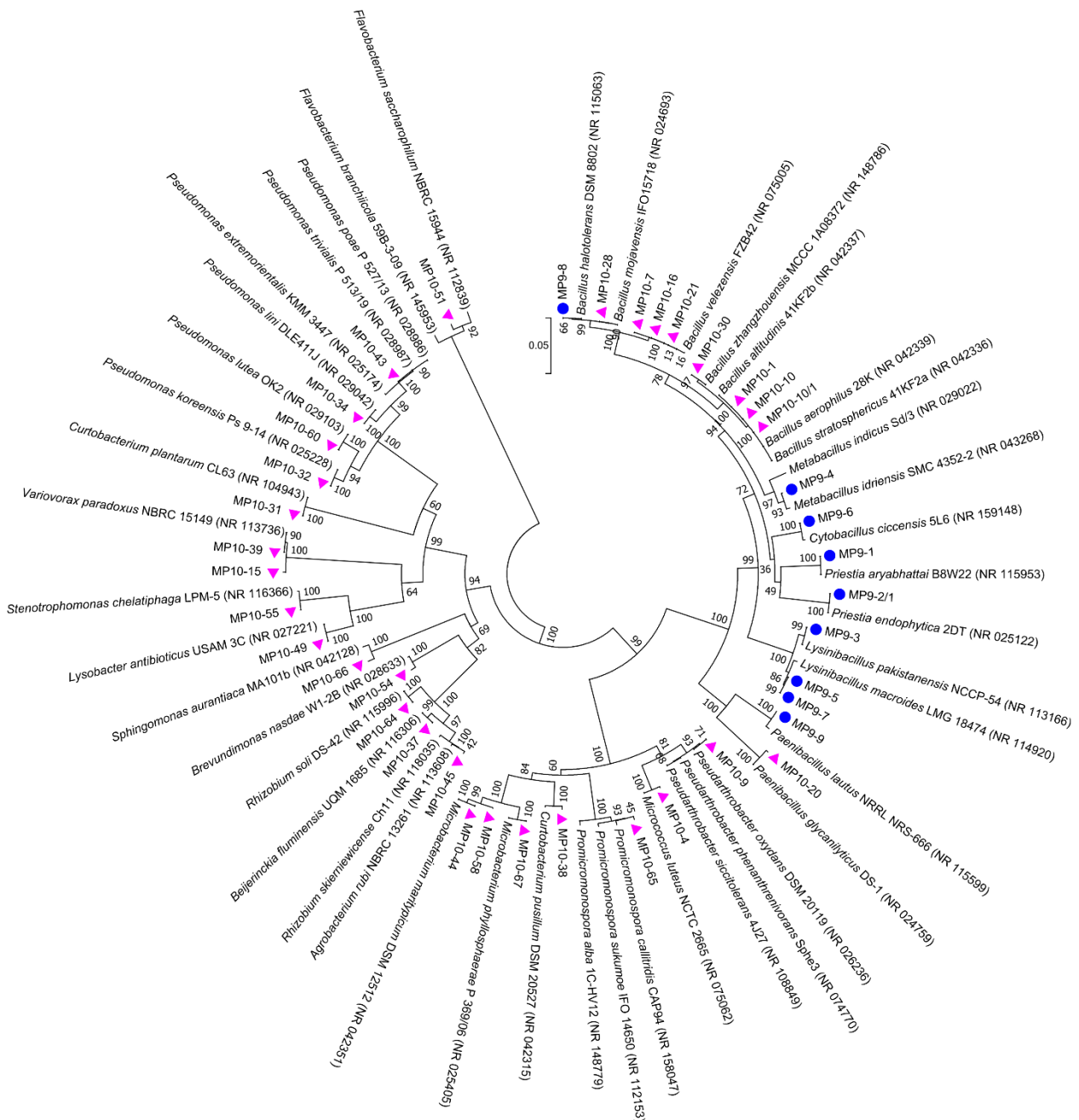
Ukupno 22 izolata dobijeno je iz sorte Genius, 4 izolata iz rizosfere i 18 iz korena (Slika 29, Prilog 3). U rizosferi dominiraju vrste *Bacillus* i *Lysinibacillus*, od čega je *Lysinibacillus pakistanensis* izolovana iz rizosfere sorte Modern, dok je *Bacillus pacificus/paranthracis* bila jedinstvena vrsta za ovu sortu. Diverzitet endofita poreklom iz korena je daleko raznovrsniji. Vrste kao što su *Phyllobacterium ifriqiyense*, *Pantoea allii*, *Olivibacter soli*, *Peribacillus frigoritolerans*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Sphingopyxis fribergensis*, *Bacillus mycoides*, *Pantoea agglomerans/allii* i *Priestia aryabhattai* izolovane su samo iz sorte Genius i bile su specifične za koren ove sorte.



Slika 29. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz sorte Genius; ● – rizosfera, ▶ – koren.

4.5.3 Identifikacija izolata iz sorte Modern

Daleko najraznovrsnija sorta pšenice u pogledu bakterijskog diverziteta bila je Modern (Slika 30, Prilog 3), kako u rizosferi tako i u korenu. Dobijeno je 40 izolata iz ove sorte, 9 izolata je izolovano iz rizosfere i 31 iz korena, u okviru kojih je identifikovano 7 jedinstvenih vrsta za rizosferu i 17 vrsta za koren.



Slika 30. Filogenetsko stablo kultivabilnih bakterija iz sorte Modern; ● – rizosfera, ▲ – koren.

Vrste *Lysinibacillus macroides*, *Cytobacillus ciccensis*, *Priestia endophytica*, *Paenibacillus lautus*, *Priestia aryabhatai*, *Metabacillus idriensis* i *Bacillus halotolerans* čine su jedinstvene vrste rizosfere sorte Modern, dok su *Pseudomonas lutea*, *Flavobacterium saccharophilum*, *Stenotrophomonas chelatiphaga*, *Agrobacterium rubi*/*Rhizobium skieniewicense*, *Pseudomonas lini*, *Pseudomonas koreensis*, *Curtobacterium plantarum*, *Sphingomonas aurantiaca*, *Rhizobium soli*, *Bacillus mojavensis*, *Promicromonospora callitridis*, *Bacillus aerophilus* /*stratosphericus* /*altitudinis*, *Micrococcus luteus*, *Paenibacillus glycanilyticus*, *Microbacterium phyllosphaerae*, *Bacillus velezensis* i *Lysobacter antibioticus* karakterisale koren isključivo sorte Modern.

Iz korena svih sorti i rizosfere sorte Modern izolovano je ukupno 10 različitih vrsta oportunih humanih i biljnih patogenih vrsta prikazanih u Tabeli 15. Kroz dalju interpretaciju rezultata, izolati koji su pripadali potencijalno patogenim bakterijama su bili isključeni iz daljih analiza.

Tabela 15. Spisak patogenih bakterijskih izolata iz rizosfere i korena sorti pšenice.

Izolat	Patogene vrste
MP6-22	<i>Pantoea agglomerans</i>
MP6-23	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>
MP6-37	<i>Rhodococcus fascians</i>
MP6-43	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
MP8-3	<i>Bacillus mycoides</i>
MP8-6	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
MP8-9	<i>Pantoea agglomerans/allii</i>
MP8-12	<i>Pantoea allii</i>
MP9-4	<i>Metabacillus idriensis</i>
MP10-4	<i>Micrococcus luteus</i>
MP10-9	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>
MP10-37	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
MP10-45	<i>Agrobacterium rubi/Rhizobium skierniewicense</i>

4.6 Rezultati ispitivanja PGP svojstava, enzimske aktivnosti, tolerancije na abiotičke stresove i antifungalnog potencijala bakterijskih izolata iz šećerne repe

4.6.1 In vitro evaluacija PGP karakteristika i enzimske aktivnosti izolata iz šećerne repe

Ispitivanje produkcije ekstracelularnih enzima i PGP karakteristika (fiksacija azota, solubilizacija fosfata, produkcija EPS-a, sposobnost plivanja i rojenja) inicijalno je sprovedeno na 156 izolata (Prilog 4). Većina izolata je pokazala sposobnost rasta na podlozi bez azota (86%), dok je 38% identifikovano kao fosfosolubilizirajuće bakterije. Pokretljivost u vidu plivanja zabeležena je kod većeg broja izolata (69%) u odnosu na sposobnost rojenja (44%). Produkciju EPS-a pokazalo je 46 izolata (29%). Najčešće sekretovani enzimi bili su želatinaze (44%), zatim amilaze (30%), mananaze (17%), proteinaze (17%), celulaze (16%) i pektinaze (14%) (Prilog 5). Produkcija ksilanaze bila je veoma ograničena, jer je utvrđena kod samo 6% ukupnog broja izolata. Izolati sa izraženim i širim spektrom PGP sposobnosti i sekretovanih enzima selektovani su za dalja ispitivanja dodatnih PGP karakteristika (produkcija IAA, HCN, ACC deaminaze, lipaze i siderofora, kao i tolerancija na stres izazvan sušom i salinitetom). Preliminarno testiranje izolata iz šećerne repe na sposobnost promocije rasta rezultiralo je izborom 32 bakterijska soja sa izraženim PGP karakteristikama, dok su potencijalni patogeni svrstani u rizik grupu 2 i isključeni iz daljeg istraživanja. Svih 32 izolata imala su sposobnost rasta na podlozi bez azota (Tabela 16), pri čemu su pojedini izolati pokazali intenzivniji rast, naročito *Mixta theicola* KO3-44. Najizraženija sposobnost solubilizacije fosfata zabeležena je kod *Pseudomona oryzihabitans* KO3-19. Izolat *B. subtilis* KO3-18 pokazao je najviši PGP potencijal u *in vitro* uslovima. Izuzetni proizvođači IAA bili su *Providencia vermicola* ED3-10 i *M. theicola* KO3-44. Najbolja produkcija siderofora zabeležena je kod izolata *B. subtilis* KO3-18, *B. subtilis* C3-59, *B. subtilis* C3-62 i *B. velezensis* T2-23. Produkcija ACC deaminaze utvrđena je samo kod *B. subtilis* KO3-18, *C. pusillum* ED2-6 i *P. aryabhatai* T1-2. Značajnu produkciju EPS-a pokazali su *M. theicola* KO3-44 i *Erwinia tasmaniensis* ED3-79, dok su *E. tasmaniensis* ED3-79 i *Glutamicibacter mishrai* ED3-75 pokazali najveći potencijal u produkciji HCN-a.

Među selektovanim izolatima (32), najčešće sekretovani enzim bila je želatinaza, detektovana kod 27 izolata sa vrednostima EI u opsegu od 1,14 do 2,11, pri čemu je najvišu vrednost pokazao *B. pacificus/paranthracis* KO1-1 (Tabela 16). Amilolitičku aktivnost ispoljilo je 20 izolata (1,09–2,50), a najviša aktivnost zabeležena je kod *Paenibacillus taichungensis* ED2-1.

Kod celulazne aktivnosti, sa EI vrednostima u intervalu 1,14–2,23, najintenzivniju produkciju imao je *B. subtilis* TF3-32. Među 14 izolata sposobnih da razgrađuju pektin (1,07–2,43), najvišu pektinolitičku aktivnost pokazao je *B. subtilis* KO3-18. Lipolitička aktivnost je uočena kod istog broja izolata izolata sa EI vrednostima od 1,05 do 1,79), a izolat *P. oryzihabitans* KO3-19 izdvojio se sa najvišim EI indeksom. Ekstracelularna produkcija proteinaza (1,12–2,00) i mananaza (1,11–1,83) registrovana je kod 13 izolata, pri čemu su *G. mishrai* ED3-75 i *B. velezensis* T2-23 imali najvišu aktivnost. Ksilanolitička aktivnost zabeležena je kod samo šest izolata sa EI vrednostima od 1,07 do 2,27, a najviša aktivnost je uočena kod *B. subtilis* TF3-6. Izolati *B. subtilis* T3-4 i *Bacillus halotolerans* C3-16/2.1 bili su pozitivni na sve testirane enzimske aktivnosti osim na produkciju ksilaze. Suprotno tome, izolati *M. theicola* KO3-44, *P. vermicola* ED3-10 i *E. tasmaniensis* ED3-79 nisu pokazali nikakvu egzocelularnu enzimsku aktivnost.

Tabela 16. PGP karakteristike i produkcija hidrolitičkih enzima 32 izolata iz šećerne repe.

Vrsta	Izolat	Rast na DF sa (NH ₄) ₂ SO ₄	Rast na DF bez (NH ₄) ₂ SO ₄	PO ₄ ³⁻	IAA	Siderofore	Produkcija EPS-a	Rojenje	Plivanje	HCN
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	++	++	+	-	++	-	+++	+++	+
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	+++	+	+	-	++	-	+++	+++	
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	++	++	-	+	-	+	-	++	
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50	+	+	+	-	+	++	+	+++	+
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-53	++	+	+	+	-	-	+++	+++	
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-59	++	++	+	-	+++	-	++	+++	
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-62	++	+	-	-	+++	+	-	+++	
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-72	++	+	+	-	+	+	+++	+++	++
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	ED2-1	++	+	-	+	+	-	-	+++	-
<i>Bacillus velezensis</i>	ED2-2	++	+	-	-	++	-	+++	+++	
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	+	+	+	+	++	-	+	++	++
<i>Providencia vermicola</i>	ED3-10	++	+	+	+++	+	-	+	+++	
<i>Glutamicibacter mishrai</i>	ED3-75	++	+	-	+	+	-	-	-	+++
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-79	+	++	+	+	++	+++ ^d	+++	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	ED3-89	+	++	+	+	+	-	+++	+++	
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	KO1-1	+	+	+	-	+	-	+	+++	
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-11/1	++	++	+	+	-	+	+++	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	+	++	+	-	+++	+	+++	+++	+
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	++	++	++	-	-	+	+++	+++	++
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-26	+++	+	+	-	+	-	+++	+++	
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	++	+++	+	+++	+	+++ ^d	+	+++	
<i>Priestia aryabhatai</i> B8W22	T1-2	++	+	+	+	+	+	+	-	
<i>Bacillus halotolerans</i>	T2-1	++	+	+	-	++	-	+++	+++	
<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	++	+	-	-	+++	-	+++	+++	
<i>Arthrobacter oryzae</i>	T2-25	+	++	-	+	-	-	-	-	
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-26	++	+	-	++	-	-	+	+	
<i>Bacillus subtilis</i>	T3-4	+	++	+	+	+++	-	+++	+++	++

<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-5	++	+	+	+	+	-	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF2-1	++	-	+	-	+	+	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-6	+	++	+	-	++	+	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-7/1	++	+	+	-	+	+	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-32	+++	++	-	-	+	-	+++	+++

Vrsta	Izolat	ACC deaminaza	Amilaza	Proteinaza	Lipaza	Ksilanaza	Mananaza	Celulaza	Želatinaza	Pektinaza
			EI	EI	EI	EI	EI	EI	EI	EI
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	-	1,24	1,79	1,08	-	1,48	1,79	1,31	2,00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	-	-	1,24	-	-	1,67	1,56	1,58	1,56
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	-	1,60	-	-	1,60	1,21	2,00	1,41	1,33
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50	-	-	1,21	1,62	-	-	-	1,73	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-53	-	-	-	1,32	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-59	-	1,40	1,15	-	-	-	-	1,40	-
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-62	-	-	-	-	-	1,38	-	1,50	1,81
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-72	-	1,47	1,61	1,22	-	-	1,70	1,51	-
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	ED2-1	-	2,50	-	1,18	1,07	-	1,33	1,14	1,33
<i>Bacillus velezensis</i>	ED2-2	-	1,25	1,31	-	-	1,69	1,23	1,86	1,53
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	+	-	-	1,18	-	-	-	1,83	-
<i>Providencia vermicola</i>	ED3-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Glutamicibacter mishrai</i>	ED3-75	-	1,83	2,00	1,29	-	1,15	-	1,86	-
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-79	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	ED3-89	-	-	-	1,10	-	1,11	1,57	1,50	1,17
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	KO1-1	-	1,64	-	-	-	-	1,29	2,11	-
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-11/1	-	1,23	-	1,05	-	-	1,16	1,32	2,42
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	+	1,10	-	1,31	-	-	1,83	1,44	2,43
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	-	-	-	1,79	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-26	-	1,62	-	-	-	-	1,14	1,72	2,08
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i> B8W22	T1-2	-	-	-	1,05	-	-	-	1,88	-
<i>Bacillus halotolerans</i>	T2-1	-	1,67	1,19	-	-	1,76	2,22	1,81	-

<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	-	1,35	1,22	-	-	1,83	1,50	1,72	1,70
<i>Arthrobacter oryzae</i>	T2-25	-	1,30	-	-	1,45	1,41	-	1,67	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-26	-	-	-	-	-	-	-	1,67	-
<i>Bacillus subtilis</i>	T3-4	-	1,33	1,21	1,31	-	1,82	1,77	1,48	2,01
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-5	-	1,31	-	-	1,25	1,42	2,00	1,16	-
<i>Bacillus subtilis</i>	TF2-1	-	1,13	1,12	-	-	-	-	1,60	-
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-6	-	1,68	1,14	1,14	2,27	-	-	1,50	2,29
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-7/1	-	1,09	-	-	2,00	1,41	-	1,83	1,93
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-32	-	1,36	1,13	-	-	-	2,23	1,88	-

— bez aktivnosti; + slaba aktivnost; ++ dobra aktivnost; +++ odlična aktivnost; +++^d izuzetna aktivnost; PO₄³⁻-solubilizacija fosfata; EPS-egzopolisaharidi; EI - enzimatski indeks, - nema aktivnosti, EI >1 dobra aktivnost, EI=1-2 veoma dobra aktivnost, EI>2 odlična aktivnost

4.6.2 *In vitro* evaluacija otpornosti izolata iz šećerne repe na stres suše i soli

Većina izolata pokazala je uspešan rast pri koncentraciji NaCl do 8% (Tabela 17).

Tabela 17. Tolerancija na stres soli i suše 32 izolata iz šećerne repe.

Vrsta	Izolat	1% NaCl	3% NaCl	5% NaCl	8% NaCl	10% NaCl	5% PEG	10% PEG	20% PEG	30% PEG
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	+++	+++	++	+	-	+++	+	-	-
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	+	-	-	-	-	++	++	-	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50	+++	+++	+++	++	-	+++	+++	-	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-53	+++	++	+	-	-	++	++	++	+
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-59	+++	++	++	+	+	++	++	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-62	+++	++	++	+	-	+	+	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-72	+++	++	++	++	+	+	-	-	-
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	ED2-1	+++	++	-	-	-	++	++	-	-
<i>Bacillus velezensis</i>	ED2-2	+++	+++	++	+	+	++	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	+++	++	-	-	-	++	++	++	+
<i>Providencia vermicola</i>	ED3-10	+++	+++	+++	+	-	+++	++	++	+
<i>Glutamicibacter mishrai</i>	ED3-75	+++	++	++	++	+	++	++	++	+
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-79	+++	+++	++	-	-	+++	++	++	++
<i>Bacillus subtilis</i>	ED3-89	+++	+++	++	++	+	++	++	+	+
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	KO1-1	+++	++	+	-	-	++	++	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-11/1	+++	++	++	+	-	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	+++	++	++	++	+	+	+	-	-
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	+++	++	+	-	-	++	++	++	+
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-26	+++	+++	++	+	-	++	++	-	-
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	+++	+++	++	+	-	++	++	++	+
<i>Priestia aryabhatai</i> B8W22	T1-2	+++	+++	++	+	-	++	++	++	+
<i>Bacillus halotolerans</i>	T2-1	+++	+++	++	++	-	+	+	+	+
<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+++
<i>Arthrobacter oryzae</i>	T2-25	+++	++	-	-	-	++	++	++	+
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-26	+++	++	+	+	+	+++	+++	++	++
<i>Bacillus subtilis</i>	T3-4	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-5	+++	+++	++	+	-	+++	+++	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF2-1	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-6	+++	+++	++	++	+	++	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-7/1	+++	++	++	++	+	++	++	++	++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-32	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-

— bez rasta; + slab rast, ++ dobar rast; +++ odličan rast

Od ukupno 32 testirana izolata, 24 su mogla da tolerišu 8% NaCl, dok je polovina od njih rasla i pri 10% NaCl. Najveću toleranciju na salinitet pokazao je *Bacillus halotolerans* C3-16/2.1, koji je rastao čak i pri 10% NaCl. Gotovo svih 32 izolata uspešno su podneli uslove simulirane suše na medijumima sa 5% i 10% PEG-a (Tabela 17). Osamnaest izolata pokazalo je raspon tolerancije od umerene do potpune otpornosti pri izloženosti medijumu sa 20% PEG-a. Od ukupno 32 izolata, dva su uspešno rasla pri maksimalnoj koncentraciji PEG-a, bez vidljivog smanjenja rasta u poređenju sa kontrolom (*B. subtilis* C3-62 i *B. subtilis* TF2-1). Rast izolata *B. halotolerans* C3-

16/2.1, *Bacillus amyloliquefaciens* C3-19, *Bacillus zhangzhouensis* C3-50, *B. velezensis* ED2-2, *B. velezensis* T2-23, *Mixta aloeverae* T2-26 i *B. sonorensis* T3-5 bio je redukovan za oko 50% u poređenju sa kontrolom.

4.6.3 *In vitro* evaluacija otpornosti izolata iz šećerne repe na prisustvo toksičnih metala

Minimalne inhibitorne koncentracije za kobalt-nitrat, olovo-hlorid, kadmijum-nitrat i živa-hlorid značajno su varirale među testiranim izolatima (Tabela 18).

Tabela 18. Minimalne inhibitorne koncentracije 32 izolata iz šećerne repe prema toksičnim metalima.

Vrsta	Izolat	Kobalt-nitrat	Olovo-hlorid	Kadmijum-nitrat	Živa-hlorid
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	0,038	0,100	0,008	<0,005
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	0,038	>0,100	0,008	<0,005
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	0,050	>0,100	0,008	<0,005
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50	0,038	>0,100	0,010	<0,005
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-53	0,038	0,100	0,008	<0,005
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-59	0,038	0,100	<0,005	0,008
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-62	0,038	>0,100	0,005	0,008
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-72	0,050	0,050	0,005	0,008
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	ED2-1	0,050	>0,100	0,008	<0,005
<i>Bacillus velezensis</i>	ED2-2	0,050	0,050	0,005	<0,005
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	0,005	>0,100	<0,005	<0,005
<i>Providencia vermicola</i>	ED3-10	0,050	>0,100	0,025	0,008
<i>Glutamicibacter mishrai</i>	ED3-75	0,075	>0,100	0,010	<0,005
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-79	0,050	>0,100	0,008	<0,005
<i>Bacillus subtilis</i>	ED3-89	0,050	>0,100	<0,005	0,008
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	KO1-1	0,075	>0,100	0,010	<0,005
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-11/1	0,038	>0,100	0,005	<0,005
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	0,050	>0,100	0,005	0,008
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	0,038	>0,100	0,005	<0,005
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-26	0,050	0,050	0,005	0,008
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	0,038	0,100	0,008	<0,005
<i>Priestia aryabhataii</i>	T1-2	0,050	0,100	<0,005	<0,005
<i>Bacillus halotolerans</i>	T2-1	0,010	0,050	0,005	<0,005
<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	0,050	0,100	<0,005	<0,005
<i>Arthrobacter oryzae</i>	T2-25	0,050	0,100	<0,005	<0,005
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-26	0,010	>0,100	0,005	<0,005
<i>Bacillus subtilis</i>	T3-4	0,050	0,050	0,005	0,008
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-5	0,050	0,100	0,005	<0,005
<i>Bacillus subtilis</i>	TF2-1	0,025	>0,100	0,005	0,008
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-6	0,038	0,100	0,005	0,008
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-7/1	0,050	>0,100	0,005	0,008
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-32	0,038	>0,100	0,005	0,008

Tolerancija na olovo-hlorid generalno je bila visoka, za većinu sojeva. Tolerancija na kobalt-nitrat kretala se od 0,005% kod *C. pusillum* ED2-6 do 0,075% kod *G. mishrai* ED3-75 i *Bacillus*

pacificus/parantracis KO1-1. Tolerancija na kadmijum-nitrat bila je niska kod većine izolata ($\leq 0,008\%$), pri čemu su *C. pusillum* ED2-6, *B. velezensis* T2-23, *Bacillus subtilis* C3-59, *Priestia aryabhataii* T1-2 i *Arthrobacter oryzae* T2-25 pokazali najveću osetljivost ($< 0,005\%$). Najveću toksičnost ispoljila je živa-hlorid, pri čemu su svi izolati inhibirani pri koncentraciji $< 0,005\%$, osim izolata vrste *B. subtilis* i *P. vermicola* koji su mogli da tolerišu do 0,008%.

4.6.4 In vitro evaluacija antifungalne aktivnosti izolata iz šećerne repe

Na osnovu rezultata dobijenih za PGP potencijal i egzoenzimsku aktivnost, 60 izolata je odabrano za inicijalni skrining protiv *Fusarium* sp. TS1, *F. equiseti* TS2, *F. oxysporum* TS3 i *Cercospora beticola* TS4 izolovanih iz inficiranih biljaka šećerne repe. Za dalje ispitivanje antagonističke aktivnosti metodom dualne kultivacije, odabrana su 32 izolata od inicijalno odabranih 60. Od 32 izolata, 19 je ispoljilo umerenu do izuzetnu antagonističku aktivnost prema svim testiranim gljivama (Tabela 19). Među njima, inhibiciju rasta micelije od preko 40% kod svih gljiva pokazali su *B. amyloliquefaciens* C3-19 (43–69%), *P. polymyxa* C3-36 (49–67%), *B. velezensis* ED2-2 (47–52%), *B. subtilis* ED3-89 (41–55%), *B. velezensis* T2-23 (49–57%) i *B. subtilis* TF3-6 (44–58%).

Tabela 19. Antifungalna aktivnost odabranih izolata na gljive izolovane iz zaražene šećerne repe testirana u *in vitro* uslovima, primenom metode dualne kultivacije. Rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm standardna greška.

Vrsta	Izolat	Fungalni fitopatogeni			
		<i>Fusarium</i> sp.	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Cercospora beticola</i>
		TS1	TS2	TS3	TS4
Cercospora-otporni hibrid					
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	35,6 \pm 0,79 ^{defg}	51,0 \pm 0,58 ^{bc}	42,0 \pm 2,14 ^{defghi}	52,3 \pm 1,31 ^{bcd}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	42,5 \pm 1,58 ^{abcde}	53,0 \pm 2,89 ^b	46,9 \pm 0,71 ^{bcde}	68,9 \pm 0,95^a
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	49,3 \pm 2,37 ^{ab}	67,0 \pm 1,73^a	55,6 \pm 1,42^a	52,3 \pm 1,31 ^{bcd}
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50	11,0 \pm 5,54 ^{kl}	34,0 \pm 2,31 ^{ef}	11,1 \pm 2,85 ^l	29,5 \pm 1,31 ^{gh}
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-53	5,5 \pm 0,79 ^{kl}	0,0 \pm 0,00 ^h	0,0 \pm 0,00 ^m	31,8 \pm 2,62 ^{fgh}
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-59	34,3 \pm 1,58 ^{defg}	20,0 \pm 11,55 ^s	36,2 \pm 0,41 ^{hij}	36,4 \pm 2,62 ^{efg}
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-62	34,3 \pm 1,58 ^{defg}	47,0 \pm 0,58 ^{bcde}	38,3 \pm 1,43 ^{fghi}	56,8 \pm 1,31 ^{abc}
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-72	31,5 \pm 1,58 ^{efgh}	50,3 \pm 0,33 ^{bcd}	41,2 \pm 0,41 ^{defghi}	52,3 \pm 3,94 ^{bcd}
Eduarda					
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	ED2-1	5,9 \pm 5,94 ^{kl}	0,0 \pm 0,00 ^h	0,0 \pm 0,00 ^m	0,0 \pm 0,00 ^k
<i>Bacillus velezensis</i>	ED2-2	46,6 \pm 2,37 ^{abc}	51,0 \pm 4,04 ^{bc}	50,6 \pm 1,43 ^{abc}	52,3 \pm 1,31 ^{bcd}
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	21,0 \pm 0,46 ^{hij}	0,0 \pm 0,00 ^h	0,0 \pm 0,00 ^m	4,5 \pm 2,62 ^{jk}
<i>Providencia vermicola</i>	ED3-10	12,8 \pm 0,46 ^{kl}	0,0 \pm 0,00 ^h	1,6 \pm 0,41 ^m	4,5 \pm 2,62 ^{jk}
<i>Glutamicibacter mishrai</i>	ED3-75	11,0 \pm 2,37 ^{kl}	0,0 \pm 0,00 ^h	26,3 \pm 0,41 ^k	6,8 \pm 1,31 ^{jk}
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-79	7,3 \pm 0,46 ^{kl}	0,0 \pm 0,00 ^h	0,0 \pm 0,00 ^m	37,1 \pm 0,76 ^{efg}
<i>Bacillus subtilis</i>	ED3-89	41,1 \pm 0,79 ^{abcde}	48,3 \pm 0,33 ^{bcd}	40,7 \pm 2,85 ^{efghi}	55,3 \pm 0,76 ^{bcd}
Koala					
<i>Bacillus pacificus/parantracis</i>	KO1-1	26,0 \pm 3,16 ^{ghi}	28,0 \pm 2,31 ^{fg}	28,8 \pm 0,41 ^{jk}	25,0 \pm 1,31 ^{ghi}
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-11/1	28,8 \pm 1,58 ^{fgh}	45,0 \pm 0,58 ^{bcde}	37,0 \pm 0,71 ^{ghi}	43,2 \pm 1,31 ^{def}
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	39,7 \pm 3,16 ^{bcdef}	49,0 \pm 1,73 ^{bcd}	42,0 \pm 0,71 ^{defghi}	59,8 \pm 0,76 ^{abc}
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	15,1 \pm 1,58 ^{ijk}	0,0 \pm 0,00 ^h	22,2 \pm 2,14 ^k	6,8 \pm 1,31 ^{jk}
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-26	35,6 \pm 0,79 ^{defg}	0,0 \pm 0,00 ^h	4,9 \pm 4,99 ^{lm}	54,5 \pm 2,62 ^{bcd}
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	16,4 \pm 0,79 ^{ijk}	0,0 \pm 0,00 ^h	0,0 \pm 0,00 ^m	13,6 \pm 2,62 ^{ij}

Tibor					
<i>Priestia aryabhataii</i>	T1-2	11,0 ± 0,79 ^{ijkl}	0,0 ± 0,00 ^h	7,4 ± 0,71 ^{lm}	5,3 ± 0,76 ^{jk}
<i>Bacillus halotolerans</i>	T2-1	32,9 ± 2,37 ^{defgh}	48,3 ± 0,33 ^{bcd}	38,7 ± 0,41 ^{fghi}	47,7 ± 1,31 ^{cde}
<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	51,1 ± 0,46^a	49,0 ± 1,73 ^{bcd}	51,9 ± 0,71 ^{ab}	56,8 ± 1,31 ^{abc}
<i>Arthrobacter oryzae</i>	T2-25	4,6 ± 2,78 ^{kl}	0,0 ± 0,00 ^h	0,0 ± 0,00 ^m	3,0 ± 3,03 ^{jk}
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-26	1,8 ± 0,46 ^l	0,0 ± 0,00 ^h	0,0 ± 0,00 ^m	2,3 ± 1,31 ^{jk}
<i>Bacillus subtilis</i>	T3-4	38,4 ± 0,79 ^{bcdef}	57,0 ± 0,58 ^{ab}	44,4 ± 0,71 ^{bcdefg}	50,8 ± 0,76 ^{cd}
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-5	38,4 ± 2,37 ^{bcdef}	34,0 ± 1,15 ^{ef}	34,6 ± 0,71 ^{ij}	20,5 ± 1,31 ^{hi}
Tajfun					
<i>Bacillus subtilis</i>	TF2-1	34,3 ± 1,58 ^{defg}	45,0 ± 2,89 ^{bcd}	48,6 ± 0,41 ^{abcd}	63,6 ± 5,25 ^{ab}
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-6	43,8 ± 2,37 ^{abcd}	58,0 ± 1,15 ^{ab}	43,6 ± 0,41 ^{cdefgh}	56,8 ± 3,94 ^{abc}
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-7/1	32,0 ± 0,46 ^{defgh}	37,0 ± 1,73 ^{def}	37,0 ± 0,71 ^{ghi}	52,3 ± 3,94 ^{bcd}
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-32	42,3 ± 0,33 ^{bcde}	38,0 ± 1,15 ^{cdef}	45,0 ± 0,58 ^{bcdef}	67,8 ± 0,55^a

Prikazane su srednje vrednosti procenta inhibicije rasta gljiva sa standardnom greškom. Vrednosti označene istim slovom unutar kolona, predstavljaju vrednosti bez statističke značajnosti ($p < 0,05$), prema Tukey HSD testu. Podebljane vrednosti predstavljaju najviši procenat inhibicije za određenu gljivu kao rezultat delovanja odgovarajućeg izolata.

Preostali izolati pokazali su aktivnost protiv dva ili tri fitopatogena, sa umerenom do slabom inhibicijom rasta micelije. Gljiva *C. beticola* TS4 bila je najosetljivija, inhibirana uglavnom od strane vrsta roda *Bacillus*, pri čemu je aktivnost inhibicije prelazila 50%. Među njima, najbolju antagonističku aktivnost sa statističkom značajnošću postigli su *B. amyloliquefaciens* C3-19 sa 69% i *B. subtilis* TF3-32 sa 68% inhibicije TS4. Suprotno tome, *F. equiseti* TS2 se pokazao kao najotporniji patogen na testirane izolate. Umerena do visoka inhibicija rasta ovog patogena zabeležena je kod izolata sa širokim spektrom antifungalne aktivnosti, a najveću stopu inhibicije pokazao je *P. polymyxa* C3-36 (67%). Dodatno, *P. polymyxa* C3-36 pokazao je i najznačajniju inhibiciju *F. equiseti* TS2 i *F. oxysporum* TS3, dok je protiv *Fusarium* sp. TS1 najznačajnu aktivnost postigao *B. velezensis* T2-23.

Pored toga, antagonistička aktivnost odabranih 32 izolata testirana je i protiv 15 različitih sojeva roda *Fusarium* u inicijalnom skrining testu. Na osnovu dobijenih rezultata, odabrano je 10 najboljih sojeva čiji je antagonistički potencijal dalje kvantifikovan metodom dualne kultivacije (Tabela 20). Najosetljiviji soj bio je *F. coffeatum* IP32, koji je pokazao statistički značajnu osetljivost na sve testirane bakterije. Izolat *B. velezensis* T2-23 pokazao je najvišu i statistički značajnu efikasnost u suzbijanju proliferacije većeg broja sojeva *Fusarium*, zatim slede *B. amyloliquefaciens* C3-19, *B. velezensis* ED2-2 i *B. subtilis* TF2-1. Posebno značajno, najjača inhibicija sva tri izolata *F. graminearum* postignuta je jednako od strane oba *B. velezensis* izolata (ED2-2 i T2-23). Uopšteno, rast micelije čak devet različitih vrsta roda *Fusarium* uspešno je inhibiran od strane svih testiranih antagonista, sa procentom inhibicije iznad 40%.

Tabela 20. Antifungalna aktivnost odabranih izolata prema vrstama roda *Fusarium*, ispitivana *in vitro* metodom dualne kultivacije. Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna greška.

Vrsta/Izolat		<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	<i>Bacillus velezensis</i>	<i>Bacillus halotolerans</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus halotolerans</i>
		C3-19	C3-36	ED2-2	T2-23	C3-16/2.1	C3-62	KO3-26	TF2-1	TF3-6	T2-1
<i>F. graminearum</i>	GD1	64,8 \pm 1,07 ^{ab}	60,2 \pm 1,60 ^{abc}	68,5 \pm 1,07^a	66,7 \pm 2,14 ^a	54,6 \pm 0,54 ^c	61,1 \pm 1,07 ^{abc}	56,5 \pm 2,67 ^{bc}	54,6 \pm 0,54 ^c	53,7 \pm 3,21 ^c	56,5 \pm 1,61 ^{bc}
<i>F. graminearum</i>	S3-7	59,0 \pm 1,65 ^{ab}	62,9 \pm 4,95^a	63,8 \pm 2,20 ^a	66,7 \pm 0,55 ^a	45,7 \pm 1,65 ^c	51,4 \pm 0,55 ^{bc}	45,7 \pm 1,65 ^c	49,5 \pm 0,55 ^{bc}	58,1 \pm 1,10 ^{ab}	52,4 \pm 1,10 ^{bc}
<i>F. graminearum</i>	CIK	50,6 \pm 2,72 ^a	49,4 \pm 0,68 ^a	55,3 \pm 0,00 ^a	54,1 \pm 0,68 ^a	38,8 \pm 1,36 ^{bc}	31,8 \pm 1,36 ^c	36,5 \pm 2,72 ^{bc}	41,2 \pm 1,36 ^b	35,3 \pm 0,68 ^{bc}	32,9 \pm 2,04 ^c
<i>F. oxysporum</i>	S4-2	65,1 \pm 0,55 ^b	57,5 \pm 0,55 ^{cd}	64,2 \pm 0,00 ^b	57,6 \pm 1,63 ^{cd}	55,7 \pm 0,54 ^{de}	56,6 \pm 0,00 ^{de}	61,3 \pm 0,54 ^{bc}	73,6 \pm 0,00 ^a	58,5 \pm 1,09 ^{cd}	52,8 \pm 1,09 ^e
<i>F. verticillioides</i>	K67 5.1	62,3 \pm 0,00 ^c	65,1 \pm 0,55 ^{abc}	66,0 \pm 0,00 ^{ab}	67,9 \pm 1,09 ^a	57,5 \pm 0,55 ^d	62,3 \pm 0,00 ^c	55,7 \pm 0,54 ^{de}	63,2 \pm 0,55 ^{bc}	53,8 \pm 0,55 ^e	54,7 \pm 1,09 ^{de}
<i>F. venatum</i>	IB11-12	64,9 \pm 3,57 ^{ab}	61,9 \pm 5,35 ^{abc}	63,9 \pm 1,79 ^{abc}	73,2 \pm 0,00 ^a	54,6 \pm 2,38 ^{bc}	49,5 \pm 1,79 ^c	57,7 \pm 2,98 ^{bc}	57,7 \pm 5,36 ^{bc}	61,9 \pm 0,60 ^{abc}	61,9 \pm 1,79 ^{abc}
<i>F. ipomoeae</i>	IB6I-10	60,0 \pm 2,31 ^a	58,0 \pm 1,15 ^{ab}	54,0 \pm 1,15 ^{abc}	61,0 \pm 1,73 ^a	36,0 \pm 2,31 ^g	45,0 \pm 1,73 ^{def}	43,0 \pm 1,73 ^{efg}	51,0 \pm 0,58 ^{bcd}	49,0 \pm 0,58 ^{cde}	40,0 \pm 0,00 ^{fg}
<i>F. foetens</i>	IP27	51,4 \pm 0,80 ^{abc}	48,6 \pm 2,41 ^{abc}	62,5 \pm 8,82 ^{ab}	47,2 \pm 0,00 ^{abc}	41,7 \pm 1,60 ^{abc}	75,0 \pm 4,81 ^a	18,1 \pm 0,80 ^c	51,4 \pm 18,44 ^{abc}	30,6 \pm 3,21 ^{bc}	31,9 \pm 0,80 ^{bc}
<i>F. falciforme</i>	IP31	66,7 \pm 11,84 ^{ab}	32,1 \pm 5,18 ^c	52,6 \pm 2,22 ^{bc}	46,6 \pm 0,43 ^{bc}	50,0 \pm 3,70 ^{bc}	42,3 \pm 2,22 ^c	33,3 \pm 0,00 ^c	83,3 \pm 2,22^a	51,3 \pm 2,96 ^{bc}	37,2 \pm 2,22 ^c
<i>F. coffeatum</i>	IP32	58,2 \pm 8,04 ^a	40,5 \pm 2,19 ^a	51,9 \pm 2,92 ^a	63,3 \pm 2,19 ^a	44,3 \pm 1,46^a	67,1 \pm 2,92 ^a	57,0 \pm 1,46^a	59,5 \pm 7,31 ^a	44,3 \pm 4,38^a	48,1 \pm 13,89^a
<i>F. denticulatum</i>	IP39	63,6 \pm 0,54 ^b	57,9 \pm 0,54 ^{bc}	61,7 \pm 0,54 ^{bc}	74,8 \pm 0,54^a	59,8 \pm 2,7 ^{bc}	77,6 \pm 2,16^a	62,6 \pm 1,08 ^b	63,6 \pm 1,62 ^b	55,1 \pm 1,08 ^c	59,8 \pm 0,54 ^{bc}
<i>F. subglutinans</i>	TS5	72,3 \pm 9,83 ^a	54,3 \pm 0,61 ^{abcd}	66,0 \pm 4,91 ^{ab}	62,8 \pm 0,61 ^{abc}	44,7 \pm 1,23 ^{bcd}	67,0 \pm 4,30 ^{ab}	36,2 \pm 0,00 ^d	47,9 \pm 0,61 ^{bcd}	61,7 \pm 8,60 ^{abc}	42,6 \pm 1,23 ^{cd}
<i>F. nigamai</i>	TS6	40,5 \pm 4,13 ^b	48,4 \pm 0,79 ^{ab}	53,6 \pm 2,06 ^{ab}	52,4 \pm 0,00 ^{ab}	53,6 \pm 3,44 ^{ab}	44,1 \pm 0,69 ^b	36,9 \pm 2,06 ^b	64,3 \pm 8,25 ^a	50,0 \pm 4,12 ^{ab}	36,9 \pm 2,06 ^b
<i>F. semitectum</i>	TS7	73,7 \pm 11,55^a	49,5 \pm 1,22 ^{bc}	69,5 \pm 0,61 ^{ab}	60,0 \pm 1,22 ^{abc}	47,4 \pm 0,00 ^{bc}	63,2 \pm 3,04 ^{abc}	48,4 \pm 0,61 ^{bc}	75,8 \pm 7,90 ^a	50,5 \pm 0,61 ^{bc}	44,2 \pm 0,61 ^c
<i>F. solani</i>	TS8	68,6 \pm 6,05 ^a	54,3 \pm 1,10 ^{abcd}	63,8 \pm 0,00 ^{abc}	61,0 \pm 1,65 ^{abc}	51,4 \pm 0,55 ^{bcd}	42,9 \pm 7,70 ^d	49,5 \pm 0,55 ^{cd}	66,7 \pm 2,75 ^{ab}	43,8 \pm 1,65 ^d	41,9 \pm 0,55 ^d

Prikazane su srednje vrednosti procenta inhibicije rasta gljiva sa standardnom greškom. Vrednosti označene istim slovom unutar kolona, predstavljaju vrednosti bez statističke značajnosti ($p < 0,05$), prema Tukey HSD testu. Podebljane vrednosti predstavljaju najveći procenat inhibicije za određenu gljivu kao rezultat delovanja određenog izolata.

4.7 Rezultati ispitivanja PGP svojstava, enzimske aktivnosti, tolerancije na abiotičke stresove i antifungalnog potencijala bakterijskih izolata iz pšenice

4.7.1 *In vitro* evaluacija PGP karakteristika i enzimske aktivnosti izolata iz pšenice

Ispitivanje produkcije ekstracelularnih enzima i PGP karakteristika (fiksacija azota, solubilizacija fosfata, produkcija EPS-a, sposobnost plivanja i rojenja) inicijalno je sprovedeno na 71 izolatu (Prilog 6). Većina izolata je pokazala sposobnost rasta na podlozi bez azota (93%), dok je 37% identifikovano kao fosfosolubilizirajuće bakterije. Pokretljivost u vidu plivanja zabeležena je kod većeg broja izolata (86%) u odnosu na sposobnost rojenja (61%). Produkciju EPS-a pokazalo je 40 izolata (56%).

Najzastupljenija biološka aktivnost koja se pripisuje enzimima sekretovanim van ćelije bila je amilazna (48%), zatim proteinazna (39%), želatinazna (32%), lipazna (30%), mananazna (21%), celulazna (18%) i pektinazna (15%) (Prilog 7). Ksilanazna aktivnost bila je veoma ograničena, jer je utvrđena kod samo 3% ukupnog broja izolata. Od ukupnog broja testiranih izolata odabrano je 35 izolata sa izraženim i širim spektrom PGP sposobnosti i sekretovanih enzima, za dalja ispitivanja dodatnih PGP karakteristika (produkcija IAA, HCN, ACC deaminaze i siderofora, kao i tolerancija na toksične metale i stres izazvan sušom i solju). Sposobnost rasta na podlozi bez azota ispoljilo je 32 izolata, pri čemu je izolat *Curtobacterium plantarum* MP10-31 ispoljio veći stepen azotofiksacije (Tabela 21). Najizraženija sposobnost solubilizacije fosfata zabeležena je kod *Serratia oryzae* MP6-36 i *C. plantarum* MP10-31. Izolati *S. oryzae* (MP6-5, MP6-36), *Variovorax paradoxus* (MP8-4, MP10-15, MP10-39), *C. plantarum* MP-31 i *Pseudomonas lini* MP10-34 pokazali su odličnu produkciju EPS-a. Produkcija siderofora i IAA zabeležena je kod 31 izolata, pri čemu nisu svi izolati ispoljavali obe aktivnosti. Najbolji producenti siderofora bili su *Chryseobacterium lathyri /elymi* MP6-19, *Curtobacterium herbarum* MP6-39, *Pseudomonas trivialis/poae* MP6-87, *Bacillus velezensis* MP10-7, *P. lini* MP10-34 i *Microbacterium maritypicum* MP10-44. Skoro kod svih izolata je zabeležena veoma dobra produkcija IAA, pri čemu su se izolati *Brevibacillus borstelensis* MP5-2, *Priestia aryabhatai* MP8-17 i *Rhizobium soli* MP10-64 izdvojili kao odlični producenti. Takođe, na osnovu umnoženih *hcnBC* gena, potencijalnu produkciju HCN-a mogli bi imati izolati *Novosphingobium panipatense /soli* MP-614 i *C. lathyri/elymi* MP6-19. Izolati koji su pokazali najviše PGP karakteristika bili su *N. panipatense/soli* MP6-14, *C. lathyri/elymi* MP6-19, *Pseudomonas trivialis/poae* (MP6-37/1 i MP6-87), *P. aryabhatai* MP9-1, *Paenibacillus glycanilyticus* MP10-20, *Bacillus zhangzhouensis* MP10-30, *C. plantarum* MP10-31 i *P. lini* MP10-34.

Tabela 21. PGP karakteristike i produkcija hidrolitičkih enzima 35 izolata iz pšenice.

Vrsta	Izolat	Rast na DF sa (NH ₄) ₂ SO ₄	Rast na DF bez (NH ₄) ₂ SO ₄	PO ₄ ³⁻	IAA	Siderofore	Produkcija EPS-a	Rojenje	Plivanje	HCN
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	MP5-2	+	+	-	+++	+	-	+	+++	-
<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	MP6-14	+	++	-	++	++	+	+++	+++	+
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	+	+	-	+	+++	+	+	+++	+
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i>	MP6-33	+	+	-	++	+	+	-	++	-
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-36	++	++	+++	-	+	+++	++	+++	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-37/1	+	+	++	++	++	+	+++	+++	-
<i>Curtobacterium herbarum</i>	MP6-39	+	+	-	-	+++	+	-	+	-
<i>Pseudorhodofera soli</i>	MP6-55	+	+	-	+	+	+	++	+++	-
<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	MP6-60	++	++	+	+	+	+	++	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i>	MP6-85	+++	++	+	+	-	+	+++	+++	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP6-86	+	++	-	+	++	+	+++	+++	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-87	+	+	++	+	+++	+	+++	+++	-
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-16	+	-	+	++	+	+	-	++	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP8-17	++	++	+	+++	+	+	++	-	-
<i>Phyllobacterium ifriqiyense</i>	MP8-23	+	+	+	+	+	++	-	++	-
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP8-25	+	+	-	++	+	+	-	++	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP9-1	++	+	+	++	+	+	++	-	+
<i>Priestia endophytica</i>	MP9-2/1	++	++	+	+	+	+	++	-	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP9-3	++	+	-	++	+	+	++	+++	-
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	++	+	+	+	++	-	+++	+++	-
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-1	+	+	-	-	++	+	+++	+++	-
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	++	+	+	++	+++	-	+++	+++	-
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-10	++	++	-	++	+	-	+++	+++	-
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	++	+	-	++	+	+	+	+	+

<i>Bacillus mojavensis</i>	MP10-28	+++	++	+	-	-	-	+++	+++	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	++	+	+	+	++	++	+++	+++	-
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	++	+++	+++	++	+	+++	+	+++	-
<i>Pseudomonas koreensis</i>	MP10-32	++	++	+	++	-	++	+++	+++	-
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	+++	++	+	++	+++	+++ ^d	++	++	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP10-38	++	++	-	++	++	+	-	++	-
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-39	++	++	+	+	+	+++ ^d	-	++	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP10-43	+	-	+	++	+	+	+++	+++	-
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-44	+	+	-	++	+++	+	-	+++	-
<i>Lysobacter antibioticus</i>	MP10-49	-	-	-	+	+	+	-	-	-
<i>Rhizobium soli</i>	MP10-64	++	++	+	+++	-	+	-	+	-

Vrsta	Izolat	ACC deaminaza	Amilaza	Proteinaza	Lipaza	Ksilanaza	Mananaza	Celulaza	Želatinaza	Pektinaza
			EI	EI	EI	EI	EI	EI	EI	EI
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	MP5-2	-	-	-	-	-	1.00	-	1.25	-
<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	MP6-14	-	-	-	-	-	1.00	-	1.00	-
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	-	2.15	2.02	-	-	-	-	-	2.15
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i>	MP6-33	-	8.50	1.08	-	-	1.42	-	-	1.08
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-36	-	7.65	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-37/1	-	-	1.60	1.36	1.14	-	1.18	-	-
<i>Curtobacterium herbarum</i>	MP6-39	+/-	-	-	1.08	-	-	-	-	-
<i>Pseudorhodoferax soli</i>	MP6-55	-	-	-	-	-	1.00	-	1.00	-
<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	MP6-60	-	1.67	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i>	MP6-85	-	1.11	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP6-86	-	3.96	1.16	-	-	1.27	1.34	1.25	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-87	-	7.85	1.46	-	-	-	1.35	-	-
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-16	-	-	-	1.28	-	-	-	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP8-17	-	1.44	-	-	-	-	-	-	-
<i>Phyllobacterium ifriqiyense</i>	MP8-23	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP8-25	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP9-1	+/-	1.54	0.25	1.11	-	-	-	-	-

<i>Priestia endophytica</i>	MP9-2/1	-	4.62	1.46	1.23	1.66	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP9-3	-	-	1.00	1.50	-	-	-	-	-
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	-	4.38	1.67	-	-	1.76	2.14	-	1.40
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-1	-	1.54	1.21	1.10	-	-	-	1.31	-
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	-	1.75	1.42	-	-	1.64	1.45	1.30	-
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-10	-	-	-	1.12	-	-	-	-	-
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus mojavenensis</i>	MP10-28	-	1.73	1.17	-	-	1.91	2.42	1.90	2.08
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	-	-	-	1.22	-	1.43	1.62	-	1.40
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	-	2.90	-	-	-	-	-	1.80	-
<i>Pseudomonas koreensis</i>	MP10-32	-	1.48	-	1.56	-	-	-	1.38	-
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	-	-	-	1.29	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP10-38	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-39	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP10-43	-	1.38	-	1.22	-	-	-	1.25	-
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-44	-	1.40	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lysobacter antibioticus</i>	MP10-49	-	-	1.20	1.31	-	1.25	-	-	-
<i>Rhizobium soli</i>	MP10-64	-	-	-	-	-	-	-	-	-

— bez aktivnosti; + slaba aktivnost; ++ dobra aktivnost; +++ odlična aktivnost; +++^d izuzetna aktivnost; PO₄³⁻-solubilizacija fosfata; EPS-egzopolisaharidi; EI-enzimatski indeks, - nema aktivnosti, EI >1 dobra aktivnost, EI=1-2 veoma dobra aktivnost, EI>2 odlična aktivnost

Među selektovanim izolatima, njih 35, najčešće je detektovana amilazna aktivnost, kod 18 izolata sa vrednostima EI u opsegu od 1,11 do 8,50 pri čemu je najvišu vrednost pokazao *P. trivialis/poae* MP6-37/1 (Tabela 21). Proteolitička aktivnost kretala se u rangi 0,25-2,02, a najintenzivniju aktivnost ispoljio je izolat *C. lathyri/elymi* MP6-19. Želatinazna (1,00-1,90) i mananazna (1,00-1,91) aktivnost detektovane su kod 10 izolata pri čemu je izolat *Bacillus mojavensis* MP10-28 ostvario obe najviše vrednosti. Najjaču lipolitičku aktivnost ispoljio je *Pseudomonas koreensis* MP10-32, dok se generalno aktivnost kretala u rasponu 1,08-1,56. Kod celulazne aktivnosti, sa EI vrednostima u intervalu 1,18-2,42 najintenzivniju produkciju imao je *B. mojavensis* MP10-28. Među pet izolata sposobnih da razgrađuju pektin (1,08-2,15), najvišu pektinolitičku aktivnost pokazao je *C. lathyri/elymi* MP6-19. *Pseudomonas trivialis/poae* MP6-37/1 i *Priestia endophytica* MP9-2/1 ostvarili su veoma dobru ksilanolitičku aktivnost sa EI vrednostima od 1,14 i 1,66.

4.7.2 In vitro evaluacija otpornosti izolata iz pšenice na stres suše i soli

Svi selektovani izolati su uspešno rasli pri dodatku od 1% NaCl u podlogu (Tabela 22), dok je rast *B. borstelensis* MP5-2, *Sphingopyxis fribergensis* MP8-16, *P. ifriqiyense* MP8-23 i *Lysobacter antibioticus* MP10-49 izostao pri dodatku 3% NaCl-a. Ukupno 22 izolata ispoljilo je rast i pri 5% NaCl. Pri koncentraciji od 8% NaCl-a, detektovan je rast 13 izolata, ali sa smanjenim intenzitetom rasta. Deset izolata raslo je pri maksimalnoj testiranoj koncentraciji NaCl-a, takođe sa smanjenim intenzitetom rasta u odnosu na niže koncentracije.

Tabela 22. Tolerancija 35 izolata iz pšenice na stres soli.

Vrsta	Izolat	1% NaCl	3% NaCl	5% NaCl	8% NaCl	10% NaCl
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	MP5-2	+	-	-	-	-
<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	MP6-14	+++	++	+	-	-
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	+++	++	-	-	-
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i>	MP6-33	+++	++	++	+	-
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-36	+++	++	-	-	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-37/1	+++	++	-	-	-
<i>Curtobacterium herbarum</i>	MP6-39	+++	++	+	-	-
<i>Pseudorhodoferax soli</i>	MP6-55	+++	++	+	-	-
<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	MP6-60	+++	++	+	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i>	MP6-85	+++	+++	++	+	+
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP6-86	+++	++	++	+	+
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-87	+++	++	+	+	-
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-16	+	-	-	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP8-17	+++	++	++	+	+
<i>Phyllobacterium ifriqiyense</i>	MP8-23	+++	-	-	-	-
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP8-25	+++	++	-	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP9-1	+++	+++	++	+	+
<i>Priestia endophytica</i>	MP9-2/1	+++	++	++	+	+
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP9-3	+++	++	+	-	-
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	+++	++	++	+	+
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-1	+++	+++	++	+	+
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	+++	++	+	-	-
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-10	+++	+++	++	+	+
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	+++	++	-	-	-
<i>Bacillus mojavensis</i>	MP10-28	+++	+++	++	+	+

<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	+++	+++	++	+	+
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	+++	++	++	+	-
<i>Pseudomonas koreensis</i>	MP10-32	+++	++	+	-	-
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	+++	++	+	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP10-38	+++	++	-	-	-
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-39	+++	++	-	-	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP10-43	+++	+++	++	-	-
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-44	+++	++	-	-	-
<i>Lysobacter antibioticus</i>	MP10-49	+	-	-	-	-
<i>Rhizobium soli</i>	MP10-64	+++	+	-	-	-

- nema rasta, + slab rast, ++ dobar rast, +++ odličan rast

Rezultati rasta selektovanih 35 izolata pri različitim koncentracijama PEG-a 6000 (5%, 10%, 20% i 30%) prikazane su u Tabeli 23. Svi testirani izolati ispoljili su odličan rast pri koncentraciji PEG-a od 5% i 10%. Pri koncentraciji PEG-a od 20% rast je zabeležen kod 34 izolata, izuzev izolata *S. fribergensis* MP8-16. Međutim, kod pojedinih izolata uočen je slabiji intenzitet rasta u odnosu na niže koncentracije PEG. Najbolju toleranciju maksimalno testirane koncentracije PEG u medijumu pokazali su *N. panipatense/soli* MP6-14, *Pseudorhodofera soli* MP6-55 i *Bacillus licheniformis* MP6-85, pri čemu su se istakli kao najbolji kandidati u toleranciji suše. Preostali izolati ispoljili su nešto niži intenzitet rasta, dok svega tri izolata nije tolerisalo maksimalnu koncentraciju PEG.

Tabela 23. Tolerancija 35 izolata iz pšenice na stres suše.

Vrsta	Izolat	5% PEG	10% PEG	20% PEG	30% PEG
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	MP5-2	+++	++	++	++
<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	MP6-14	+++	+++	+++	+++
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	+++	++	++	++
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i>	MP6-33	+++	+++	++	++
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-36	+++	+++	++	++
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-37/1	++	++	++	++
<i>Curtobacterium herbarum</i>	MP6-39	++	+++	++	++
<i>Pseudorhodofera soli</i>	MP6-55	+++	+++	+++	+++
<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	MP6-60	+++	+++	++	++
<i>Bacillus licheniformis</i>	MP6-85	++	+++	+++	+++
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP6-86	+++	++	++	++
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-87	+++	++	++	++
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-16	+++	+++	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP8-17	+++	++	++	++
<i>Phyllobacterium ifriqiyense</i>	MP8-23	+++	+++	++	++
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP8-25	+++	++	++	++
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP9-1	++	++	++	++
<i>Priestia endophytica</i>	MP9-2/1	+++	++	++	++
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP9-3	+++	++	++	++
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	+++	++	+++	++
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-1	+++	++	++	++
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	+++	++	++	++
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-10	+++	++	++	++
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	++	++	++	-

<i>Bacillus mojavensis</i>	MP10-28	+++	++	++	++
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	+++	++	++	++
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	+++	+++	++	++
<i>Pseudomonas koreensis</i>	MP10-32	++	++	++	++
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	+++	++	++	++
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP10-38	+++	++	++	++
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-39	++	++	++	++
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP10-43	+++	++	++	++
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-44	++	++	++	++
<i>Lysobacter antibioticus</i>	MP10-49	+++	+++	++	-
<i>Rhizobium soli</i>	MP10-64	+++	+++	+++	++

- nema rasta, + slab rast, ++ dobar rast, +++ odličan rast

4.7.3 *In vitro* evaluacija otpornosti izolata iz pšenice na prisustvo toksičnih metala

Rezultati tolerancije odabranih 35 izolata iz pšenice na prisustvo toksičnih metala prikazani su u Tabeli 24. Izolati su pokazali izuzetnu otpornost prema olovo-hloridu, pri čemu je 26 izolata uspešno raslo pri maksimalno testiranoj koncentraciji od 0,1%, dok je za šest izolata maksimalna koncentracija dovela do inhibicije rasta. Otpornost izolata na kobalt-nitrat kretala se u opsegu 0,01-0,075%. Najveći broj izolata uspešno je tolerisao porast koncentracije kadmijum-nitrata do 0,008 i 0,01%, pri čemu su *V. paradoxus* MP10-39 i *C. lathyri/elymi* MP6-19 tolerisali i do 0,025, odnosno 0,0375%. Izolati poreklom iz pšenice bili su osetljivi na povišenu koncentraciju žive-hlorida, pri čemu je 19 izolata uspešno raslo do 0,008% žive-hlorida. Najniža testirana koncentracija žive-hlorida (0,005%) bila je toksična za 16 izolata. Najveću otpornost prema kobaltu pokazali su *S. oryzae* MP6-36, *P. trivialis/poae* MP6-37/1, *C. herbarum* MP6-39, *Priestia aryabhatai* (MP8-17 i MP9-1) i *P. ifriqiyense* MP8-23, dok je na kadmijum najrezistentniji bio *C. lathyri/elymi* MP6-19. Najbolju otpornost prema svim testiranim metalima pokazali su *C. lathyri/elymi* MP6-19, *S. oryzae* MP6-36, *P. trivialis/poae* MP6-37/1 i *C. herbarum* MP6-39.

Tabela 24. Minimalne inhibitorne koncentracije 35 izolata iz pšenice prema toksičnim metalima.

Vrsta	Izolat	Kobalt-nitrat	Olovo-hlorid	Kadmijum-nitrat	Živa-hlorid
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	MP5-2	0,038	>0,100	0,008	0,008
<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	MP6-14	0,050	0,025	0,008	0,008
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	0,025	>0,100	0,038	0,008
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i>	MP6-33	0,025	>0,100	0,010	<0,005
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-36	0,075	>0,100	0,010	0,008
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-37/1	0,075	>0,100	0,010	0,008
<i>Curtobacterium herbarum</i>	MP6-39	0,075	>0,100	0,010	0,008
<i>Pseudorhodoferax soli</i>	MP6-55	0,025	>0,100	0,008	<0,005
<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	MP6-60	0,038	>0,100	<0,005	0,008
<i>Bacillus licheniformis</i>	MP6-85	0,050	0,025	0,008	0,008
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP6-86/1	0,050	0,100	0,010	0,008
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-87	0,038	>0,100	0,010	0,008
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-16	0,010	>0,100	<0,005	<0,005
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP8-17	0,075	>0,100	0,008	<0,005
<i>Phyllobacterium ifriqiense</i>	MP8-23	0,075	0,010	0,008	0,008
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP8-25	0,038	>0,100	0,010	0,008
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP9-1	0,075	>0,100	0,008	0,008
<i>Priestia endophytica</i>	MP9-2/1	0,050	>0,100	0,008	0,008
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP9-3	0,050	>0,100	0,010	0,008
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	0,050	>0,100	0,010	<0,005
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-1	0,038	0,100	0,008	<0,005
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	0,010	>0,100	<0,005	<0,005
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-10	0,038	0,100	0,008	<0,005
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	0,038	>0,100	0,008	0,008
<i>Bacillus mojavenis</i>	MP10-28	0,038	>0,100	0,008	<0,005
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	0,038	0,100	0,008	<0,005
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	0,038	>0,100	0,010	0,008
<i>Pseudomonas koreensis</i>	MP10-32	0,038	>0,100	0,010	<0,005
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	0,010	>0,100	0,010	0,008
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP10-38	0,038	>0,100	0,008	<0,005
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-39	0,038	0,100	0,025	<0,005
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP10-43	0,025	>0,100	0,008	<0,005
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-44	0,018	>0,100	0,008	<0,005
<i>Lysobacter antibioticus</i>	MP10-49	0,038	>0,100	0,008	<0,005
<i>Rhizobium soli</i>	MP10-64	0,038	0,100	0,010	0,008

4.7.4 *In vitro* evaluacija antifungalne aktivnosti izolata iz pšenice

Na osnovu rezultata dobijenih za promociju rasta biljaka i proizvodnju ekstracelularnih enzima, odabrano je 35 izolata iz pšenice za početni skrining protiv deset različitih sojeva roda *Fusarium*. Procenat inhibicije rasta micelije testiran je za 9 antagonista i pet patogenih *Fusarium* spp. u finalnom skriningu, dok preostali izolati sa slabom ili odsustvom aktivnosti nisu dalje analizirani (Tabela 25).

Tabela 25. Antifungalna aktivnost odabranih izolata pšenice prema sojevima roda *Fusarium* testirani metode dualne kulture. Rezultati su prikazani kao srednja vrednost \pm standardna greška.

Vrsta	Izolat	Fungalni fitopatogeni				
		<i>F. graminearum</i> GD1	<i>F. graminearum</i> CIK	<i>F. bothi</i> IB7I-1	<i>F. ipomoeae</i> IB6I-10	<i>F. foetens</i> IP27
Centurion						
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	0,00 \pm 0,00 ^e	0,00 \pm 0,00 ^d	33,33 \pm 5,35 ^c	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^e
Modern						
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	54,81 \pm 0,56 ^c	59,62 \pm 2,22 ^{ab}	67,59 \pm 1,60^a	36,71 \pm 1,46 ^c	34,38 \pm 0,00 ^b
<i>Bacillus aerophilus /stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-1	0,00 \pm 0,00 ^e	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	6,25 \pm 3,61 ^{de}
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	59,62 \pm 1,11 ^b	64,42 \pm 0,56 ^{ab}	65,74 \pm 1,60 ^{ab}	51,90 \pm 0,00^a	54,69 \pm 0,90^a
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	71,15 \pm 0,00^a	69,23 \pm 1,11^a	67,59 \pm 0,53^a	44,30 \pm 1,46 ^b	34,38 \pm 3,61 ^b
<i>Bacillus mojavensis</i>	MP10-28	53,85 \pm 0,00 ^c	53,85 \pm 1,11 ^b	55,56 \pm 4,28 ^b	35,44 \pm 2,19 ^c	34,38 \pm 0,00 ^b
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	0,00 \pm 0,00 ^e	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	17,19 \pm 0,90 ^c
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	0,00 \pm 0,00 ^e	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	3,13 \pm 1,80 ^{de}
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	43,27 \pm 0,56 ^d	32,69 \pm 8,88 ^c	1,85 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	10,94 \pm 2,71 ^{cd}
		<i>F. falciforme</i> IP31	<i>F. nigamai</i> TS6	<i>F. semitectum</i> TS7	<i>F. solani</i> TS8	<i>F. oxysporum</i> TS3
Centurion						
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	8,33 \pm 0,96 ^{cd}	1,64 \pm 1,89 ^d	8,47 \pm 1,96 ^c	26,92 \pm 2,22 ^c	35,96 \pm 0,65 ^c
Modern						
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	43,33 \pm 0,00^a	19,67 \pm 0,95 ^c	27,12 \pm 2,94 ^b	44,87 \pm 0,74 ^b	58,43 \pm 0,65 ^{ab}
<i>Bacillus aerophilus /stratosphericus/altitudinis</i>	MP10-1	6,67 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^e
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	45,00 \pm 0,96^a	40,98 \pm 1,89^a	42,37 \pm 1,96^a	55,13 \pm 0,74^a	49,44 \pm 1,95 ^b
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	28,33 \pm 4,81 ^b	44,26 \pm 0,00^a	38,98 \pm 0,00^a	57,69 \pm 2,22^a	62,92 \pm 0,65^a
<i>Bacillus mojavensis</i>	MP10-28	45,00 \pm 0,96^a	29,51 \pm 0,95 ^b	38,98 \pm 3,91^a	43,59 \pm 0,00 ^b	59,55 \pm 2,59 ^{ab}
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	13,33 \pm 1,92 ^{cd}	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^e
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	16,67 \pm 1,92 ^c	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^c	0,00 \pm 0,00 ^d	0,00 \pm 0,00 ^e
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	6,67 \pm 0,00 ^d	0,55 \pm 0,55 ^d	2,26 \pm 1,49 ^c	0,00 \pm 0,00 ^d	21,35 \pm 6,49 ^d

Prikazane su srednje vrednosti procenta inhibicije rasta gljiva sa standardnom greškom. Vrednosti označene istim slovom unutar kolona, predstavljaju vrednosti bez statističke značajnosti ($p < 0,05$), prema Tukey HSD testu. Podebljane vrednosti predstavljaju najveći procenat inhibicije za određenu gljivu kao rezultat delovanja određenog izolata.

Izolati *Bacillus halotolerans* MP9-8, *B. velezensis* MP10-7, *P. glycanilyticus* MP10-20 i *B. mojavensis* MP10-28 pokazali su umerenu do odličnu antagonističku aktivnost protiv svih testiranih gljiva. Preostali izolati bili su aktivni prema manjem broju fungalnih patogena, pokazujući umerenu do slabu aktivnost. Statistički najznačajniju antagonističku aktivnost prema svim izolatima gljiva ispoljili su *B. velezensis* MP10-7 i *P. glycanilyticus* MP10-20.

4.8 Dizajniranje konzorcijuma tradicionalnim metodama i modelom pregleda funkcionalnosti zajednice

4.8.1 Dizajn bakterijskih konzorcijuma iz šećerne repe tradicionalnim pristupom

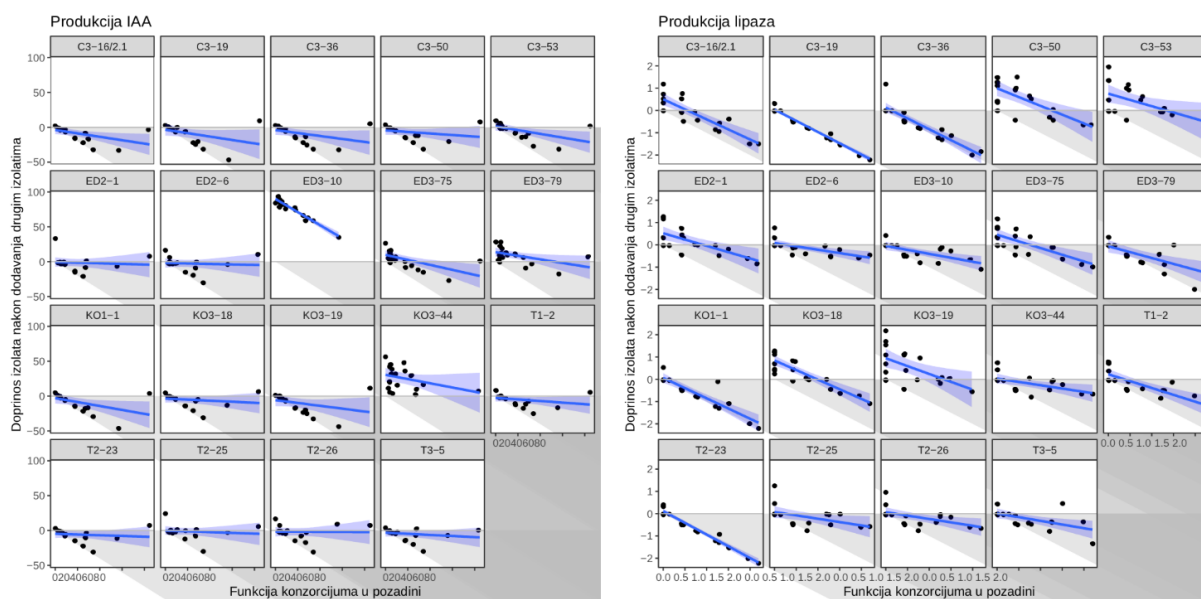
Na osnovu PGP karakteristika, produkcije hidrolitičkih enzima, tolerancije na stres suše i soli, kao i antifungalne aktivnosti odabrano je 8 izolata za dizajniranje bakterijskih konzorcijuma koji su primenjeni u inokulaciji semena. Formirano je tri tipa konzorcijuma, Mix1 činili su izolati

koji su imali najbolje PGP karakteristike, Mix2 se sastojao od izolata sa najboljom antagonističkom aktivnošću i Mix 3 kombinacija prva dva tipa (Tabela 5).

4.8.2 Dizajn bakterijskih konzorcijuma iz šećerne repe modelom pregleda funkcionalnosti zajednice

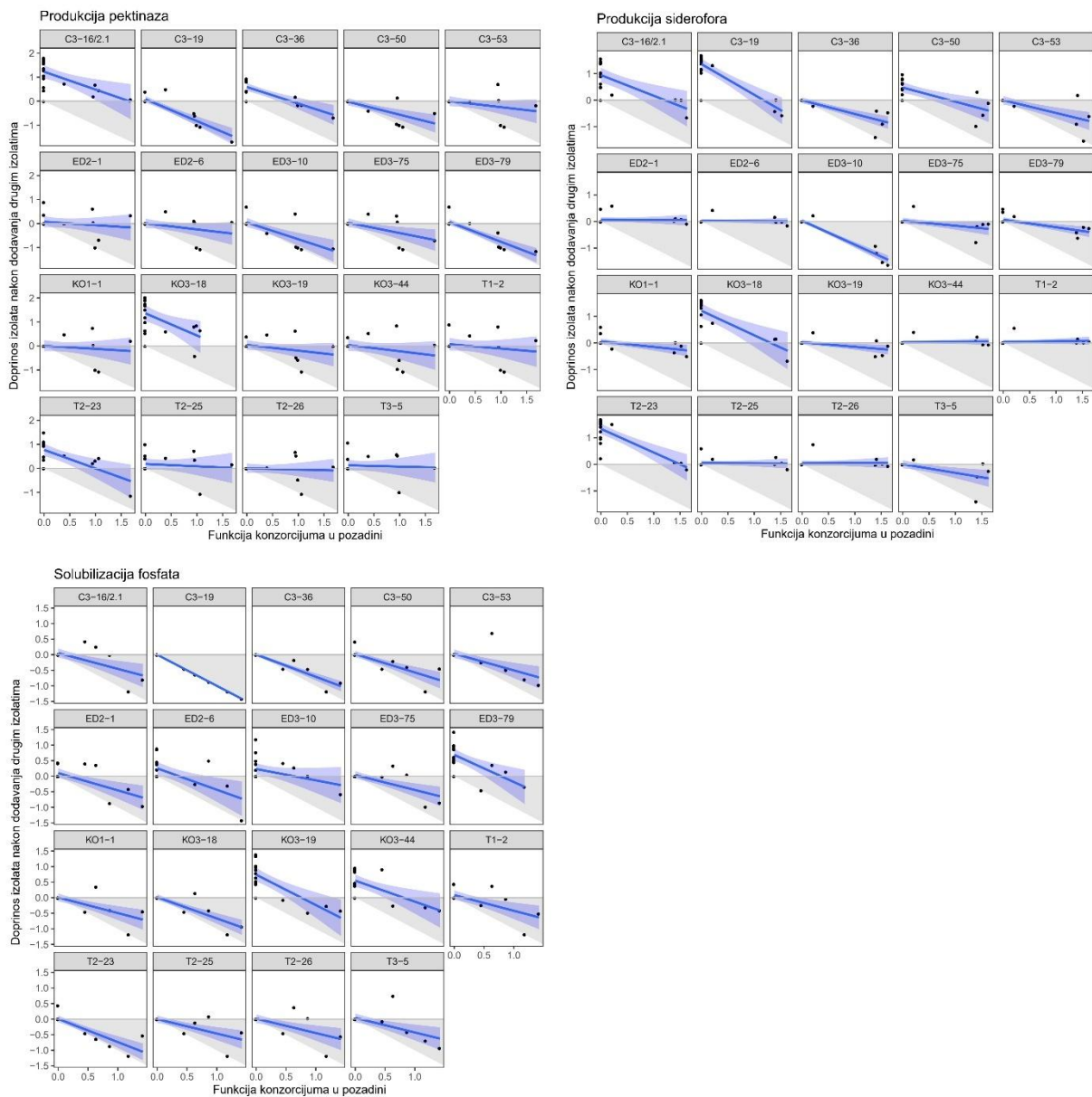
Od 32 izolata, osnovu PGP karakteristika, produkcije hidrolitičkih enzima, tolerancije na stres suše i soli, kao i antifungalne aktivnosti, odabrano je 19 izolata različitih vrsta (*B. halotolerans* C3-16/2.1, *B. amyloliquefaciens* C3-19, *P. polymyxa* C3-36, *Bacillus zhangzhouensis* C3-50, *Lysinibacillus macroides* C3-53, *P. taichungensis* ED2-1, *C. pusillum* ED2-6, *P. vermicola* ED3-10, *G. mishrai* ED3-75, *E. tasmaniensis* ED3-79, *Bacillus pacificus/paranthracis* KO1-1, *B. subtilis* KO3-18, *P. oryzihabitans* KO3-19, *M. theicola* KO3-44, *P. aryabhatai* T1-2, *B. velezensis* T2-23, *A. oryzae* T2-25, *Micrococcus aloeverae* T2-26, *Bacillus sonorensis* T3-5) za dalja ispitivanja, čime je obezbeđena visoka funkcionalna raznovrsnost unutar dizajniranih konzorcijuma. Od ovih 19 izolata formirano je 171 kombinacija u paru koje su testirane *in vitro* na 5 karakteristika (produkciju siderofora, IAA, lipaza, pektinaza i solubilizaciju fosfata) (Prilog 8). Validnost modela potvrđena je poređenjem predikcija i eksperimentalno dobijenih rezultata za nasumično odabrane konzorcijume sa više od dva izolata (Prilog 9).

U pogledu eksperimentalnih rezultata u ko-kulturi, za proizvodnju IAA skoro svaki izolat kada se doda drugom izolatu funkcija se kreće ka vrednosti 0 (Slika 31), što znači da nema doprinosa u proizvodnji IAA između izolata. Izolati *P. vermicola* ED3-10 i *M. theicola* KO3-44 pokazali su najveću pojedinačnu produkciju IAA. Uočeno je da *P. vermicola* ED3-10 u ko-kulturi ostvaruje izraženiji funkcionalni efekat, posebno u kombinaciji sa izolatima koji samostalno imaju nižu produkciju IAA. Takođe, zabeleženo je da *M. theicola* KO3-44 ostvaruje veći broj interakcija i značajno doprinosi povećanju funkcionalnosti u ko-kulturama sa drugim izolatima. U slučaju proizvodnje lipaze, 11 izolata pokazuje pozitivan efekat u ko-kulturi (Slika 31), odnosno sa nekim izolatima uspostavljaju bolji rezultat od pojedinačnog. U pogledu produkcije lipaza, izolati *B. amyloliquefaciens* C3-19, *P. polymyxa* C3-36, *B. pacificus/paranthracis* KO1-1 i *B. velezensis* T2-23 u ko-kulturi sa gotovo svim ostalim izolatima ispoljili su negativan doprinos ovoj funkciji, čak i u kombinacijama sa izolatima kod kojih je pojedinačno potvrđena lipolitička aktivnost. Preostali izolati u ko-kulturi su, u manjoj ili većoj meri, ispoljili pozitivan doprinos ovoj funkciji, pri čemu su se naročito izdvojili izolati *B. halotolerans* C3-16/2.1, *B. zhangzhouensis* C3-50, *Lysinibacillus macroides* C3-53, *Glutamicibacter mishrai* E3-75, *B. subtilis* KO3-18 i *P. oryzihabitans* KO3-19.



Slika 31. Produkcija IAA i lipaza izolata iz šećerne repe u ko-kulturi.

Većina izolata u ko-kulturi nije uticala na povećanje funkcije solubilizacije fosfata ili je uticala na smanjenje funkcije (Slika 32). Za izolate *C. pusillum* ED2-6, *P. vermicola* ED3-10, *E. tasmaniensis* ED3-79 i *P. oryzae* KO3-19, funkcija ko-kulture je bila veća od funkcije monokulture i može se uočiti trend da ovi izolati ostvaruju izraženiji doprinos u kombinacijama sa izolatima koji pojedinačno pokazuju slabiju sposobnost solubilizacije fosfata ili je uopšte ne ispoljavaju. Za proizvodnju pektinaza se uočava da izolati u ko-kulturi imaju bolje rezultate (Slika 32). Izolati *B. halotolerans* C3-16/2.1, *B. subtilis* KO3-18, *P. polymyxa* C3-36 i *B. velezensis* T2-23 povećavaju funkciju u ko-kulturi sa drugim izolatima, posebno sa onima koji sami po sebi imaju nižu pektinaznu aktivnost. Izuzeci su *B. amyloliquefaciens* C3-19, *Bacillus zhangzhouensis* C3-50, *L. macroides* C3-53, *C. pusillum* ED2-6, *P. vermicola* ED3-10 i *M. aloeverae* T2-26, koji nemaju doprinos funkciji ili smanjuju funkciju kroz međusobnu kompeticiju. Izolati *B. halotolerans* C3-16/2.1, *B. amyloliquefaciens* C3-19, *B. zhangzhouensis* C3-50, *B. subtilis* KO3-18 i *B. velezensis* T2-23 doprinose povećanju produkcije siderofora u ko-kulturi sa skoro svim ostalim izolatima (Slika 32).



Slika 32. Produkcija pektinaza, siderofora i solubilizacija fosfata izolata iz šećerne repe u ko-kulturi.

Najveći doprinos funkciji uočen je u ko-kulturi izolata *B. velezensis* T2-23 sa izolatima koji ne poseduju sposobnost produkcije siderofora. Preostali izolati u ko-kulturi imaju indiferentan uticaj na funkciju. Na osnovu svih dobijenih rezultata, modelom je predviđeno dodatnih 16 664 konzorcijuma sačinjenih od tri do pet izolata, dok je prema rangu srednje vrednosti funkcija odabrano ukupno šest konzorcijuma za dalja testiranja u polju (Tabela 26).

Tabela 26. Odabrani konzorcijuma šećerne repe modelom pregleda funkcionalnosti zajednice.

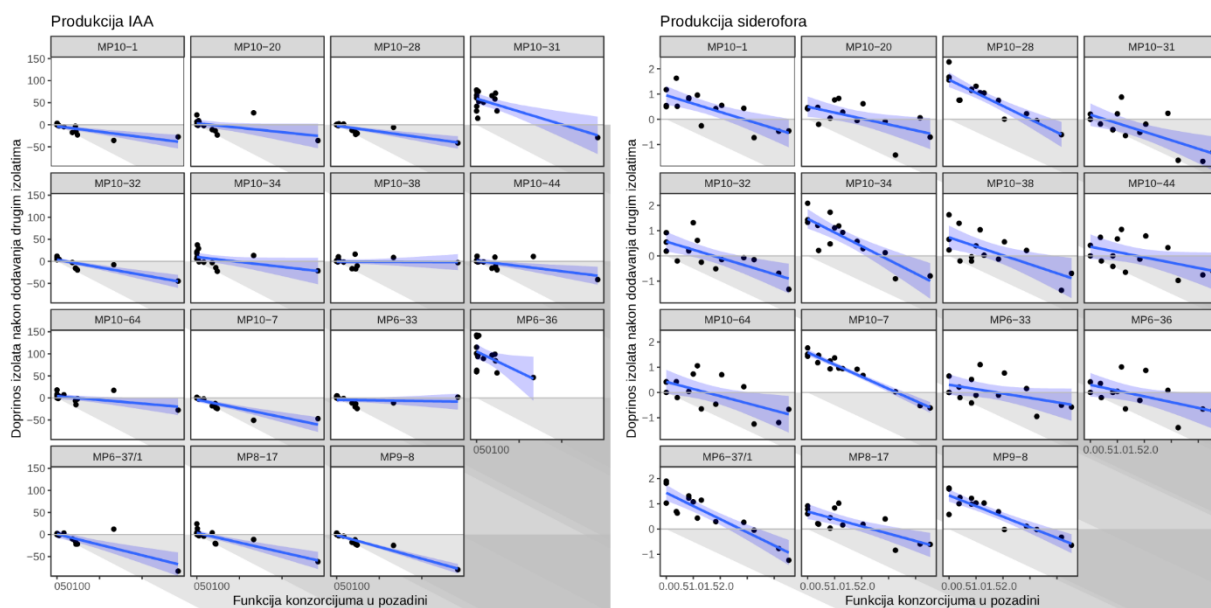
Izolati	Tip	Pekt.	Lipaze	Sider.	PO ₄ ³⁻	IAA	Norm. Pekt.	Norm. Lipaze	Norm. Sider.	Norm. PO ₄ ³⁻	Norm. IAA	Srednja vrednost funkcija	Maksimizacija minimuma funkcije	Rang*	Rang**
		EI	EI	EI	EI	µg/mL									
C3-16/2.1_KO3-44	izmereno	1,80	0,76	1,47	0,86	24,46	3,25	1,37	1,67	3,76	0,08	2,02	0,08	1	251
KO3-18_KO3-44	izmereno	1,73	1,23	1,47	0,46	44,82	3,06	3,27	1,68	1,30	0,74	2,01	0,74	2	1
KO3-18_KO3-19	izmereno	1,68	1,14	1,07	0,78	2,86	2,94	2,90	0,76	3,28	-0,63	1,85	-0,63	3	2700
KO3-18_KO3-19_KO3-44	predvideno	1,33	1,07	1,18	0,56	22,97	2,01	2,61	1,02	1,94	0,03	1,52	0,03	4	312
KO3-18_KO3-44_ED2-6	predvideno	1,32	0,77	1,42	0,45	39,74	2,00	1,40	1,56	1,27	0,57	1,36	0,57	12	5
KO3-18_KO3-19_KO3-44_ED2-6	predvideno	1,09	0,92	1,21	0,58	26,23	1,39	2,01	1,08	2,03	0,13	1,33	0,13	17	179

Pekt.- Pektinaze; Sider. - Siderofore; PO₄³⁻- Solubilizacija fosfata; IAA- Indol-3-sirćetna kiselina; Norm.- Normalizovane vrednosti; Rang* - Rang srednje vrednosti funkcija; Rang** - Rang maksimizacije minimuma funkcija

4.8.3 Dizajn bakterijskih konzorcijuma iz pšenice modelom pregleda funkcionalnosti zajednice

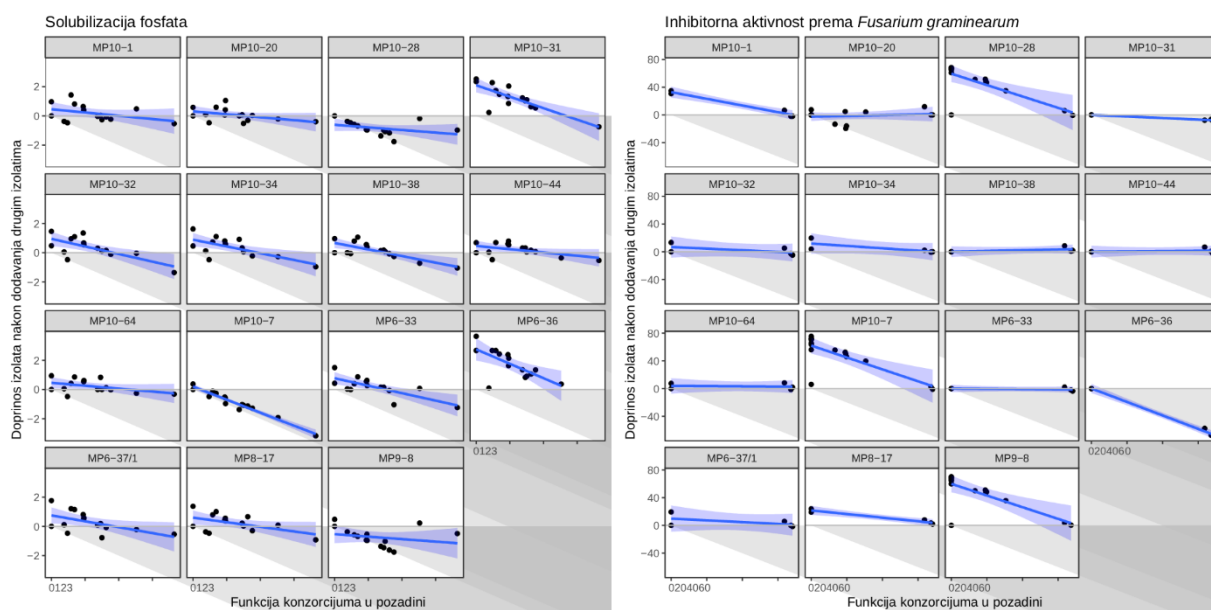
Od 35 izolata na osnovu PGP rezultata, produkcije hidrolitičkih enzima, tolerancije na abiotičke faktore i antagonistički potencijal selektovano je 15 izolata (*Curtobacterium citreum/oceanosedimentum* MP6-33, *S. oryzae* MP6-36, *P. trivialis/poae* MP6-37/1, *P. aryabhatai* MP8-17, *B. halotolerans* MP9-8, *Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis* MP10-1, *B. velezensis* MP10-7, *P. glycanilyticus* MP10-20, *B. mojavensis* MP10-28, *C. plantarum* MP10-31, *P. koreensis* MP10-32, *P. lini* MP10-34, *Curtobacterium pusillum* MP10-38, *M. maritypicum* MP10-44, *R. soli* MP10-64) od kojih je formirano 105 kombinacija u paru koje su testirane *in vitro* na tri različite karakteristike (produkciju siderofora, IAA i solubilizaciju fosfata) (Prilog 10). Dodatno, izolati *B. halotolerans* MP9-8, *B. velezensis* MP10-7, *P. glycanilyticus* MP10-20 i *B. mojavensis* MP10-28 koji su pokazali najbolji antagonistički potencijal, testirani su u ko-kulturi međusobno, kao i sa preostalim izolatima od selektovanih 15 izolata, formirajući 50 kombinacija (Prilog 11). Validnost modela potvrđena je poređenjem predikcija i eksperimentalno dobijenih rezultata za nasumično odabrane konzorcijume sa više od dva izolata (Prilog 12).

Rezultati dobijeni u ekperimentima u ko-kulturi su pokazali da izolati *C. plantarum* MP10-31 i *S. oryzae* MP6-36 doprinose više u ko-kulturi sa izolatima koji pojedinačno imaju nižu funkciju, tj. nižu produkciju IAA, dok preostali izolati su pokazali negativan ili neutralan uticaj na druge izolate u produkciji IAA (Slika 33). U proizvodnji siderofora je uočeno da izolati u ko-kulturi daju bolje rezultate. Izolati *P. trivialis/poae* MP6-37/1, *B. halotolerans* MP9-8, *B. velezensis* MP10-7 i *B. mojavensis* MP10-28, povećavaju funkciju u ko-kulturi sa drugim izolatima, posebno sa onima koji sami po sebi imaju nižu produkciju siderofora.



Slika 33. Produkcija IAA i siderofora izolata iz pšenice u ko-kulturi.

Izolati *S. oryzae* MP6-36 i *C. plantarum* MP10-31 imali su pozivan efekat u ko-kulturi sa drugim izolatima (Slika 34), naročito *S. oryzae* MP6-36 koji je doprineo povećanju funkcije u ko-kulturi sa svim drugim izolatima, čak i sa onim koji su dobri solubilizatori fosfata. Međutim, većina preostalih izolata u ko-kulturi nije imala doprinos funkciji ili je uticala na smanjenje funkcije kroz kompeticiju. Izolati *B. halotolerans* MP9-8, *B. velezensis* MP10-7 i *B. mojavensis* MP10-28 iako su bili odlični inhibitori rasta *F. graminearum* u ko-kulturi povećavaju funkciju sa drugim izolatima, posebno sa onima koji imaju slabiju inhibitornu aktivnost (Slika 34). Preostali izolati su imali indiferentan uticaj na druge izolate ili čak negativan uticaj poput izolata *S. oryzae* MP6-36.



Slika 34. Solubilizacija fosfata i inhibitorna aktivnost izolata iz pšenice u ko-kulturi.

Na osnovu rezultata dobijenih u *in vitro* testovima konstruisane su krive linearnih regresija koje su korišćene u modelu pregleda funkcionalnosti zajednice. Modelom je predviđeno novih 16 264 kombinacija sačinjenih od tri do sedam izolata. Izdvojeno je 11 konzorcijuma od kojih su četiri konzorcijuma sastavljena od dva izolata, a sedam konzorcijuma od po tri izolata (Tabela 27). Prvi kriterijum za izbor konzorcijuma zasnivao se na rang srednjih vrednosti funkcija: solubilizacije fosfata, produkcije IAA i siderofora. Kao najbolji, izdvojeni su konzorcijumi sastavljeni od dva izolata, kod kojih su eksperimentalno dobijene vrednosti ovih funkcija bile potvrđene i modelom pregleda funkcionalnosti zajednice. Drugi kriterijum odnosio se na rang maksimizacije minimuma, pri čemu je za svaku od tri funkcije uzimana maksimalna vrednost, uz uslov da preostale dve funkcije imaju vrednosti više od tog minimuma.

Maksimalne predviđene vrednosti inhibicije rasta *F. graminearum* zabeležene su za konzorcijume sačinjene od potencijalnih 5 i 6 izolata za procentom inhibicije od 79%. Izolati *B. velezensis* MP10-7 (63,64%), *B. mojavensis* MP10-28 (67,27%) i *B. halotolerans* MP9-8 (68,18%) bili su najbolji u inhibiciji *F. graminearum* kao pojedinačni izolati u *in vitro* testovima (Prilog 11). Međutim, izolat *B. velezensis* MP10-7 u paru sa drugim izolatima doprineo je većoj inhibiciji *F. graminearum* u opsegu od 71,52 – 75,46%.

Tabela 27. Odabrani konzorcijuma pšenice modelom pregleda funkcionalnosti zajednice.

Izolati	Tip	PO ₄ ³⁻	Sider.	IAA	<i>Fusarium graminearum</i>	Norm. PO ₄ ³⁻	Norm. Sider.	Norm. IAA	Norm. <i>Fusarium graminearum</i>	Srednja vrednost funkcija	Maksimizacija minimuma funkcije	Rang*	Rang**
		EI	EI	µg/mL	%								
MP6-36_MP6-37/1	izmereno	3,10	1,90	59,26	NT	2,98	4,36	1,21	NT	2,85	1,21	1	2
MP6-36_MP10-34	izmereno	2,68	1,43	120,78	NT	2,21	1,47	3,75	NT	2,48	1,47	2	1
MP6-36_MP10-28	izmereno	2,67	1,56	100,78	0,00	2,19	2,26	2,93	-2,16	1,30	-2,16	3	15667
MP6-36_MP9-8	izmereno	3,15	1,59	62,66	0,00	3,07	2,45	1,35	-2,16	1,18	-2,16	5	15668
MP6-36_MP10-1_MP10-34	predviđeno	2,63	1,35	97,72	21,06	2,10	0,97	2,80	-1,24	1,16	-1,24	6	10576
MP6-36_MP10-20_MP10-34	predviđeno	2,62	1,38	99,37	6,04	2,09	1,21	2,87	-1,90	1,07	-1,90	8	15064
MP6-36_MP10-1_MP10-28	predviđeno	2,41	1,44	86,54	17,38	1,71	1,53	2,34	-1,40	1,04	-1,40	9	12267
MP6-36_MP6-37/1_MP10-1	predviđeno	2,75	1,39	69,09	20,45	2,33	1,24	1,62	-1,27	0,98	-1,27	11	10933
MP6-33_MP6-36_MP10-34	predviđeno	2,35	1,29	113,36	6,24	1,59	0,62	3,45	-1,89	0,94	-1,89	14	15028
MP6-36_MP6-37/1_MP10-44	predviđeno	2,75	1,39	68,41	5,33	2,34	1,24	1,59	-1,93	0,81	-1,93	23	15158
MP6-33_MP6-36_MP6-37/1	predviđeno	2,41	1,42	78,22	5,23	1,71	1,42	1,99	-1,94	0,80	-1,94	26	15172

Sider. - Siderofore; PO₄³⁻- Solubilizacija fosfata; IAA- Indol-3-sirćetna kiselina; Norm.- Normalizovane vrednosti; NT-Nije testirano; Rang* - Rang srednje vrednosti funkcija; Rang** - Rang maksimizacije minimuma funkcija

4.9 Inokulacija semena šećerne repe i pšenice i uticaj na rast *in planta*

4.9.1 Efekat konzorcijuma dobijenih tradicionalnim pristupom na rast i prinos šećerne repe

Rezultati merenja visine i suve mase nadzemnih delova biljaka prikazani su u Tabeli 28. Mix2 i Mix3 su imali bolji efekat na rast i razvoj biljaka u poređenju sa Mix1. Na kraju perioda posmatranja, tretman Mix2 doveo je do najveće suve mase nadzemnih delova biljaka u odnosu na sve ostale tretmane i kontrolu. U odnosu na kontrolu, Mix2 je doveo do 36% veće suve mase nadzemnih delova u odnosu na kontrolu.

Tabela 28. Parametri rasta šećerne repe *in planta*.

	1. uzorkovanje (vremenska tačka A)		2. uzorkovanje (vremenska tačka B)		3. uzorkovanje (vremenska tačka C)	
	Visina izdanka (cm)	Suva masa izdanka (g)	Visina izdanka (cm)	Suva masa izdanka (g)	Visina izdanka (cm)	Suva masa izdanka (g)
Mix1	9,89 ± 0,63 ^a	0,12 ± 0,02 ^a	18,33 ± 1,04 ^a	1,00 ± 0,25 ^a	20,00 ± 1,07 ^a	2,50 ± 0,32 ^a
Mix2	11,61 ± 0,56 ^b	0,17 ± 0,01 ^{ab}	20,39 ± 0,20 ^b	1,63 ± 0,22 ^{ab}	22,22 ± 0,68 ^a	4,63 ± 0,15 ^b
Mix3	11,72 ± 0,06 ^b	0,18 ± 0,01 ^b	19,44 ± 0,34 ^{ab}	1,90 ± 0,06 ^b	19,33 ± 0,33 ^a	2,80 ± 0,40 ^a
Kontrola	11,39 ± 0,34 ^b	0,16 ± 0,02 ^{ab}	21,44 ± 0,47 ^b	1,77 ± 0,35 ^{ab}	22,44 ± 1,42 ^a	3,40 ± 0,21 ^a

Prikazane su srednje vrednosti visine izdanka i suve mase izdanka sa standardnom greškom. Vrednosti označene istim slovom unutar kolona, predstavljaju vrednosti bez statističke značajnosti ($p < 0,05$), prema Dankanovim naknadnim testom.

Ipak, jasna razlika u pogledu rasta u poređenju sa kontrolom se vidi u inokulaciji semena pojedinačnim Rif_r izolatima (Tabela 29). Najbolji uticaj na rast biljaka imali su *B. subtilis* KO3-18, *B. amyloliquefaciens* C3-19 i *P. polymyxa* C3-36, zatim *B. halotolerans* C3-16/2.1 i *B. velezensis* T2-23. *Bacillus subtilis* KO3-18 imao je sve analizirane karakteristike za PGP u *in vitro* testovima izuzev produkcije IAA. Takođe, izuzetna produkcija siderofora zabeležena je za KO3-18.

Tabela 29. Suva masa nadzemnih delova šećerne repe nakon inokulacije Rif_r izolatima.

Vrsta	Izolat	Suva masa nadzemnog dela (g)
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	0,500
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	0,608
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	0,604
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	0,741
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	0,453
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	0,440
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	0,321
<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	0,572
	Kontrola	0,187

4.9.2 Utvrđivanje stepena kolonizacije rizosfere i korenovog sistema

Deset dana nakon inokulacije pojedinačnih izolata otpornih na rifampicin, izvršena je njihova ponovna izolacija iz rizosfere i endosfere. Pod ovim uslovima izolati *B. amyloliquefaciens* C3-19, *B. subtilis* KO3-18, *M. theicola* KO3-44 nisu ponovo izolovani ni iz rizosfere ni iz korena šećerne repe (Tabela 30). Nasuprot tome, *B. halotolerans* C3-16/2.1, *P. polymyxa* C3-36, *P. oryzihabitans* KO3-19, *C. pusillum* ED2-6 i *B. velezensis* T2-23 uspešno su ponovo izolovani iz rizosfere. Među njima, *C. pusillum* ED2-6 se pokazao kao najuspešnji kolonizator rizosfere ($3,6 \times 10^4$ CFU/mL). Takođe, *C. pusillum* ED2-6 je bio jedini izolat uspešno izolovan iz korena šećerne

repe ($1,1 \times 10^2$ CFU/mL), što ukazuje na njegovu izrazitu sposobnost kolonizacije korena šećerne repe.

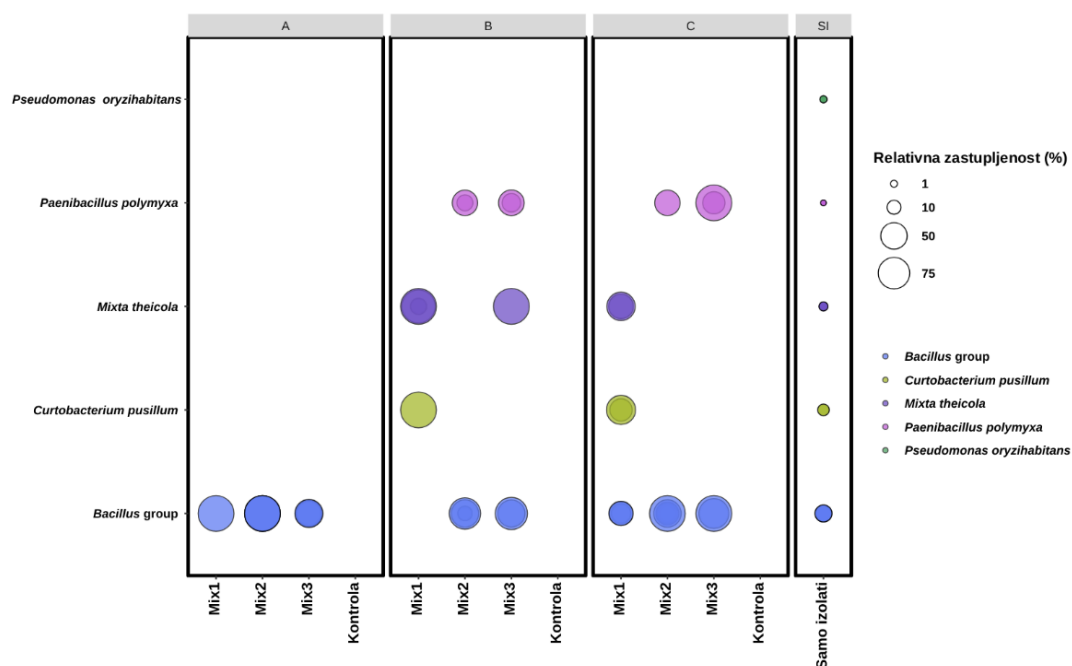
Tabela 30. Kolonizacija rizosfere i korena Rif^r izolatima, izražena kroz CFU/mL.

Izolat	Replika	Rizosfera	Koren
		CFU/mL	
C3-16/2.1	A	-	-
C3-16/2.1	B	-	-
C3-16/2.1	C	$3,0 \times 10^1$	-
C3-19	A	-	-
C3-19	B	-	-
C3-19	C	-	-
C3-36	A	$1,2 \times 10^3$	-
C3-36	B	$2,5 \times 10^3$	-
C3-36	C	$5,5 \times 10^1$	-
KO3-18	A	-	-
KO3-18	B	-	-
KO3-18	C	-	-
KO3-19	A	$2,4 \times 10^3$	-
KO3-19	B	$3,5 \times 10^3$	-
KO3-19	C	$6,0 \times 10^3$	-
KO3-44	A	-	-
KO3-44	B	-	-
KO3-44	C	-	-
ED2-6	A	$3,25 \times 10^4$	-
ED2-6	B	$6,9 \times 10^4$	$1,0 \times 10^2$
ED2-6	C	$7,0 \times 10^3$	$1,35 \times 10^2$
T2-23	A	$1,0 \times 10^3$	-
T2-23	B	$5,5 \times 10^1$	-
T2-23	C	$4,0 \times 10^3$	-

Metabarkoding analizom, potvrđena je mogućnost detekcije svih inokuliranih izolata. Ipak, izolati roda *Bacillus* nisu se mogli međusobno razlikovati na osnovu sekvenci gena za 16S rRNK, te su prikazani objedinjeno kao *Bacillus* grupa. Ova grupa je detektovana u svim tretmanima, osim u Mix1 u vremenskoj tački B. U Mix2, *Bacillus* grupa je pokazala privremeni pad u tački B, nakon čega je usledio izražen porast u tački C. Suprotno tome, u Mix3 *Bacillus* grupa je imala početnu zastupljenost od 48% u tački A, da bi postepeno opala na 10% do tačke C. Svi sojevi konzorcijuma Mix1 detektovani su u odgovarajućim uzorcima tretmana, osim *P. oryzihabitans* KO3-19, koji nije detektovan ni u jednoj vremenskoj tački. Vrsta *P. oryzihabitans* KO3-19, prisutna u Mix1, nije detektovana ni tokom jednog perioda uzorkovanja (Slika 35). *Curtobacterium pusillum* ED2-6, deo Mix1 konzorcijuma, prvi put je detektovan u tački B, dok je njegova relativna zastupljenost dodatno povećana u tački C. *Mixta theicola* KO3-44 detektovana je u konzorcijumu Mix1 u tačkama B i C, pri čemu je veća zastupljenost zabeležena u tački B. U konzorcijumu Mix3 prisustvo ovog izolata potvrđeno je samo u tački B, dok u tački C nije detektovan. *Paenibacillus polymyxa* C3-36 detektovan je u konzorcijumima Mix2 i Mix3 tokom druge i treće tačke uzorkovanja, pri čemu je veća zastupljenost zabeležena u B tački uzorkovanja.

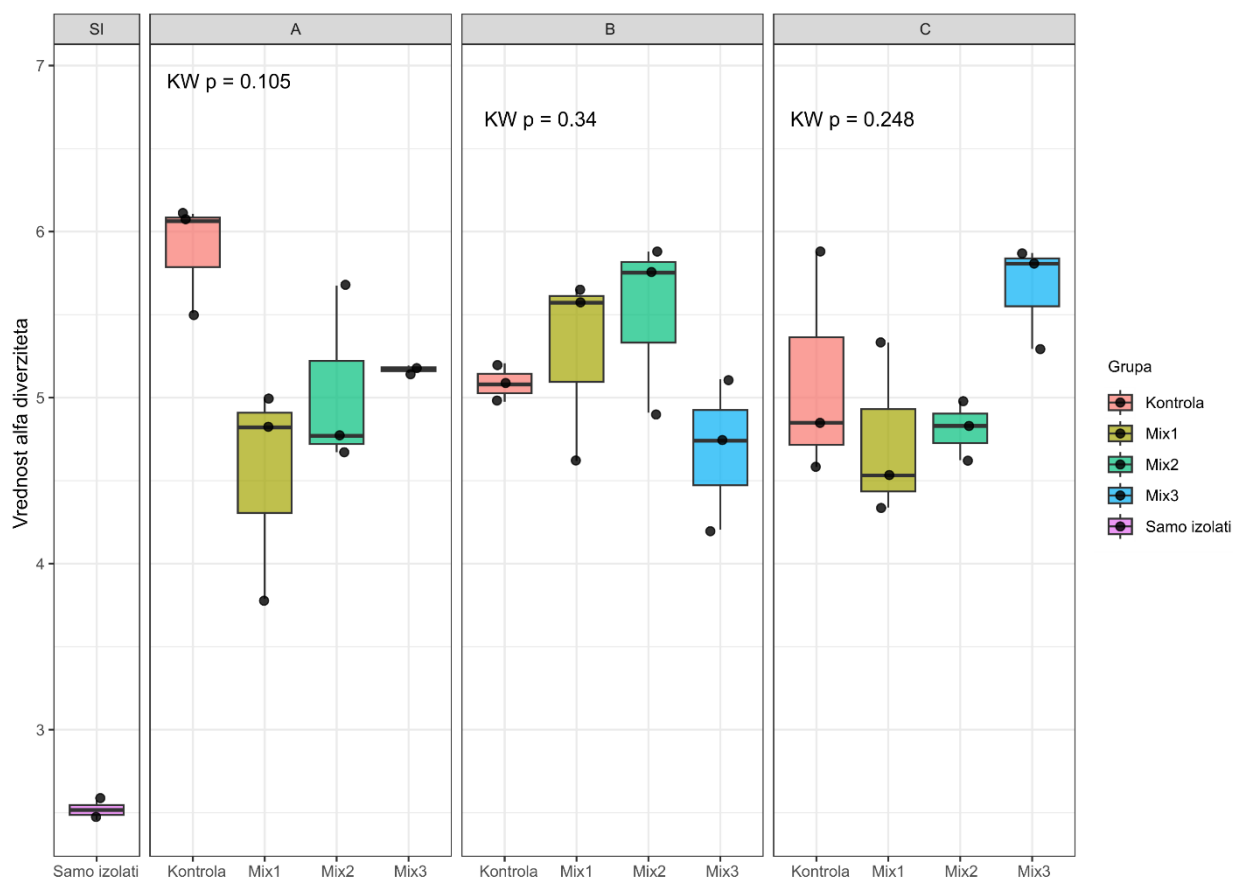
Poređenjem relativne učestalosti pojedinačnih izolata u smeši i tretmanima uočeno je nekoliko značajnih trendova. *Curtobacterium pusillum* ED2-6 bio je zastupljen sa 5,66% u smeši

pojedinačnih izolata, dok je u konzorcijumu Mix1 njegova zastupljenost bila znatno veća, dostižući 10,54% u tački B odnosno 20,10% u tački C. *Mixta theicola* KO3-44 činila je 7,55% smeše pojedinačnih izolata, ali je u Mix1 pokazala izrazito povećanu zastupljenost — 26,96% u tački B i 19,61% u tački C. U konzorcijumu Mix3 ovaj izolat detektovan je samo u tački B, sa relativnom zastupljenošću od 7,16%, što je nešto niže u odnosu na smešu pojedinačnih izolata. *Paenibacillus polymyxa* C3-36 imao je učestalost od 0,7% u smeši pojedinačnih izolata, dok je u Mix2 i Mix3 njegova zastupljenost porasla na više od 5%, osim u Mix2 u tački C, gde je zabeležen pad učestalosti.



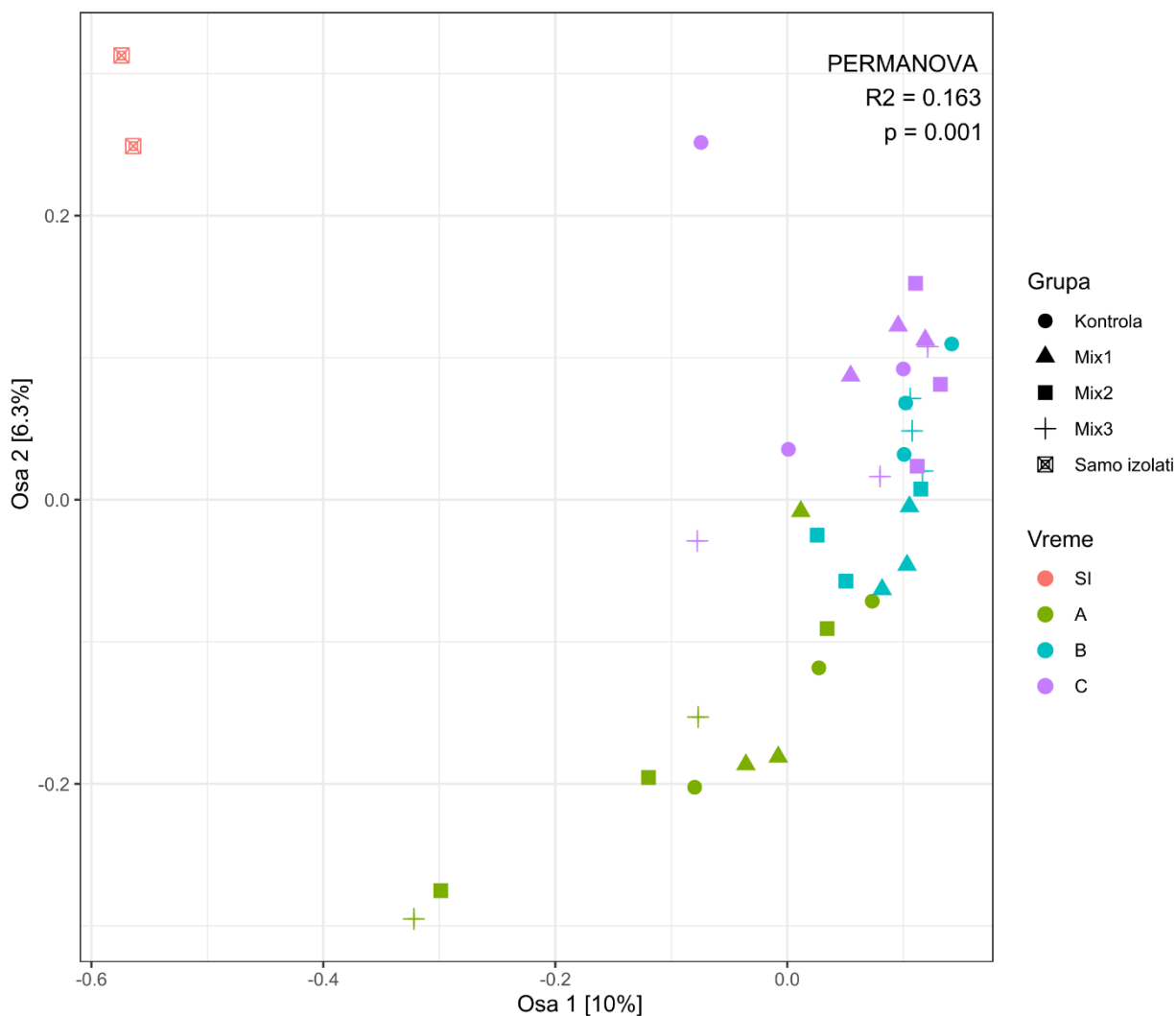
Slika 35. Relativna zastupljenost izolata u odnosu na tretmane i vreme uzorkovanja.

Analiza alfa diverziteta pokazala je da su postojale značajne razlike između uzoraka u tri vremenske tačke (A, B, C). Šenonov indeks diverziteta pokazao je da je kontrola imala najveći diverzitet u poređenju sa tri tretmana u prvoj vremenskoj tački A (Slika 36). Diverzitet korena i rizosfere u uzorcima tretiranim Mix3 konzorcijumom bio je veći nego u uzorcima tretiranim Mix1 i Mix2, koji su imali slične nivoe diverziteta. U drugoj vremenskoj tački došlo je do promene, pri čemu su Mix2 i Mix1 pokazali veći diverzitet u odnosu na Mix3 i kontrolu. Do kraja perioda posmatranja, najveći diverzitet zabeležen je u Mix3, zatim u kontroli, dok su Mix1 i Mix2 imali niže, ali međusobno slične vrednosti diverziteta. Generalno, diverzitet u kontroli se smanjivao tokom vremena, a Mix1 i Mix2 pratile su sličan obrazac: najniži diverzitet na početku, porast u drugoj fazi i pad na kraju perioda. Mix3 je bio najefikasniji u održavanju visokog i stabilnog mikrobiološkog diverziteta, što ukazuje na njegov potencijal da podrži robusnu mikrobiološku zajednicu tokom vremena.



Slika 36. Alfa diverzitet na nivou ASV u tretmanima kroz tri vremena uzorkovanja.

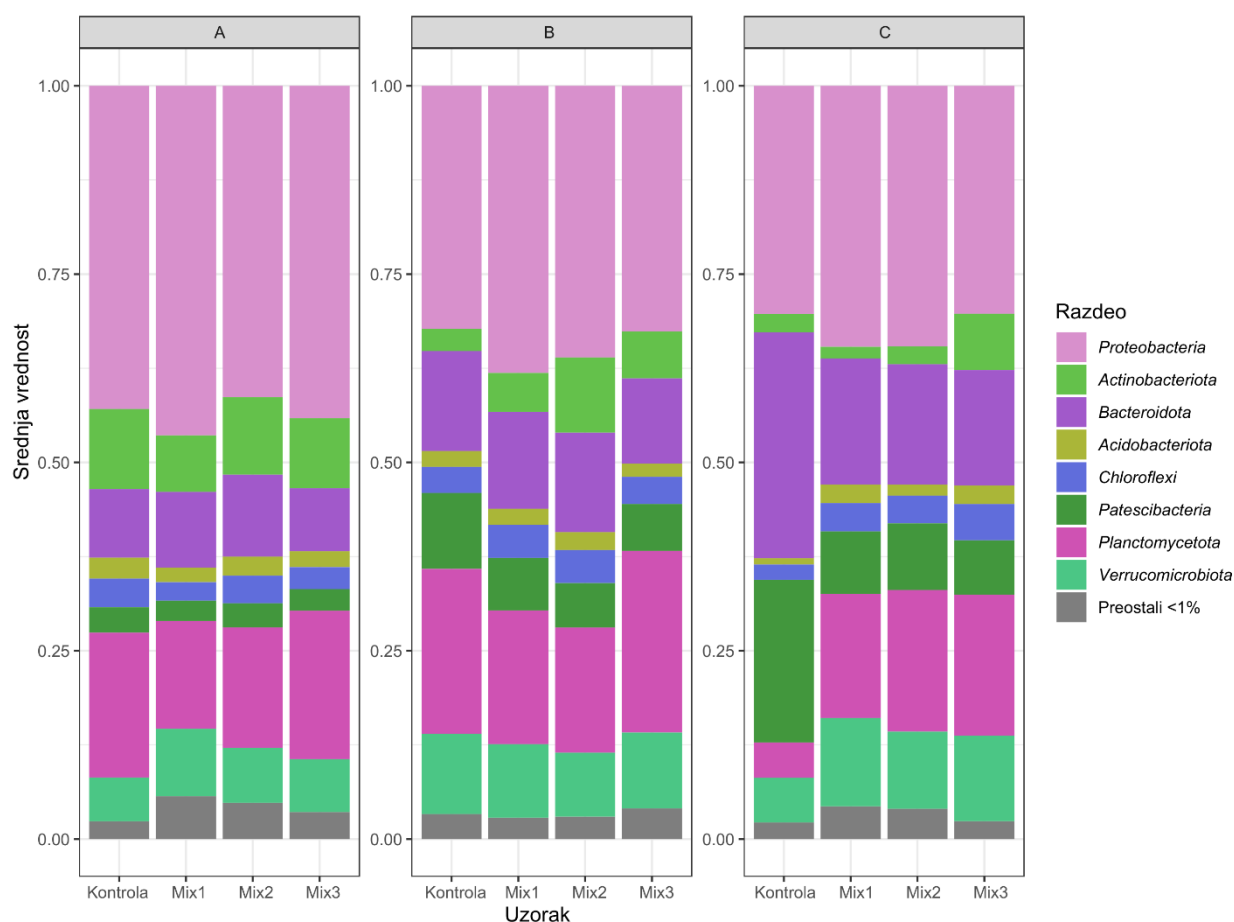
PCoA dijagram je pokazao da su uzorci iz prvog uzorkovanja (vremenska tačka A) bili odvojeni od uzoraka iz drugog (vremenska tačka B) i trećeg uzorkovanja (vremenska tačka C) duž prve ose, koja je objašnjavala 10% ukupne varijabilnosti. Prema beta diverzitetu, nije bilo vidljivog razdvajanja između uzoraka iz druge i treće vremenske tačke (Slika 37).



Slika 37. PCoA analiza beta diverziteta rizosfere i korena šećerne repe u odnosu na različita vremena uzorkovanja (A, B i C).

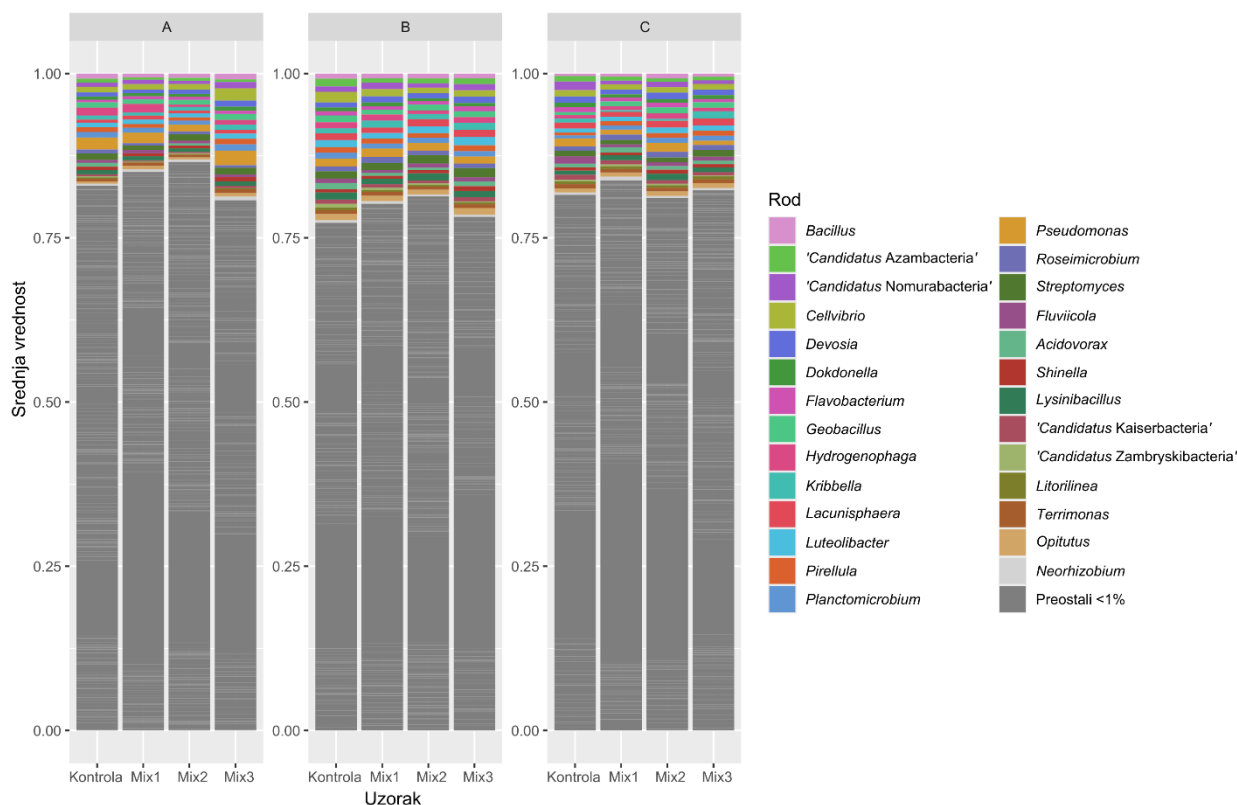
Razdeo *Proteobacteria* bio je dominantan u svim uzorcima, a sledile su ga *Planctomycetota* i *Bacteroidota* (Slika 38). Relativna zastupljenost (RA) *Proteobacteria* kretala se od 25,81% (kontrola, vremenska tačka A) do 15,24% (Mix3, tačka B) (Prilog 13). Razdeo *Proteobacteria* je pokazao isti obrazac dinamike u kontroli i kod biljaka tretiranih Mix3 tretmanom: najviša zastupljenost zabeležena je u prvom uzorkovanju, zatim je usledio pad u drugom, a potom ponovni porast u trećem uzorkovanju. Nasuprot tome, kod Mix1 i Mix2 tretmana uočen je obrnut trend, sa povećanom zastupljenošću u drugom uzorkovanju i smanjenjem u trećem. Razdeo *Planctomycetota* je pokazao opadajući trend nakon druge vremenske tačke u Mix1 i Mix2, osim u kontroli, gde je njegov udeo kontinuirano opadao od prve do poslednje tačke uzorkovanja. Vrednosti RA *Planctomycetota* kretale su se od 11,56% u tački A do 2,9% u tački C. *Bacteroidota* i *Patescibacteria* pokazali su ukupni rastući trend u svim uzorcima. *Bacteroidota* je imao RA vrednosti od 3,87% u Mix1 (vremenska tačka A) do 18,62% u kontroli (vremenska tačka C), dok je *Patescibacteria* imala RA vrednosti od 1,04% u Mix1 (vremenska tačka A) do 13,41% u kontroli (vremenska tačka C). Razdeo *Verrucomicrobiota* se smanjio posle vremenske tačke B u Mix1 i kontroli, dok je u Mix2 i Mix3 zabeležen kontinuirani porast tokom sve tri tačke uzorkovanja. *Firmicutes* se dosledno smanjivao tokom vremena, dok je kod razdela *Actinobacteriota* pokazana umerena fluktuacija sa ukupnim opadajućim trendom, osim u Mix3, gde je primećen porast RA kod oba razdela u trećoj vremenskoj tački. Predstavnici razdela *Firmicutes* su imali RA vrednosti od 13,06% u kontroli (vremenska tačka A) do 0,99% u kontroli (vremenska tačka C), dok je opseg RA *Actinobacteriota* bio od 6,39% u kontroli (vremenska tačka A) do 4,30% u Mix3 (tačka C). Razdeo

Chloroflexi detektovan je u nižim udelima u svim tretmanima, pri čemu su se RA vrednosti kretale od 0,95% u Mix1 (vremenska tačka A) do (2,89%) u Mix3 u vremenskoj tački C.



Slika 38. Relativna zastupljenost bakterijskih razdela u tretiranoj i netretiranoj rizosferi i korenu šećerne repe u odnosu na različita vremena uzorkovanja.

Na nivou roda, *Pseudomonas* je bio najzastupljeniji, sa RA vrednostima koje su se kretale od 1,71% (Mix3, vremenska tačka C) do 9,13% (Mix3, vremenska tačka A) (Slika 39). *Pirellula*-slične planktomicete i *Pirellula* bile su drugi najzastupljeniji taksoni, a sledili su ih *Streptomyces*, *Luteolibacter* i *Bacillus*. RA vrednosti za *Pirellula* kretale su se između 0,33% (kontrola, vremenska tačka C) i 2,43% (kontrola, vremenska tačka A), dok je *Streptomyces* bio najmanje detektovan u Mix1 (0,32%, vremenska tačka C) i najviše detektovan u Mix2 (2,40%, vremenska tačka B). Kod *Luteolibacter*, RA je varirala između 0,50% u kontroli (vremenska tačka C) i 1,45% u Mix1 (vremenska tačka B). *Bacillus* je imao RA vrednosti od 0,13% u kontroli (vremenska tačka C) do 2,63% u kontroli (vremenska tačka A).

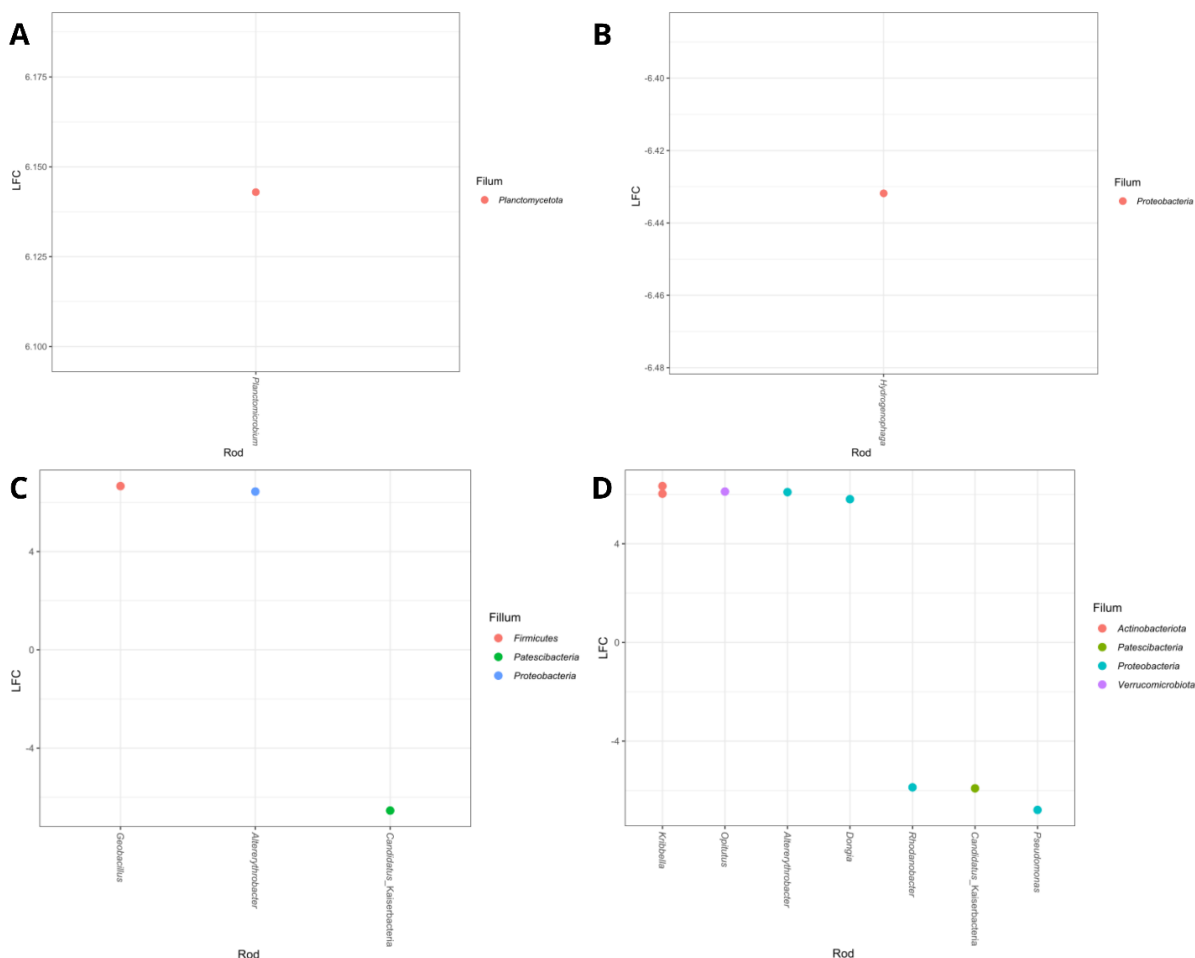


Slika 39. Relativna zastupljenost bakterijskih rodova u tretiranoj i netretiranoj rizosferi i korenu šećerne repe u odnosu na različita vremena uzorkovanja.

U svim tretmanima, kontrolna grupa je pokazala najveći broj rodova sa kontinuirano opadajućim trendom tokom sve tri vremenske tačke. Suprotno tome, Mix1 i Mix2 imali su najviše rodova koji su se oporavili u drugoj vremenskoj tački, ali ponovo opali u trećoj. Mix3 se, međutim, odlikovao najvećim brojem rodova koji su pokazali stabilan rast ili oporavak pri kraju perioda posmatranja. *Candidatus_Kaiserbacteria* pokazao je stabilan porast tokom vremena u svim grupama, dok su *Fluviicola* spp. i *Flavobacterium* spp. održavali ukupan rastući trend u gotovo svim grupama. Nasuprot tome, rodovi *Bacillus*, *Opiritus*, *Geobacillus*, *Planctomicrobium*, *Hydrogenospora*, *Hydrogenophaga*, *Kribbella* i *Streptomyces* uglavnom su pokazivali opadajuće trendove, sa izraženim oporavkom u Mix3. Dodatno, *Hydrogenophaga* i *Streptomyces* imali su isti obrazac među tretmanima: opadanje u kontroli, oporavak u vremenskoj tački B i ponovni pad u vremenskoj tački C za konzorcijume Mix1 i Mix2, dok su oba roda pokazala ukupni rastući trend u Mix3. S druge strane, *Pirellula*, *Cellvibrio* i *Lysinibacillus* ispoljili su konstantne opadajuće trendove u svim vremenskim tačkama, bez obzira na tretman. Taksoni *Lacunisphaera*, *Devosia*, *Pseudomonas*, *Candidatus_Nomurabacteria* i *Pirellula*-slične planktomicete pokazali su najizraženije razlike u dinamici. *Lacunisphaera* je imala kontinuirani porast u Mix1 i Mix3 konzorcijumima. *Devosia* je ispoljila rastući trend u kontroli i Mix3. RA *Pseudomonas* je opadala u vremenskoj tački B, sa porastom u vremenskoj tački C u kontroli, sa primećenim obrnutim trendom u konzorcijumu Mix1 i kontinuiranim padom RA tokom sve tri vremenske tačke u Mix2 i Mix3. *Candidatus_Nomurabacteria* je stabilno rastao u kontroli i Mix1, dostigao maksimum u drugoj vremenskoj tački u Mix2 i Mix3, a blago opao u trećoj. *Pirellula*-slične planktomicete imale su stabilan porast u Mix1 i Mix2, ali su opale u trećoj vremenskoj tački u kontroli i Mix3. Rod *Dongia* je pokazao opadajući trend u svim tretmanima osim u Mix2 i Mix3, gde je beležio stabilan porast kroz sve vremenske tačke, dok je *Altererythrobacter* generalno opadao, ali je beležio stabilan porast u Mix3 u vremenskoj tački C u kontroli.

Kroz tri analizirane vremenske tačke (A, B i C) uočene su izražene razlike između Mix3 i Mix1. U vremenskoj tački A zabeleženo je statistički značajno povećanje zastupljenosti roda *Filomicrobium* u uzorku Mix3 u poređenju sa Mix1. S druge strane, nije bilo značajnih razlika u

sastavu bakterija između Mix1 i Mix2, niti između Mix2 i Mix3 u vremenskoj tački A. U vremenskoj tački B utvrđen je izražen porast roda *Planctomicrobium* u Mix2 (Slika 40A) i *Hydrogenophaga* u Mix3 (Slika 40B) u odnosu na Mix1.



Slika 40. Diferencijalna relativna zastupljenost statistički najznačajnijih taksona u odnosu na različite konzorcijume Mix1, Mix2 i Mix3. **A)** Mix1 u odnosu na Mix2 (vreme uzorkovanja B), **B)** Mix1 u odnosu na Mix3 (vreme uzorkovanja B), **C)** Mix2 u odnosu na Mix3 (vreme uzorkovanja C), **D)** Mix1 u odnosu na Mix3 (vreme uzorkovanja C).

Suprotno tome, između Mix2 i Mix3 nisu zabeležene značajne razlike. U vremenskoj tački C uočen je značajan porast rodova *Geobacillus* i *Altererythrobacter* u Mix3 u poređenju sa Mix1 (Slika 40C). Takođe, zabeležena je povećana zastupljenost rodova *Kribella*, *Opitutus*, *Altererythrobacter* i *Dongia* u Mix3 u odnosu na Mix2 (Slika 40D). Međutim, u vremenskoj tački C nije bilo značajnijih razlika između Mix1 i Mix2.

Rezultati analize diferencijalne relativne zastupljenosti statistički najznačajnijih taksona ukazali su na značaj pojedinih taksona u mikrobiološkim zajednicama tretiranim različitim konzorcijumima u poređenju sa kontrolom. U Mix1 istakli su se pozitivno korelisani taksoni poput *Opitutus*, *Caulobacter*, *Bacillus*, *Thermoactinomyces*, *Lacunisphaera*, *Pirellula*, *Permianibacter*, *Dongia*, *Pseudolabrys*, *Ferrovibrio*, ‘*Candidatus*’ *Zambrescibacter*, *Fimbriimonadaceae*, *Methylotenera* i *Luteolibacter* (Prilog 14). Slično tome, u Mix2 bili su *Symbiobacterium*, *Herbinix*, *Bacillus*, *Luteolibacter*, *Devosia*, *Vtelligbacter*, *Filomicrobium*, *Thermoactinomyces*, *Steroidobacter*, *Novosphingobium*, *Methylophilus*, *Hydrogenedensaceae*, *Planctomicrobium*, *Opitutus*, *Pedomicrobium*, *Fluviicola* i *Neorhizobium* (Prilog 15). U Mix3 pozitivno korelisani taksoni u odnosu na kontrolu istakli su se *Opitutus*, *Planctomicrobium*, *Aneurinbacillus*, *Pedobacter*, *Mycobacterium*, *Emticicia*, *Lacunisphaera*, *Brevundimonas*, *Vicinamibacteraceae* i *Ferrovibrio*

(Prilog 16). Među svim ovim taksonima, *Opitutus* se izdvojio kao konzistentno ključni i potencijalno glavni rod u sva tri tretmana.

4.9.3 Efekat odabranih konzorcijuma i pojedinačnih izolata na rast i prinos pšenice *in planta*

Rezultati prikazani u Tabeli 31 ilustruju uticaj odabranih konzorcijuma i pojedinačnih izolata na rast i prinos pšenice *in planta*. Dužine korena pšenice kretale su se u rasponu od 6,04 cm (Tp15) do 11,00 cm (Tp8). Rezultati su pokazali da je 18 tretmana doprinelo statistički većoj dužini korena u odnosu na kontrolne biljke, izuzev tretmana Tp15 i Tp21. Najveća srednja vrednost dužine korena zabeležena je kod tretmana Tp8, koji je ujedno pokazao statistički najznačajniji efekat, rezultujući povećanjem dužine korena od 76% u odnosu na kontrolu. Sledeći statistički značajan efekat zabeležen je kod tretmana Tp14, koji je doveo do povećanja dužine korena od 64% (Prilog 17). Tretmani Tp1 i Tp2 pored uticaja na dužinu korena, doprineli su boljoj razvijenosti korena i čvrstini izdanka (Prilog 17). Izmerene visine nadzemnog dela pšenice bile su u opsegu 11,67 do 21,42 cm. Tretmani Tp13 i Tp14 statistički značajno su uticali na viši rast nadzemnog dela pšenice u poređenju sa kontrolom. Za preostale tretmane su zabeležene niže visine izdanka u odnosu na kontrolne biljke. Najniže vrednosti visine izdanka zabeležene su kod tretmana Tp15, Tp16 i Tp20 i kretale su se u rasponu 11,67 do 11,75 cm. U pogledu visine izdanka pojedinačni izolati i konzorcijumi sačinjeni od po dva izolata uticali su na viši rast u odnosu na konzorcijume sa po tri izolata. Tretman Tp15 imao je negativan uticaj i na dužinu korena i na visinu izdanka, sa najnižim vrednostima za oba parametra. Suva masa korena varirala je od 6,23 mg do 15,63 mg, pri čemu su statistički najznačajniji rezultati ostvareni u tretmanima Tp1 i Tp13 u odnosu na kontrolu. Najizraženiji efekat zabeležen je kod tretmana Tp14, uz povećanje od 59%. Tretmani Tp3, Tp4, Tp5, Tp6, Tp11 i Tp12 nisu pokazali statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolne biljke.

Tabela 31. Parametri rasta pšenice *in planta*.

Izolati/Konzorcijumi	Tretman	Dužina korena (cm)	Visina izdanka (cm)	Masa suvog korena (mg)	Masa suvog izdanka (mg)
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i> MP6-33	Tp1	8,75 ± 0,89 ^{abc}	15,67 ± 0,47 ^{bcd}	12,76 ± 1,22 ^{abc}	25,01 ± 1,19 ^{bcd}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36	Tp2	8,50 ± 0,69 ^{abc}	16,08 ± 0,88 ^{bcd}	11,43 ± 1,33 ^{abcd}	24,45 ± 2,75 ^{bcd}
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1	Tp3	8,33 ± 0,76 ^{abc}	15,38 ± 0,86 ^{bcd}	9,50 ± 1,60 ^{bcd}	21,58 ± 2,39 ^{bcd}
<i>Bacillus halotolerans</i> MP9-8	Tp4	8,00 ± 0,56 ^{abc}	15,75 ± 0,65 ^{bcd}	8,40 ± 0,78 ^{bcd}	19,33 ± 1,90 ^{bcd}
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1	Tp5	9,58 ± 0,94 ^{abc}	16,25 ± 0,69 ^{bcd}	9,09 ± 1,17 ^{bcd}	23,24 ± 2,02 ^{bcd}
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i> MP10-20	Tp6	9,58 ± 0,54 ^{abc}	16,08 ± 0,69 ^{bcd}	8,37 ± 0,76 ^{bcd}	22,34 ± 1,55 ^{bcd}
<i>Bacillus mojavenensis</i> MP10-28	Tp7	8,67 ± 0,54 ^{abc}	14,42 ± 0,79 ^{bcd}	6,23 ± 0,84 ^d	18,01 ± 1,50 ^{cde}
<i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp8	11,00 ± 0,67^a	16,83 ± 0,56 ^{abc}	7,77 ± 0,60 ^{cd}	22,60 ± 1,35 ^{bcd}
<i>Microbacterium maritypicum</i> MP10-44	Tp9	9,58 ± 0,36 ^{abc}	17,17 ± 0,61 ^{abc}	7,56 ± 0,86 ^{cd}	20,35 ± 1,25 ^{bcd}
<i>Curtobacterium plantarum</i> MP10-31	Tp10	9,17 ± 0,82 ^{abc}	17,83 ± 1,23 ^{abc}	7,21 ± 1,10 ^{cd}	22,42 ± 2,47 ^{bcd}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1	Tp11	8,50 ± 0,82 ^{abc}	16,92 ± 1,25 ^{abc}	8,28 ± 1,59 ^{bcd}	25,25 ± 2,43 ^{bcd}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp12	8,33 ± 0,77 ^{abc}	18,46 ± 0,89 ^{abc}	8,23 ± 0,66 ^{bcd}	27,17 ± 1,73 ^{abc}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus mojavenensis</i> MP10-28	Tp13	8,92 ± 0,85 ^{abc}	18,63 ± 1,16 ^{ab}	13,92 ± 1,37 ^{ab}	29,08 ± 2,55 ^{ab}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus halotolerans</i> MP9-8	Tp14	10,25 ± 0,75 ^{ab}	21,42 ± 1,13^a	15,63 ± 2,02^a	35,68 ± 2,86^a
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Paenibacillus glycanilyticus</i> MP10-20 _ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp15	6,04 ± 0,66 ^c	11,75 ± 10,00 ^d	7,14 ± 0,71 ^{cd}	15,28 ± 2,08 ^{de}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1 _ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp16	6,58 ± 0,63 ^{bc}	11,67 ± 0,99 ^d	6,33 ± 1,06 ^{cd}	14,70 ± 1,89 ^e
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i> MP6-33 _ <i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas lini</i> MP10-34	Tp17	8,67 ± 0,97 ^{abc}	14,17 ± 0,77 ^{bcd}	7,65 ± 1,08 ^{cd}	17,83 ± 1,70 ^{cde}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1 _ <i>Bacillus mojavenensis</i> MP10-28	Tp18	7,58 ± 0,91 ^{abc}	15,08 ± 0,76 ^{bcd}	7,77 ± 0,60 ^{cd}	22,61 ± 1,36 ^{bcd}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1 _ <i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i> MP10-1	Tp19	8,79 ± 0,55 ^{abc}	13,96 ± 1,14 ^{cd}	7,64 ± 0,69 ^{cd}	19,12 ± 1,89 ^{bcd}
<i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1 _ <i>Microbacterium maritypicum</i> MP10-44	Tp20	6,67 ± 0,66 ^{bc}	11,67 ± 1,02 ^d	6,88 ± 1,17 ^{cd}	14,66 ± 1,97 ^e
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i> MP6-33 _ <i>Serratia oryzae</i> MP6-36 _ <i>Pseudomonas trivialis/poae</i> MP6-37/1	Tp21	6,33 ± 0,78 ^c	14,75 ± 0,91 ^{bcd}	10,23 ± 1,15 ^{abcd}	21,13 ± 1,37 ^{bcd}
	Kontrola	6,25 ± 0,70 ^c	18,58 ± 0,92 ^{abc}	9,84 ± 1,78 ^{abcd}	27,21 ± 2,72 ^{abc}

Prikazane su srednje vrednosti sa standardnom greškom. Vrednosti označene istim slovom unutar kolona, predstavljaju vrednosti bez statističke značajnosti ($p < 0,05$), prema Tukey-ovom HSD testu.

Vrednosti mase suvog nadzemnog dela pšenice kretale su se u opsegu 14,66 do 35,68 mg. Suva masa izdanka bila je statistički značajno veća kod biljaka u tretmanu sa Tp14 u poređenju sa kontrolom, rezultirajući povećanjem mase od 31%. Za sve preostale tretmane zabeležena je manja suva masa izdanka u odnosu na kontrolu (27,20 cm) i kretale su se u rasponu od 14,65 do 27,16 cm.

4.10 Procena parametara rasta šećerne repe na oglednim poljima

Korišćenjem modela pregleda funkcionalnosti zajednice uspešno je formirano šest različitih konzorcijuma označenih kao tretmani T9 do T14. Tretman T15 sastojao se od izolata koji su činili konzorcijum Mix3, dobijen tradicionalnim pristupom dizajniranja konzorcijuma.

Uzorci šećerne repe uzeti su 48 dana nakon setve na oglednom polju Instituta PSS Tamiš. Nakon perioda sušenja biljaka, izmerena je masa suvog korena i nadzemnog dela biljaka (Tabela 32). Vrednosti mase suvog korena kretale su se od 0,96 do 5,55 g. Devet tretmana (T2, T6, T8, T9, T10, T11, T12, T14 i T15) rezultovalo je većom suvom masom korena u poređenju sa kontrolnim biljkama. Među njima, na oglednom polju Tamiš tretmani T12 i T15 ispoljili su najznačajnije statističke rezultate, ostvarivši povećanje suve mase korena od 133%, odnosno 119%. Vrednosti mase nadzemnog dela biljaka kretale su se od 2,34 do 5,60 g. Tretmani koji su doprineli većoj masi nadzemnog dela šećerne repe u odnosu na kontrolu bili su T5, T7, T9, T10, T12, T13, T14 i T15 ali bez statističke značajnosti u odnosu na kontrolne uzorke. Ipak, najveća masa nadzemnog dela zabeležena je u tretmanima T5, T7 i T12.

Na oglednom polju Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu uzorkovanje šećerne repe izvršeno je 52 dana nakon setve. Vrednosti mase suvog korena kretale su se od 12,04 do 17,18 g (Tabela 32). Jedino je tretman T4 doveo do povećane suve mase korena u odnosu na kontrolu, ali bez statističke značajnosti. Vrednosti suve mase nadzemnog dela biljaka kretale su se od 12,97 do 21,12 g. U poređenju sa kontrolom, tri tretmana (T4, T5 i T12) rezultirala su većom suvom masom nadzemnog dela šećerne repe, takođe bez statistički značajne razlike.

Na kraju vegetacione sezone, šećerna repa je uzorkovana na oba lokaliteta, a analizirani su prinosi, sadržaj šećera (digestijom), alfa-amino azot, kalijum i natrijum u korenu. Generalno, šećerna repa gajena na lokalitetu Tamiš imala je viši sadržaj alfa-amino azota i natrijuma, dok je repa sa oglednog polja u Novom Sadu sadržala više kalijuma (Tabela 33). Iako se prinosi korena razlikovao između dva lokaliteta, sadržaj šećera bio je približno isti, sa prosečnom vrednošću od 14,95% na lokalitetu Tamiš i 15,11% na oglednom polju u Novom Sadu. Na lokalitetu Tamiš, tretman T7 je unapredio većinu ispitivanih osobina u poređenju sa kontrolom i ostalim tretmanima, dovodeći do povećanja prinosa od čak 20% u odnosu na kontrolne biljke. Statistički značajno povećanje prinosa u odnosu na kontrolu zabeleženo je kod tretmana T2 i T5 na oglednom polju Novi Sad, pri čemu je u oba slučaja zabeleženo povećanje prinosa od približno 21%. Nasuprot tome, T9 je bio jedini tretman koji je doveo do istovremenog povećanja prinosa (4% u odnosu na kontrolu) i sadržaja šećera (0,5% u odnosu na kontrolu), iako ovi efekti nisu bili statistički značajni. Na oglednom polju Tamiš, dva tretmana (T7 i T8) imala su veći uticaj na sadržaj alfa-amino azota, dok su tretmani T4, T6, i T10, uvećali sadržaj šećera u poređenju sa kontrolom. Tretman T1 imao je najveći uticaj na povećanje sadržaja natrijuma (na oba lokaliteta) i kalijuma (na lokalitetu Tamiš). Dodatno je utvrđeno da biljke u tretmanu T1 (*B. halotolerans* C3-16/2.1) su imale najniži sadržaj šećera i alfa-amino azota na oba lokaliteta, iako je ovaj tretman imao pozitivan efekat na akumulaciju natrijuma i kalijuma.

Tabela 32. Prinos šećerne repe na oglednim poljima nakon prvog uzorkovanja.

Izolati/Konzorcijumi	Tretmani	Suva masa	Suva masa	Suva masa	Suva masa
		korena (g)	izdanka (g)	korena (g)	izdanka (g)
		ogledno polje Tamiš		ogledno polje Novi Sad	
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1	T1	0,97 ± 0,11 ^d	3,11 ± 0,21 ^a	15,18 ± 1,80 ^a	15,73 ± 2,69 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> C3-19	T2	3,28 ± 1,16^{abcd}	2,71 ± 0,85 ^a	14,01 ± 1,12 ^a	14,98 ± 2,41 ^a
<i>Paenibacillus polymyxa</i> C3-36	T3	0,96 ± 0,23 ^d	2,56 ± 0,13 ^a	13,59 ± 2,64 ^a	14,27 ± 3,80 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18	T4	1,29 ± 0,15 ^{cd}	3,09 ± 0,12 ^a	17,18 ± 1,93^a	20,24 ± 2,43^a
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i> KO3-19	T5	2,09 ± 0,26 ^{bcd}	5,02 ± 0,69^a	15,81 ± 1,53 ^a	21,12 ± 3,28^a
<i>Mixta theicola</i> KO3-44	T6	2,95 ± 0,61^{abcd}	2,34 ± 0,95 ^a	14,36 ± 1,19 ^a	15,54 ± 2,78 ^a
<i>Curtobacterium pusillum</i> ED2-6	T7	2,31 ± 0,41 ^{bcd}	5,18 ± 0,69^a	13,95 ± 2,74 ^a	16,72 ± 4,00 ^a
<i>Bacillus velezensis</i> T2-23	T8	2,95 ± 0,72^{abcd}	2,43 ± 1,07 ^a	13,08 ± 3,39 ^a	14,02 ± 4,43 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44	T9	4,50 ± 1,08^{ab}	4,01 ± 1,58^a	13,71 ± 0,42 ^a	17,49 ± 2,09 ^a
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44	T10	3,42 ± 0,13^{abcd}	3,48 ± 1,22^a	12,04 ± 2,99 ^a	14,63 ± 3,10 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> KO3-19	T11	3,53 ± 0,86^{abcd}	2,86 ± 0,89 ^a	13,08 ± 2,44 ^a	12,97 ± 1,33 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44 _ <i>Curtobacterium pusillum</i> ED2-6	T12	5,55 ± 1,11^a	5,60 ± 2,19^a	16,1 ± 3,00 ^a	20,23 ± 4,68^a
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> KO3-19 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44	T13	2,03 ± 1,05 ^{bcd}	4,09 ± 0,82^a	14,64 ± 3,25 ^a	16,61 ± 4,47 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Pseudomonas oryzihabitans</i> KO3-19 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44 _ <i>Curtobacterium pusillum</i> ED2-6	T14	3,81 ± 0,08^{abc}	3,13 ± 1,62 ^a	13,96 ± 0,88 ^a	18,78 ± 2,05 ^a
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1 _ <i>Paenibacillus polymyxa</i> C3-36 _ <i>Bacillus subtilis</i> KO3-18 _ <i>Mixta theicola</i> KO3-44 _ <i>Bacillus velezensis</i> T2-23	T15	5,22 ± 1,83^a	3,77 ± 0,98^a	12,43 ± 1,44 ^a	13,05 ± 1,95 ^a
	Kontrola	2,38 ± 0,74 ^{bcd}	3,12 ± 0,48 ^a	16,81 ± 2,04 ^a	19,00 ± 3,38 ^a

Prikazane su srednje vrednosti prinosa sa standardnom greškom. Vrednosti označene istim slovom unutar kolona, predstavljaju vrednosti bez statističke značajnosti ($p < 0,05$), prema Dankanovim naknadnim testom. Podebljane vrednosti predstavljaju veći prinos u odnosu na kontrolu.

Tretmani koji su povećali prinos u odnosu na kontrolu na kraju sezone u potpunosti su se razlikovali između dva lokaliteta. Iako bez statističke značajnosti, prinos šećerne repe bio je viši u pet tretmana (T7, T10, T11, T12 i T14) na kraju sezone u poređenju sa kontrolom na lokalitetu Tamiš. Najviši prinos ostvaren je tretmanom T7. Veći prinosi šećerne repe na kraju sezone u odnosu na kontrolu postignuti su tretmanima T1, T2, T4, T5 i T9 na lokalitetu Novi Sad, pri čemu je povećanje prinosa kod tretmana T2 i T5 bilo statistički značajno (Tabela 33).

Tabela 33. Prinos, sadržaj šećera, alfa-amino azot, kalijum i natrijum u korenu šećerne repe na kraju sezone.

Tretman	Sadržaj šećera (digestija) u korenu		Sadržaj alfa-amino azota		Sadržaj kalijuma (K)		Sadržaj natrijuma (Na)		Prinos	
	polarimetrijski		spektrofotometrijski		AAS		AAS			
	%		mmol/100g		mg/kg		mg/kg		t/ha	
	Tamiš	Novi Sad	Tamiš	Novi Sad	Tamiš	Novi Sad	Tamiš	Novi Sad	Tamiš	Novi Sad
T1	14,13	14,69	4,19	1,78	3,72	4,25	1,95	0,74	270,80 ± 66,67 ^a	54,91 ± 2,83 ^{ab}
T2	14,78	15,16	4,22	2,10	3,62	4,40	1,49	0,56	288,30 ± 132,84 ^a	63,35 ± 4,68^a
T3	14,62	14,79	4,17	2,36	3,07	4,32	1,42	0,54	238,10 ± 84,86 ^a	45,93 ± 7,13 ^{ab}
T4	15,65	14,76	4,10	2,28	3,45	4,53	1,12	0,47	281,00 ± 148,65 ^a	56,76 ± 6,22 ^{ab}
T5	15,08	15,03	4,22	2,20	3,44	4,44	1,54	0,45	275,00 ± 108,07 ^a	63,69 ± 4,33^a
T6	15,40	15,08	4,62	2,52	3,28	4,43	1,19	0,38	264,80 ± 95,90 ^a	42,12 ± 7,23 ^b
T7	14,98	15,05	4,95	2,55	3,23	4,23	1,66	0,48	377,65 ± 113,02^a	51,80 ± 3,68 ^{ab}
T8	14,96	15,36	4,81	2,21	2,97	4,69	1,22	0,42	276,18 ± 124,31 ^a	42,19 ± 6,21 ^b
T9	15,12	15,33	4,26	2,34	3,03	4,67	1,20	0,39	285,90 ± 90,31 ^a	54,40 ± 3,78 ^{ab}
T10	15,27	15,03	4,26	2,16	2,98	4,79	1,04	0,34	335,60 ± 91,10^a	47,33 ± 7,41 ^{ab}
T11	14,88	15,05	4,72	2,14	2,98	4,57	1,06	0,24	353,80 ± 85,28^a	42,12 ± 2,57 ^b
T12	14,72	15,44	4,40	2,12	2,86	4,49	1,31	0,39	332,50 ± 60,58^a	50,62 ± 2,11 ^{ab}
T13	14,96	15,36	4,58	2,09	3,06	4,64	1,10	0,32	213,05 ± 138,43 ^a	51,08 ± 5,94 ^{ab}
T14	14,72	15,04	4,17	2,34	3,05	4,65	1,93	0,35	355,60 ± 83,28^a	50,16 ± 8,90 ^{ab}
T15	14,86	15,31	3,96	2,23	3,21	4,64	1,04	0,33	303,40 ± 73,93 ^a	47,55 ± 2,27 ^{ab}
NK	15,13	15,25	4,76	2,39	3,05	4,69	0,94	0,29	313,70 ± 43,65 ^a	52,22 ± 4,13 ^{ab}

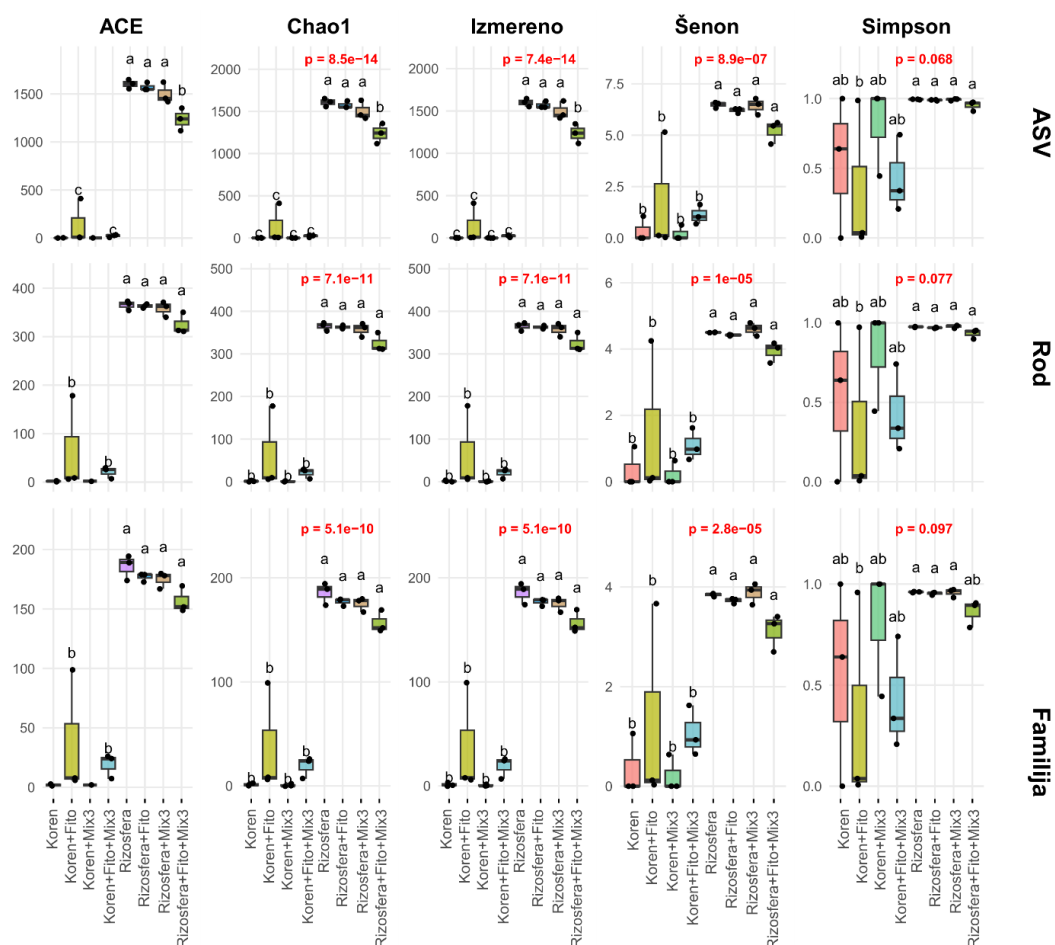
Prikazane su srednje vrednosti prinosa sa standardnom greškom. Vrednosti označene istim slovom unutar kolona, predstavljaju vrednosti bez statističke značajnosti ($p < 0,05$), prema Tukey-ovom naknadnom testu (ogledno polje Tamiš), odnosno Dankanovim naknadnim testom (ogledno polje Novi Sad). Podebljane vrednosti predstavljaju veći prinos u odnosu na kontrolu.

Takođe se može uočiti da su tretmani pojedinačnim antagonistima bili efikasniji na lokalitetu Novi Sad, dok su na lokalitetu Tamiš veći uticaj imali bakterijski konzorcijumi, pored tretmana T7. Tretman T15 (Mix3), koji je dao najbolje rezultate u *in planta* ogledima, nije imao isti efekat u uslovima polja na kraju sezone. Iako su biljke tretirane sa T15 imale viši sadržaj kalijuma (Tamiš), natrijuma (na oba lokaliteta) i šećera (Novi Sad) u odnosu na kontrolu, prinos se ovim tretmanom nije povećao u odnosu na kontrolne biljke. Svi tretmani koji su doveli do višeg sadržaja šećera u poređenju sa kontrolom rezultirali su nižim prinosisima u odnosu na kontrolu. Ova pojava zabeležena je na oba lokaliteta, sa dva izuzetka: T9 (Novi Sad) i T10 (Tamiš), kod kojih su zabeleženi viši sadržaj šećera i veći prinos u odnosu na kontrolu, dok su ostali parametri bili slični.

4.11 Analiza mikrobioma hibrida šećerne repe Koala u ogledu sa '*Ca. P. solani*'

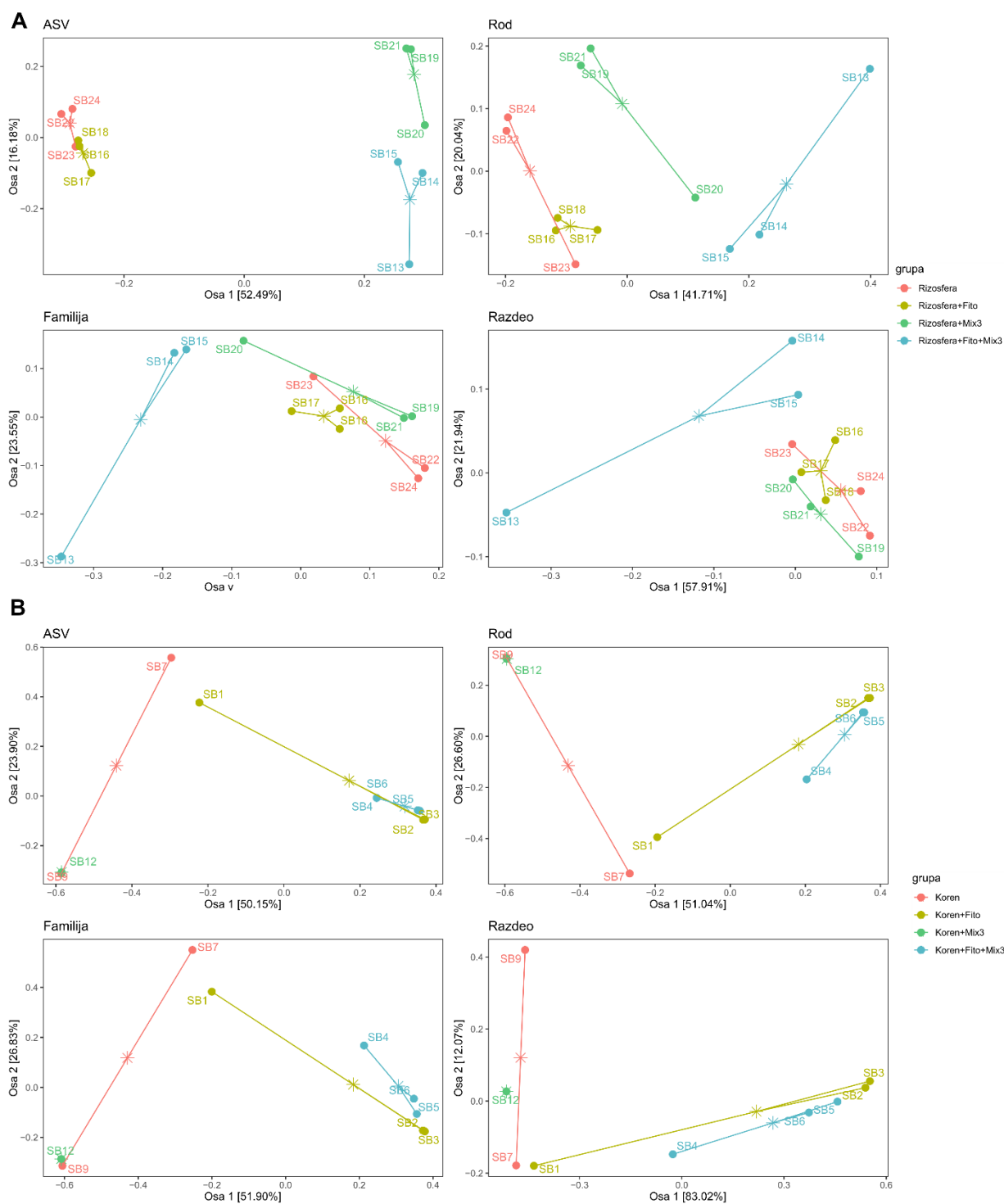
4.11.1 Analiza bakteriobioma hibrida šećerne repe Koala

Indeksi alfa diverziteta izračunati su za broj OBS, Chao1, ACE, Šenon i Simpson, na nivoima ASV, roda i familije. Prema svih pet metrika, uzorci rizosfere pokazali su statistički veće bogatstvo i diverzitet u poređenju sa uzorcima korena (Slika 41). Analiza na ASV nivou u rizosferi pokazala je da je najveće bogatstvo vrsta prisutno u grupi Rizosfera, potom u grupama Rizosfera+Fito i Rizosfera+Mix3, bez statistički značajnih razlika među njima. Nasuprot tome, grupa Rizosfera+Fito+Mix3 imala je statistički značajno niže bogatstvo vrsta u poređenju sa ostalim ispitivanim grupama. Na ASV nivou u korenu, najviše bogatstvo zabeleženo je u grupi Koren+Fito. Šenonov i Simpsonov indeks nisu pokazali statistički značajne razlike u diverzitetu između samih uzoraka rizosfere, kao i korena.



Slika 41. Alfa diverzitet bakterijskih zajednica u korenu i rizosferi šećerne repe pri različitim tretmanima (ogledi u polju).

PCoA analiza je pokazala da je tretman Rizosfera+Fito+Mix3 bio jasno odvojen od ostalih grupa na gotovo svim taksonomskim nivoima kada je analiziran duž ose 1 (Slika 42A).



Slika 42. Beta diverzitet bakterijskih zajednica u rizosferi (A) i korenu (B) šećerne repe u različitim uslovima tretmana u polju.

PERMANOVA analiza je pokazala značajne razlike u sastavu bakterijskih zajednica između svih grupa ($R^2 = 0,658$; $F = 3,571$; $P = 0,001$). Homogenost multivarijantne disperzije, nije bila statistički značajna ($P = 0,117$), što ukazuje na uporedivu varijabilnost unutar grupa i potvrđuje da uočene razlike odražavaju promene u sastavu zajednica. Na nivou razdela i familije grupe Rizofera, Rizofera+Fito i Rizofera+Mix3 bile su blisko raspoređene duž ose 1, što ukazuje na određeni stepen sličnosti u sastavu pri višim taksonomskim nivoima. Na ASV nivou, grupa Rizofera+Fito se duž prve ose dodatno grupisala sa netretiranim uzorcima rizosfere, pri čemu je ta osa objašnjavala 52,49% varijabilnosti, dok su se grupe Rizofera+Mix3 i Rizofera+Fito+Mix3

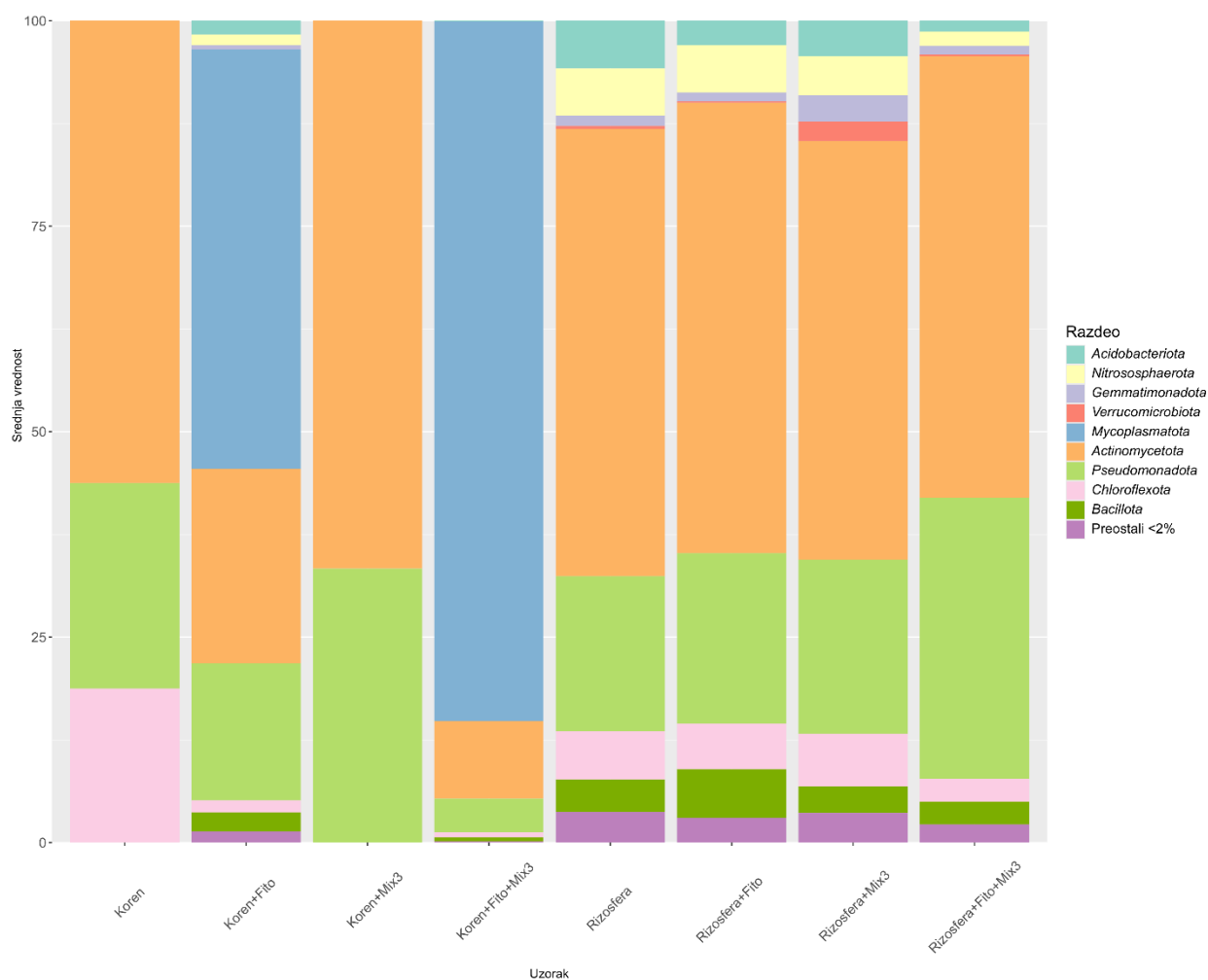
odvajale od ove dve grupe. Dodatno, razdvajanje između Rizosfera+Mix3 i Rizosfera+Fito+Mix3 bilo je izraženije na ASV nivou duž ose 2, koja je objašnjavala 16,18% varijabiliteta. PERMANOVA analiza je dodatno potvrdila značajne razlike između grupa rizosfere ($R^2 = 0,686$; $F = 5,827$; $P = 0,001$), bez značajnih razlika u disperziji ($P = 0,621$), što ukazuje na ujednačenu varijabilnost unutar grupa.

U uzorcima korena, jasno grupisanje Koren+Fito i Koren+Fito+Mix3 uočeno je na svim taksonomskim nivoima (Slika 42B), pri čemu su se razlikovali od netretiranih Koren i Koren+Mix3 uzoraka duž ose 1. Na ASV nivou, grupe Koren i Koren+Mix3 bile su blisko grupisane, sa gotovo potpunim preklapanjem duž ose 1, koja je objašnjavala 50,15% varijabiliteta, što ukazuje na visok stepen sličnosti bakterijskog sastava u tim uslovima. Slično tome, grupe Koren+Fito i Koren+Fito+Mix3 grupisale su se zajedno na višim taksonomskim nivoima, dok su na ASV nivou pokazale gotovo potpuno preklapanje duž ose 1. Za razliku od rizosfere, PERMANOVA analiza nije pokazala značajne razlike u sastavu bakterijskih zajednica između grupa korena ($R^2 = 0,418$; $F = 1,199$; $P = 0,233$).

Razdeo *Actinomycetota* bio je najrasprostranjeniji u svim uzorcima rizosfere, sa relativnom zastupljenošću u rasponu od 50,94% u Rizosfera+Mix3 do 54,84% u Rizosfera+Fito (Slika 43).

Sledeći najzastupljeniji razdeo u svim uzorcima rizosfere bio je *Pseudomonadota*, čije vrednosti su se kretale od 18,87% (Rizosfera) do 34,21% (Rizosfera+Fito+Mix3). *Acidobacteriota* i *Nitrososphaerota* takođe su bile relativno bogato zastupljene, ali samo u Rizosfera (5,80% i 5,73%), Rizosfera+Mix3 (4,33% i 4,74%) i Rizosfera+Fito (2,96% i 5,75%), dok su RA vrednosti opale u Rizosfera+Fito+Mix3 (1,35% i 1,69%). *Bacillota* je detektovan u svim uzorcima rizosfere, sa RA vrednostima od 2,77% (Rizosfera+Fito+Mix3) do 5,95% (Rizosfera+Fito). U celini, uzorak Rizosfera+Mix3 pokazao je najveći diverzitet razdela među svim tretmanima rizosfere. Razdeli *Nitrososphaerota*, *Bacillota*, *Chloroflexota*, *Gemmatimonadota*, *Verrucomicrobiota* i *Acidobacteriota* bili su visoko specifični za rizosferu u poređenju sa uzorcima korena. Nasuprot tome, razdeo *Mycoplasmata* bio je više specifičan za uzorke korena u tretmanima Koren+Fito+Mix3 (85,18%) i Koren+Fito (51,04%). Slično tome, *Actinomycetota* je bio drugi najzastupljeniji razdeo u uzorcima korena, u rasponu od 9,42% (Koren+Fito+Mix3) do 66,67% (Koren+Mix3), nakon čega sledi *Pseudomonadota* sa relativnom zastupljenošću od 4,08% i 33,34%.

Poređenje Rizosfera i Rizosfera+Mix3 uzoraka otkrilo je nekoliko zajedničkih taksona, uključujući rodove *Arthrobacter*, *Blastococcus*, 67-14, neidentifikovane rodove iz familija *Gaiellaceae* i *Vicinamibacteraceae*, kao i *Gaiella*, JG30-KF-CM45, *Nitrososphaera*, *Nocardioides* i *Solirubrobacter* (Prilog 18). Najzastupljeniji rodovi u tretmanu Rizosfera+Fito bili su *Arthrobacter* (12,3%), *Blastococcus* (6,6%), JG30-KF-CM45 (3,3%), *Rubrobacter* (3,1%), 67-14 (3,1%) i *Nitrososphaera* (3,0%). Rodovi *Skermanella* i *Microvirga* bili su visoko specifični za Rizosfera+Fito, pojavljujući se gotovo isključivo u tom tretmanu. Najčešće detektovani rodovi u Rizosfera+Fito+Mix3 bili su *Pseudarthrobacter* (11,9%), *Arthrobacter* (9,5%) i *Blastococcus* (4,6%), dok su *Kozakia* (10,4%), *Acetobacter* (3,1%) i *Streptomyces* (2,7%) bili specifičniji za ove uzorke. Tretman Mix3 doveo je do porasta RA roda *Pseudarthrobacter* u uzorcima rizosfere kao odgovor na infekciju fitoplazmom.

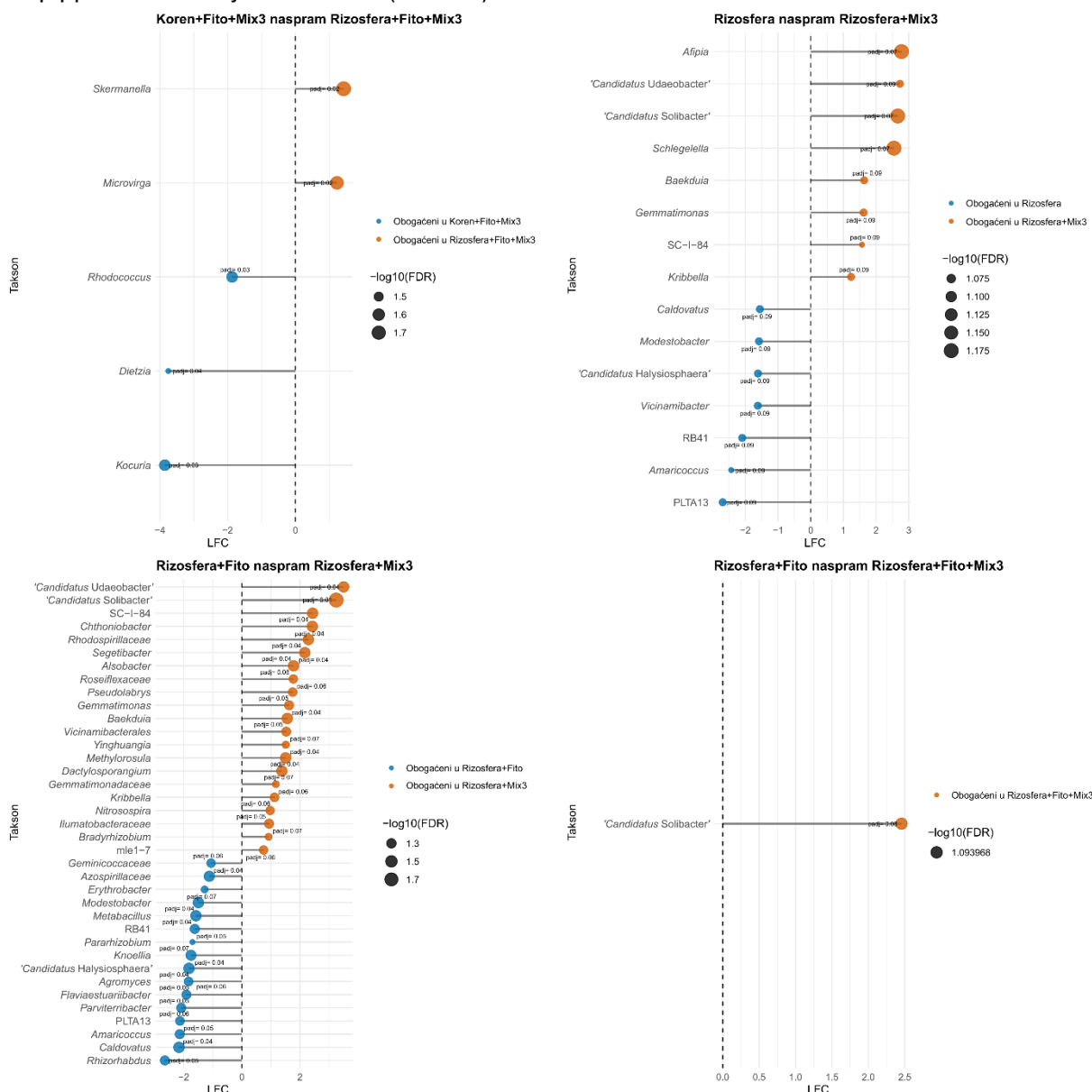


Slika 43. Relativna zastupljenost bakterijskih razdelu u rizosferi i korenu šećerne repe u različitim tretmanima u polju.

Takođe isti konzorcijum je povećao relativnu zastupljenost roda *Kozakia* u uzorcima rizosfere, dok je istovremeno podstakao obogaćivanje roda *Kocuria* u korenu. Najveća relativna zastupljenost u netretiranim uzorcima korena zabeležena je za *Arthrobacter* (37,5%), zatim *Phyllobacterium* (25,0%), *Cutibacterium* (18,8%) i JG30-KF-CM45 (18,8%). *Phyllobacterium* je pokazao visok stepen specifičnosti za grupu Koren, dok je *Cutibacterium* bio više povezan sa uzorcima korena nego sa rizosferom. Očekivano, ‘*Candidatus Phytoplasma*’ je bio visoko zastupljen u uzorcima Koren+Fito, dostižući relativnu zastupljenost od 51,0%, nakon čega slede *Arthrobacter* (5,3%), *Skermanella* (3,0%) i *Blastococcus* (2,4%). *Skermanella*, *Blastococcus*, neidentifikovani rodovi iz familije *Geminicoccaceae*, *Rubrobacter* i *Gaiella*, bili su specifično povezani sa biljkama šećerne repe inficiranim fitoplazmom. Međutim, njihova relativna zastupljenost je bila smanjena u prisustvu tretmana Mix3. Uzorci Koren+Fito+Mix3 bili su okarakterisani još većom relativnom zastupljenošću ‘*Candidatus Phytoplasma*’ (85,2%) i prisustvom roda *Kocuria* (2,5%), koji nije detektovan u ostalim tretmanima.

ANCOM-BC analiza je pokazala da je Mix3 imao najjači i najširi uticaj na bakterijske zajednice rizosfere, nezavisno od prisustva fitoplazma-pozitivnih vektora. Poređenje između Koren+Fito+Mix3 i Rizosfera+Fito+Mix3 pokazalo je da su samo *Skermanella* i *Microvirga* bili statistički značajno prisutni u tretmanu Rizosfera+Fito+Mix3 ($p_{\text{prilagodeno}} < 0,1$), dok su *Rhodococcus*, *Kocuria* i *Dietzia* bili specifični za Koren+Fito+Mix3 (Slika 44).

Lollipop plots of Differentially Abundant Genera (ANCOMBC)



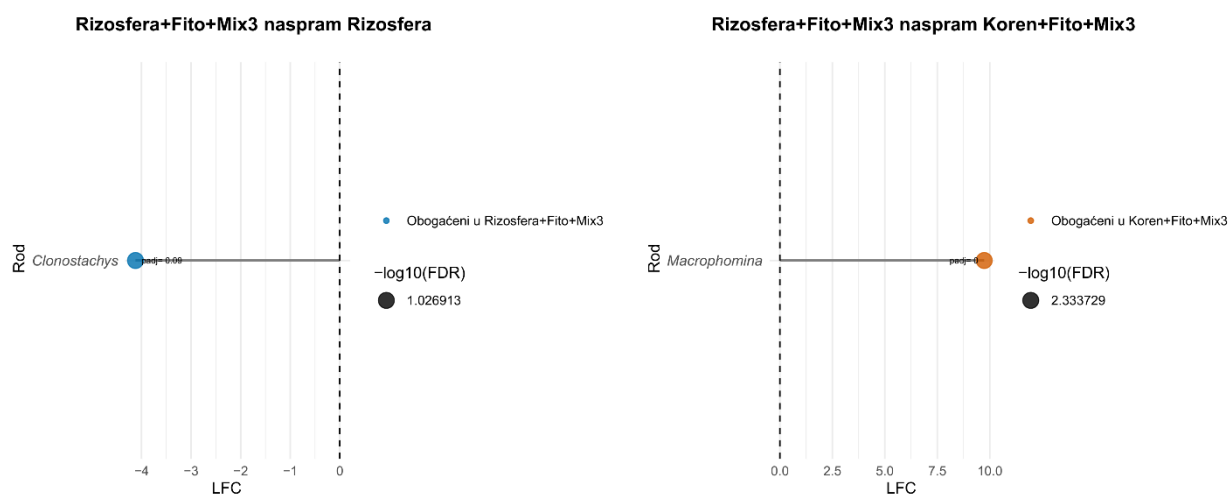
Slika 44. Diferencijalna zastupljenost bakterijskih taksona u rizosferi i korenu šećerne repe između tretmana.

Među svim poređenjima, razlika između Rizosfera+Mix3 i Rizosfera+Fito uzoraka pokazala je najveći broj diferencijalno zastupljenih taksona. Konkretno, pripadnici familija *Geminicoccaceae* i *Azospirillaceae*, kao i rodovi *Erythrobacter*, *Modestobacter*, *Metabacillus*, RB41, *Pararhizobium*, *Knoellia*, 'Candidatus Halysiosphaera', *Agromyces*, *Flaviaestuariatibacter*, *Parviterribacter*, PLTA13, *Amaricoccus*, *Caldovatus* i *Rhizorhabdus* bili su ključni u tretmanu Rizosfera+Fito, dok je 21 takson pokazao veću zastupljenost u tretmanu Rizosfera+Mix3. Samo jedan takson, 'Candidatus Solibacter', značajno se razlikovao između tretmana Rizosfera+Fito i Rizosfera+Fito+Mix3, pri čemu je pokazao povećanu zastupljenost u uslovima Mix3 tretmana. Analiza diferencijalne zastupljenosti između tretmana Rizosfera i Rizosfera+Mix3 identifikovala je *Caldovatus*, *Modestobacter*, 'Candidatus Halysiosphaera', *Vicinamibacter*, RB41, *Amaricoccus* i PLTA13 kao taksona pozitivno korelisane u Rizosfera grupi, dok je osam taksona pokazalo veću zastupljenost u tretmanu Rizosfera+Mix3.

4.11.2 Analiza mikrobioma hibrida šećerne repe Koala

Zbog ograničenja u kvalitetu podataka dobijenih sekvenciranjem ITS2 regiona za pojedine tretmane, u analizu su uključena samo četiri uzorka sa stabilnim i pouzdanim metagenomskim skupovima podataka. Od četiri razdela detektovana sa RA većom od 2%, *Ascomycota* je bio najdominantniji razdeo, sa najvišim vrednostima RA u uzorcima Koren+Fito+Mix3 (99,97%), zatim Rizosfera+Fito+Mix3 (84,57%), Rizosfera+Fito (81,43%) i Rizosfera (63,13%) (Prilog 19). Razdeo *Basidiomycota* bio je prisutan u svim rizosfernim uzorcima, ali je najveću zastupljenost imao u netretiranoj rizosferi (20,58%), dok je u ostalim tretmanima detektovan u rasponu od 2,33% (Rizosfera+Fito) do 3,30% (Rizosfera+Fito+Mix3). Klasa *Sordariomycetes* detektovana je samo u Rizosfera uzorcima (12,37%), dok je *Saccharomycotina* bila prisutna isključivo u Rizosfera+Fito (13,74%) i Rizosfera+Fito+Mix3 (10,87%). Rod *Gibellulopsis*, koji je bio izrazito zastupljen u netretiranoj rizosferi (36,61%), pokazao je opadajući trend u tretmanima sa fitoplazmom, 6,24% u grupi Rizosfera+Fito+Mix3 (Prilog 20). Rodovi *Vishniacozyma*, *Cladosporium*, *Rhodotorula* i *Symmetrospora* bili su specifični za netretiranu rizosferu i nisu detektovani u drugim uzorcima. Prisustvo '*Ca. P. solani*' značajno je uticalo na sastav rizosferne zajednice, obogaćujući mikrobiom određenim rodovima, dok su drugi bili redukovani u odnosu na netretiranu rizosferu. Taksoni *Pichia*, *Phaffomycetaceae* i *Talaromyces* bili su posebno povezani sa prisustvom fitoplazme. Svi rodovi prisutni u uzorcima Rizosfera+Fito detektovani su i u Rizosfera+Fito+Mix3 uzorcima, pri čemu su Rizosfera+Fito+Mix3 uzorci pokazali veću ukupnu raznovrsnost zahvaljujući prisustvu dodatnih rodova. Međutim, *Phaffomycetaceae*, *Alternaria* i *Pichia* imali su niže vrednosti RA u Rizosfera+Fito+Mix3 u poređenju sa Rizosfera+Fito. Nasuprot tome, rodovi *Wickerhamomyces*, *Penicillium*, *Saccharomycopsis*, *Clonostachys* i *Meyerozyma* detektovani su isključivo u Rizosfera+Fito+Mix3 uzorcima. Rod *Cercospora* bio je prisutan u netretiranoj rizosferi i u Rizosfera+Fito, ali nije detektovan u Rizosfera+Fito+Mix3. Rod *Macrophomina* detektovan je samo u Koren+Fito+Mix3 uzorcima, sa RA vrednošću od 99,60%, dok nije bio prisutan ni u jednom od analiziranih rizosfernih uzoraka.

ANCOM-BC analiza je sprovedena kako bi se identifikovali fungalni taksoni koji se značajno razlikuju između zajednica povezanih sa korenom i rizosferom pod uticajem fitoplazme i tretmana Mix3. *Clonostachys* je bio obogaćen u tretmanu Rizosfera+Fito+Mix3 u poređenju sa Rizosfera (Slika 45), dok je *Macrophomina* pokazala značajnu pozitivnu korelaciju sa Koren+Fito+Mix3 uzorcima, potvrđujući njeno dominantno prisustvo u korenu pod stresom izazvanim fitoplazmom.



Slika 45. Diferencijalna zastupljenost fungalnih taksona u rizosferi i korenu šećerne repe između tretmana.

Kao konačna potvrda uloge *M. phaseolina* kao sekundarnog uzročnika infekcije, patogen je izolovan iz zaraženih korena šećerne repe i molekularno potvrđen.

4.12 Sekvenciranje celokupnih genoma

Izolati odabranih bakterijskih vrsta, podvrgnuti su sekvenciranju celokupnog genoma. Dobijeni genomi su sastavljeni, anotirani i korišćeni za konstrukciju filogenetskih stabala radi potvrde njihove taksonomske pripadnosti. Nakon filtriranja po kvalitetu, za sklapanje genoma upotrebljeno je 17 581 780 sekvenci sa uparenim krajevima za *B. halotolerans* C3-16/2.1, 19 924 314 za *B. velezensis* C3-19, 19 322 660 za *B. subtilis* KO3-18, 16 809 980 za *P. oryzae* KO3-19 i 18 246 098 za *M. theicola* KO3-44.

4.12.1 *Bacillus halotolerans* C3-16/2.1

Sastavljanje *B. halotolerans* genoma rezultiralo je postojanjem 31 kontiga, N_{50} dužinom od 354 871 bp i ukupnom veličinom genoma od 4 025 840 bp, uz GC sadržaj od 43,82%. U poređenju sa filogenetski srodnim sojevima *B. halotolerans*, dobijeni genom je nešto kraći od najrodnijeg referentnog genoma soja KKD1, dok se GC sadržaj nalazi u okviru ranije opisanih vrednosti (Tabela 34). Ukupno 4 094 gena predviđena su pomoću alata DFAST, uključujući 3 996 kodirajućih DNK sekvenci, 12 rRNK gena, 85 tRNK gena i 1 tiRNK gen.

BUSCO analiza pokazala je visoku kompletnost genoma (99,1%; 115/116), pri čemu je 97,4% BUSCO gena bilo prisutno u vidu jedne kopije, dok je 1,7% detektovano u duplikatu. Fragmentisani geni nisu uočeni, dok je samo jedan gen (0,9%) nedostajao, što ukazuje na dobar kvalitet i pouzdanost sastavljanja genoma.

Tabela 34. Genomske karakteristike odabranih sojeva.

Izolat	Izvor i godina deponovanja u NCBI bazu	Broj kontiga	N ₅₀ (bp)	Veličina genoma (bp)	GC sadržaj (%)	Broj gena	Proteinske kodirajuće sekvence (CDS)	Referenca
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1								
<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1	Seme šećerne repe, hibrid Koala, Srbija, 2021	31	354 871	4 025 840	43.82	4 094	3 996	naša studija
<i>Bacillus halotolerans</i> KKD1 (GCF_013347105.1)	Rizosfera vrste <i>Androsace umbellata</i> u slano-alkalnom zemljištu u području Hoh Xil, Kina, 2020	1	4 248 134	4 248 134	43.5	4 361	4 133	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_013347105.1/
<i>Bacillus halotolerans</i> Tehuacan S4 (GCF_030167075.1)	Polupustinjsko područje sa suvim peskovitim zemljištem, približno 15 cm od stabla breskve (na dubini od oko 5 cm), Meksiko, 2023	1	4 091 749	4 091 749	44	4 201	3 978	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_030167075.1/
<i>Bacillus halotolerans</i> C1 (GCF_051166975.1)	Vinsko sirće, Iran, 2025	1	4 121 629	4 121 629	43.5	4 266	4 033	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_051166975.1/
<i>Bacillus velezensis</i> C3-19								
<i>Bacillus velezensis</i> C3-19	Seme šećerne repe, <i>Cercospora</i> -otporni hibrid, Srbija, 2021	23	1 009 193	3 982 135	46.36	3 905	3 807	naša studija
<i>Bacillus velezensis</i> AL7 (GCF_009663035.1)	Pamuk, Kina, 2019	1	3 894 709	3 894 709	46.5	3 808	3 640	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_009663035.1/
<i>Bacillus velezensis</i> G341 (GCF_001023595.1)	Četvorogodišnji koreni korejskog žen-šena, Južna Koreja, 2017	1	4 009 746	4 009 746	46.5	4 114	3 953	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_001023595.1/
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> JP3144 (GCF_019880425.1)	Zemljište vinograda sa groždem namenjenim za proizvodnju suvog grožđa, Kalifornija, 2021	1	4 155 652	4 155 652	46	4 111	3 936	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_019880425.1/
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> KO3-18								
<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>subtilis</i> KO3-18	Seme šećerne repe, hibrid Koala, Srbija, 2021	18	1 059 893	4 188 848	43.44	4 344	4 246	naša studija
<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>subtilis</i> OH131.1 (GCF_000706705.1)	Prašnik pšenice, Sjedinjene Američke države, 2014	1	4 039 155	4 039 155	44.00	4,061	3,885	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_000706705.1/
<i>Bacillus subtilis</i> pb2441 (GCF_023612315.1)	Creva larve <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i> , Južna Koreja, 2021	1	4 288 724	4 288 724	43.50	4 489	4 257	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_023612315.1/
<i>Bacillus subtilis</i> MB8 B1 (GCF_009662255.1)	zemlja ispod gljive <i>Coprinus</i> sp., Danska, 2019	1	4 221 278	4 221 278	43.50	4 396	4 200	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_009662255.1/
<i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19								
<i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19	Seme šećerne repe, hibrid Koala, Srbija, 2021	15	718 948	4 869 281	65.03	4 519	4 448	naša studija

<i>Pseudomonas oryzae</i> USDA-ARS-USMARC-56511 (GCF_001518815.1)	Nozdrve bika <i>Bos taurus</i> , Cjedinjene Američke Države, 2016	1	4 834 356	4 834 356	65.00	4 395	4 282	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_001518815.1/
<i>Pseudomonas benzopyrenica</i> MLY92 (GCF_036884265.1)	Zaraženi listovi <i>Nicotiana tabacum</i> L., Kina, 2024	1	5 060 308	5 060 308	65.50	4 774	4 656	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_036884265.1/
<i>Duffyella gerundensis</i> KO3-44								
<i>Duffyella gerundensis</i> KO3-44	Seme šećerne repe, hibrid Koala, Srbija, 2021	18	551 156	4 398 532	55.18	4 086	4 002	naša studija
<i>Duffyella gerundensis</i> E_g_EM595 (GCF_001517405.1)	ND, Nemačka, 2016	3	3 775 020	4 481 256	55.5	4 259	4 160	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_001517405.1/
<i>Duffyella gerundensis</i> A4 (GCF_017815635.1)	Unutrašnje tkivo lista drva badema <i>Prunus</i> <i>dulcis</i> , Kalifornija, 2021	2	3 858 052	4 434 434	55.5	4 074	3 932	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_017815635.1/

Sastavljeni genom *B. halotolerans* C3-16/2.1 klasifikovan je unutar roda *Bacillus* i vrste *B. halotolerans*, a koji je formirao homogen klaster sa sojem *B. halotolerans* KKD1 (Slika 46). ANI analiza je pokazala da naš soj deli najvišu ANI vrednost od 98,86% sa *B. halotolerans* KKD1 (GCF_013347105.1), dok je vrlo bliska vrednost od 98,65% i 98,28% zabeležena u poređenju sa sojevima Tehuacan_S4 (GCF_030167075.1) i C1 (GCF_051166975.1), pripadnicima iste vrste. Ova poređenja obuhvatila su više od 3 800 uparenih fragmenata od ukupno 4 180, što ukazuje na visok stepen genomske sličnosti između našeg soja C3-16/2.1 i analiziranih sojeva (Prilog 21).



Slika 46. Filogenetsko stablo soja *Bacillus halotolerans* C3-16/2.1 konstruisano na osnovu konzerviranih marker gena.

Za soj *B. halotolerans* C3-16/2.1 nije potvrđeno prisustvo gena za antimikrobnu rezistenciju, jer AMRFinderPlus nije detektovao gene za rezistenciju, dok su u CARD analizi detektovani geni *BSU-1*, *ykkD*, *ykkC*, *mphK*, *lmrB*, *vmlR*, *bmr*, *aadK*, *Bacillus_subtilis_mprF* i *rphB*, sa napomenom da je stepen sličnosti sekvenci za sve navedene gene ispod praga koji bi ukazivao na očuvanu funkciju rezistencije.

AntiSMASH analiza pokazala je da soj *B. halotolerans* C3-16/2.1 poseduje izuzetno bogat i raznolik repertoar sekundarnih metabolita (Prilog 22). Identifikovani su biosintetički genski klasteri sa visokim stepenom preklapanja sa poznatim referentnim klasterima za produkciju neribozomskih

sintetisanih cikličnih lipopeptida fengicina i surfaktina, kao i linearnog peptida bacilizina, siderofora bacilibaktina, poliketidnog bacilajena i bakteriocina subtilozina A.

4.12.2 *Bacillus velezensis* C3-19

De novo asembliranje genoma *B. velezensis* rezultiralo je sa 23 kontiga, N₅₀ dužinom od 1 009 193 bp i ukupnom veličinom genoma od 3 982 135 bp, uz GC sadržaj od 46,36%. U poređenju sa filogenetski srodnim sojevima *B. velezensis*, dobijeni genom je nešto duži od najrodnijeg referentnog genoma soja AL7_GCF, a nešto kraći od preostala dva najrodnija soja G341 i JP3144. GC sadržaj nalazi se u okviru ranije opisanih vrednosti (Tabela 34). Ukupno 3 905 gena predviđena su pomoću alata DFAST, uključujući 3 807 kodirajućih DNK sekvenci, 13 rRNK gena, 84 tRNK gena i 1 tiRNK gen.

BUSCO analiza pokazala je potpunu kompletnost genoma, pri čemu je identifikovano svih 116/116 (100%) očekivanih BUSCO gena, prisutnih u jednoj kopiji, bez fragmentisanih gena.

Filogenetska analiza zasnovana na konzerviranim marker genima potvrdila je da se ispitivani soj C3-19 jasno grupiše unutar klastera vrste *B. velezensis*, formirajući homogen klaster sa referentnim sojevima ove vrste i pokazujući jasnu filogenetsku distancu u odnosu na ostale blisko srodne vrste roda *Bacillus* (Slika 47).

Ovakav položaj na filogenetskom stablu u potpunosti je saglasan sa ANI analizom, koja je pokazala visoku vrednost od 98,8% između soja *B. velezensis* C3-19 i referentnog *B. velezensis* AL7_GCF (GCF_009663035.1), što potvrđuje identifikaciju soja KO3-19 na nivou vrste (Prilog 23).

Ranija identifikacija zasnovana isključivo na analizi gena za 16S rRNK, ukazala je na pripadnost vrsti *Bacillus amyloliquefaciens*. Međutim, filogenija na nivou celog genoma i ANI analiza jasno ukazuju da soj C3-19 ipak pripada vrsti *B. velezensis*.

Analiza genoma pomoću NCBI baze identifikovala je sekvence homologe genima *rphC*, *sata* i *tet(L)*, koji su u referentnim sojevima povezani sa rezistencijom na rifampicine, streptotricin i tetracikline. Iako su ove sekvence pokazale visoko preklapanje sa genima referentnih sojeva, procenti identiteta bili su ispod 90%, što ukazuje da se radi o udaljenim homologima, a ne o funkcionalno očuvanim genima rezistencije. U skladu sa tim, nijedan od ovih gena nije potvrđen kao funkcionalni determinant antimikrobne rezistencije ni pomoću CARD baze, ni primenom alata AMRFinderPlus.

Na osnovu rezultata antiSMASH analize, utvrđeno je da soj *B. velezensis* C3-19 poseduje biosintetički potencijal za produkciju cikličnih lipopeptida surfaktina i fengicina, poliketida makrolaktina i bacilajena, kao i siderofora bacilibaktina i potencijalno difucidina (Prilog 22).



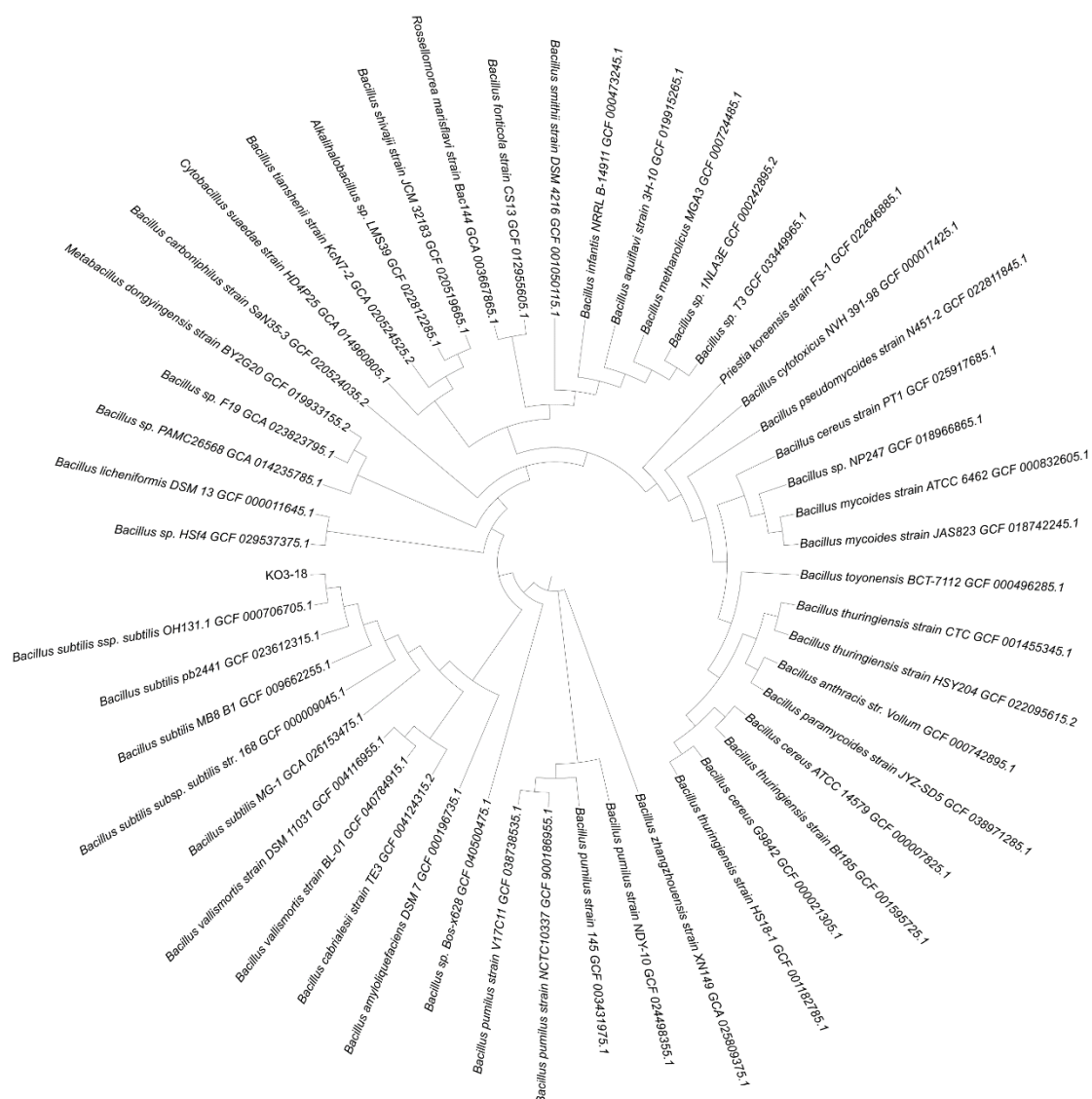
Slika 47. Filogenetsko stablo soja *Bacillus velezensis* C3-19 konstruisano na osnovu konzerviranih marker gena.

4.12.3 *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18

De novo asambliranje genoma *B. subtilis* subsp. *subtilis* rezultiralo je sa 18 kontiga, sa N₅₀ dužinom od 1 059 893 bp i ukupnom veličinom genoma od 4 188 848 bp, uz GC sadržaj od 43,44%. U poređenju sa filogenetski srodnim sojevima *B. subtilis*, dobijeni genom je nešto duži od najrodnijeg referentnog genoma soja OH131.1, dok je nešto kraći u odnosu sa druga dva srodnika pb2441 i MB8_B1. GC sadržaj nalazi se u rangu ranije opisanih vrednosti (Tabela 34). Ukupno 4 344 gena predviđena su pomoću alata DFAST, uključujući 4 246 kodirajućih DNK sekvenci, 13 rRNK gena, 84 tRNK gena i 1 tiRNK gen.

BUSCO analiza pokazala je visoku kompletnost genoma od 99,1% (115/116). Većina BUSCO gena bila je prisutna u jednoj kopiji (96,6%), uz mali broj duplikata (2,6%) i bez fragmentisanih gena, dok je jedan BUSCO gen bio nedostajući (0,9%).

Sastavljeni genom *B. subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18 klasifikovan je unutar roda *Bacillus* i formirao je homogen klaster sa sojem OH131.1 (Slika 48).



Slika 48. Filogenetsko stablo soja *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18 konstruisano na osnovu konzerviranih marker gena.

Analiza je pokazala da asemblirani genom deli najvišu ANI vrednost od 99,90% sa sojem *B. subtilis* subsp. *subtilis* OH 131.1 (GCF_000706705.1), dok su bliske vrednosti od 99,77% i 99,28% zabeležene u poređenju sa *B. subtilis* sojevima pb2441 (GCF_023612315.1) i MB8_B1 (GCF_009662255.1). Ova poređenja obuhvatila su više od 3 900 uparenih fragmenata od ukupno 4 180, što ukazuje na visok stepen genomske sličnosti između našeg i analiziranih sojeva (Prilog 24).

Analiza genoma pomoću NCBI AMRFinderPlus identifikovala je četiri gena povezana sa antimikrobnom rezistencijom (*aadK*, *tet(L)*, *vmlR* i *mphK*), sa visokim stepenom sličnosti sekvence ($\geq 97\%$). Dopunska analiza primenom CARD/RGI baze potvrdila je prisustvo nekoliko gena za rezistenciju sa visokim stepenom sličnosti sekvence ($\geq 98\%$), uključujući *aadK*, *blt*, *bmr*, *ykkC*, *ykkD*, *mprF*, *vmlR* i *tmrB*, koji su uglavnom povezani sa urođenim efluksnim i membranskim mehanizmima rezistencije.

AntiSMASH analiza pokazala je da ispitivani soj poseduje izuzetno bogat i raznolik repertoar sekundarnih metabolita (Prilog 22). Identifikovani su biosintetički genski klasteri sa visokim stepenom preklapanja sa poznatim referentnim klasterima za proizvodnju NRP-a fengicina

i bacilizina, ribozomski sintetisanih peptida i bakteriocina (subtilozin A, subtilomicin), siderofora abacilibaktina i metalofore pulheriminične kiseline. Pored klastera sa visokom sličnošću, detektovani su i biosintetički klasteri za produkciju surfaktina sa nižim stepenom sličnosti u odnosu na poznate referentne klasterne.

4.12.4 *Pseudomonas oryzae* KO3-19

De novo asembliranje genoma *P. oryzae* rezultiralo je sa 15 kontiga, sa N₅₀ dužinom od 718 948 bp i ukupnom veličinom genoma od 4 869 281 bp, uz GC sadržaj od 65,03%. U poređenju sa filogenetski srodnim sojevima *P. oryzae*, dobijeni genom je nešto duži od najrodnijeg referentnog genoma. GC sadržaj nalazi se u okviru ranije opisanih vrednosti (Tabela 34). Ukupno 4 519 gena predviđena su pomoću alata DFAST, uključujući 4 448 kodirajućih DNK sekvenci, 8 rRNK gena i 62 tRNK gena i 1 tiRNK gen.

BUSCO analiza pokazala je visoku kompletnost genoma, pri čemu je identifikovano 99,1% kompletnih BUSCO gena (115/116). Od toga je 98,3% detektovano u pojedinačnoj kopiji, dok je 0,9% bilo prisutno u duplikatu. Nisu zabeleženi fragmentirani BUSCO geni, a svega jedan gen (0,9%) je nedostajao.

Filogenetska analiza pokazala je da se soj *P. oryzae* KO3-19 svrstava u rod *Pseudomonas* i da se grupiše u homogeni klaster sa vrstom *P. oryzae*, jasno odvojen od ostalih pripadnika roda (Slika 49).

ANI analiza je pokazala visoku vrednost od 98,09% između soja *P. oryzae* KO3-19 i referentnog *P. oryzae* USDA-ARS-USMARC-56511 (GCF_001518815.1) (Prilog 25). Nasuprot tome, ANI vrednosti između soja *P. oryzae* KO3-19 i ostalih filogenetski bliskih vrsta roda *Pseudomonas* bile su ispod 92%.

Za soj *P. oryzae* KO3-19 nije potvrđeno prisustvo gena za antimikrobnu rezistenciju u AMRFinderPlus bazi, dok je analiza genoma primenom CARD baze identifikovala ograničen broj pogodaka koji pokazuju nizak stepen sličnosti sekvenci (ispod 90%) u odnosu na referentne gene za antimikrobnu rezistenciju. Detektovani homologni geni obuhvataju *mexF*, *arnA*, *rsmA* i *cpxR*, pri čemu su referentne sekvence ovih gena uglavnom opisane kod vrste *Pseudomonas aeruginosa*.

AntiSMASH analiza pokazala je prisustvo genskih klastera sa visokim stepenom preklapanja sa poznatim referentnim klasterima za proizvodnju neribozomalno sintetisanih metalofora frederiksenibaktina, kao i karotenoida (Prilog 22). Pored klastera sa visokom sličnošću, detektovan je i NPRS klaster za produkciju metalofora kupriahelina.

4.12.5 *Duffyella gerundensis* KO3-44

De novo asembliranje genoma *D. gerundensis* rezultiralo je sa 18 kontiga, sa N₅₀ dužinom od 551 156 bp i ukupnom veličinom genoma od 4 398 532 bp, uz GC sadržaj od 55,18%. U poređenju sa filogenetski srodnim sojevima *D. gerundensis*, dobijeni genom je nešto kraći od najrodnijih referentnih genoma. GC sadržaj nalazi se u okviru ranije opisanih vrednosti (Tabela 34). Ukupno 4 086 gena predviđena su pomoću alata DFAST, uključujući 4 002 kodirajućih DNK sekvenci, 11 rRNK gena, 72 tRNK gena i 1 tiRNK gen.

BUSCO analiza pokazala je potpunu kompletnost genoma, pri čemu je identifikovano svih 116/116 (100%) očekivanih BUSCO gena prisutnih u jednom primerku. Nisu detektovani fragmentirani BUSCO geni, što ukazuje na izuzetno visok kvalitet i pouzdanost genomske asemblije.

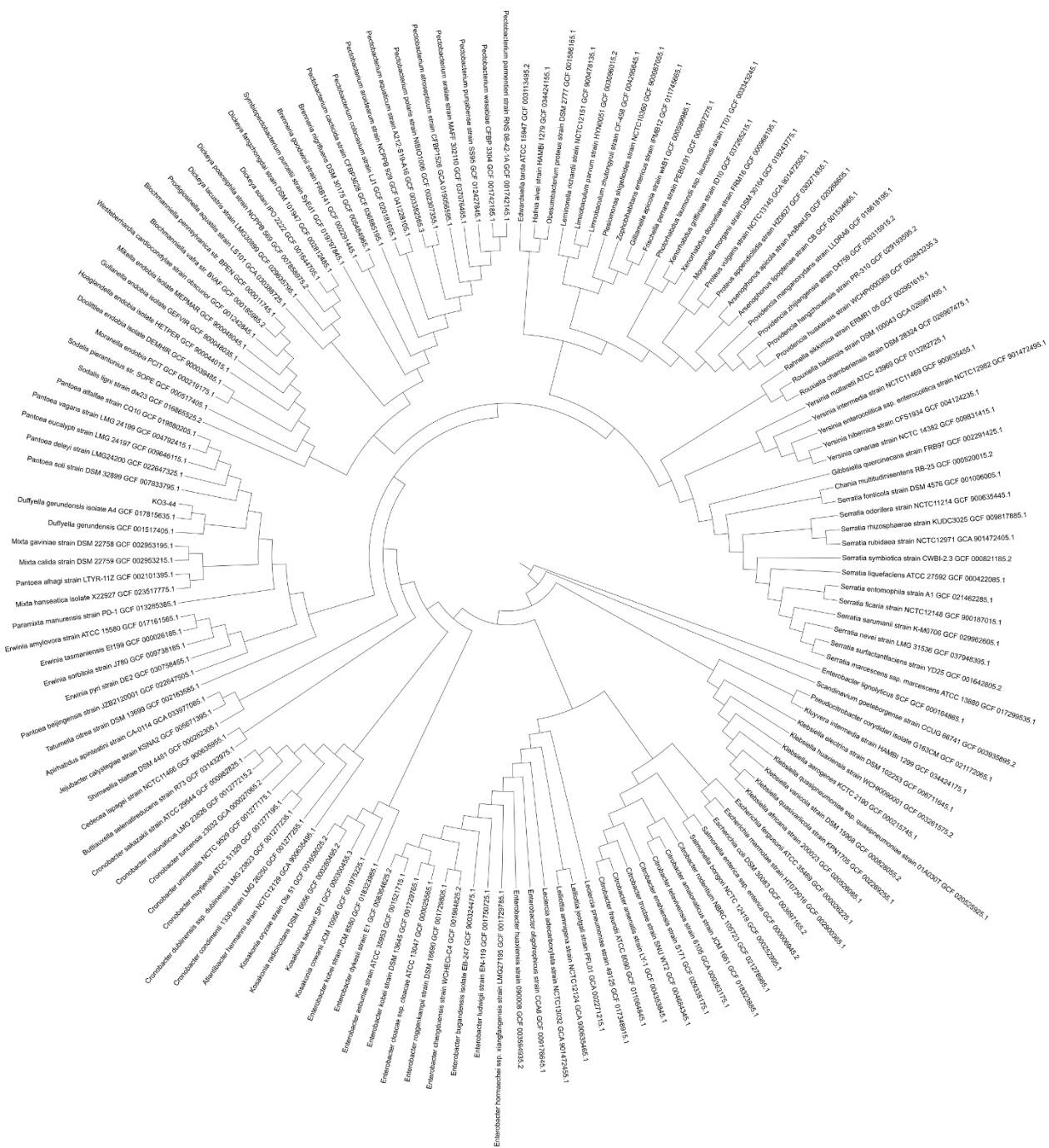
Filogenetsko stablo zasnovano na uporednoj genomskoj analizi pokazalo je da se soj KO3-44 pozicionira u okviru porodice *Enterobacteriaceae* i da se na filogenetskom stablu grupiše u homogenom klasteru sa vrstom *D. gerundensis* i sojevima E_g_EM595 i A4 (Slika 50). Ovakvo grupisanje jasno razdvaja soj KO3-44 od pripadnika srodnih rodova poput *Mixta*, *Pantoea*, *Erwinia*, *Serratia* i drugi, koji formiraju zasebne i filogenetski udaljenije klade.

Rezultati filogenetske analize dodatno su potvrđeni ANI analizom, pri čemu je soj KO3-44 pokazao veoma visoke ANI vrednosti od 98,86% (Prilog 26) u poređenju sa referentnim genomom *D. gerundensis* E_g_EM595 (GCF_001517405.1).

Ranija identifikacija ovog soja, zasnovana isključivo na analizi gena za 16S rRNK, ukazivala je na pripadnost vrsti *Mixta theicola*. Međutim, filogenija bazirana na sekvenci čitavog genoma i ANI analiza jasno ukazuju da soj KO3-44 ipak pripada vrsti *D. gerundensis*.

Za soj *D. gerundensis* KO3-44 nije potvrđeno prisustvo gena za antimikrobnu rezistenciju. AMRFinderPlus nije detektovao gene za rezistenciju, dok je u CARD analizi detektovan gen *CRP* uključen u sintezu negativnog regulatora rezistencija, ali sa niskim stepenom identifikacije (<85%).

Na osnovu rezultata antiSMASH analize, utvrđeno je da soj *D. gerundensis* KO3-44 poseduje biosintetički potencijal za produkciju pigmenta iz grupe aril-poliena, karotenoida, kao i više siderofora, uključujući trihrizobaktin, dihrizobaktin i hrizobaktin (Prilog 22). Pored toga, identifikovan je i genski klaster povezan sa biosintezom siderofora aerobaktina, ali sa nižim stepenom sličnosti u odnosu na referentne klastere.



Slika 50. Filogenetsko stablo soja *Duffeyella gerundensis* KO3-44 konstruisano na osnovu konzerviranih marker gena.

5. DISKUSIJA

5.1 NGS profilisanje bakterijskog diverziteta semena hibrida šećerne repe

U ovom istraživanju primenjen je metabarkoding pristup za karakterizaciju bakterijskog diverziteta u semenu hibrida šećerne repe. Važno je istaći da ovo istraživanje predstavlja pionirski pokušaj ispitivanja bakterijskog diverziteta ovih hibrida korišćenjem dve različite metodologije, sa izuzetkom rizosfere hibrida Eduarda, koja je prethodno bila ispitivana (Tomić et al., 2023). Analiza bogatstva bakterijskih zajednica i alfa diverziteta pokazala je da su mikrobiološke zajednice u semenu hibrida Eduarda (ED), Koala (KO) i Tibor (T) bile raznovrsnije u poređenju sa hibridima *Cercospora*-otporni (C) i Tajfun (TF). PCoA analiza je pokazala da se hibridi KO i TF značajnije razlikuju od ostalih hibrida na nivou roda i ASV.

Rezultati ove disertacije ukazali su da genotip biljke u velikoj meri utiče na sastav bakterijskih zajednica koje naseljavaju seme šećerne repe, što je prethodno pokazano i za sorte šećerne repe osetljive i tolerantne na *Rhizoctonia solani* (Wolfgang et al., 2023). Zastupljenost razdela *Actinobacteriota*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* i *Bacteroidetes* u semenu hibrida šećerne repe zabeležena je i kod sorte šećerne repe H7IM15, pri čemu je razdeo *Proteobacteria* bio dominantan (Li et al., 2020). Sličnost između sorte H7IM15 i hibrida TF ogledala se u visokoj zastupljenosti razdela *Firmicutes*. Za razliku od sorte H7IM15, razdela *Acidobacteriota* i *Chloroflexi* detektovani su i kod hibrida ED, KO i T.

Rodovi *Pantoea* i *Pseudomonas* detektovani su kod svih pet hibrida sa visokim RA vrednostima, sa izuzetkom niske zastupljenosti roda *Pseudomonas* kod hibrida TF. Ovi rodovi su ranije istaknuti kao endofiti semena različitih sorti šećerne repe (Li et al., 2020; Bertoldo et al., 2021). Rod *Pantoea* obuhvata različite vrste, uključujući biljne patogene, promotere rasta biljaka i sojeve koji se koriste u komercijalnoj biokontroli fitopatogena, zbog čega predstavlja primer grupe bakterija prilagođene specifičnim ekološkim nišama (Wolfgang et al., 2023).

Pored rodova *Pantoea* i *Pseudomonas*, svaki hibrid je karakterisala dominacija jednog ili dva dodatna roda, kao što su *Kosakonia* (C), *Acinetobacter* (T) i neidentifikovani rod iz familije *Chroococcidiopsaceae* (ED). Wolfgang et al. (2023) su pokazali da je zastupljenost roda *Kosakonia*, poznatog promotera rasta biljaka, povezana sa tolerantnošću semena šećerne repe na *R. solani*. Uočena korelacija u skladu je sa našim rezultatima dobijenim za *Cercospora*-otporni hibrid, što ukazuje da rod *Kosakonia* može imati značajnu ulogu u otpornosti šećerne repe na najznačajnije patogene gljive. Uloga vrsta roda *Acinetobacter* u promociji rasta biljaka, bioremedijaciji i biodegradaciji bila je i ranije istaknuta (Rojas-Tapias et al., 2014; Silambarasan and Vangnai, 2016; Abbas et al., 2020). Hibrid TF bio je dominantno kolonizovan vrstama rodova *Enterobacter*, *Kosakonia* i *Pantoea*. Svi ovi taksoni pripadaju redu *Enterobacteriales*, što ukazuje na taksonomsku sličnost dominantnih članova bakterijske zajednice. Kodominacija ovih rodova sugeriše postojanje potencijalnih ekoloških interakcija i specijalizacije niša unutar ovog bakterijskog reda. Poznato je da vrste roda *Enterobacter* poseduju brojne PGP osobine, uključujući sposobnost fiksacije azota, solubilizacije fosfora u zemljištu, produkcije antibiotika, siderofora, hitinaza, ACC-deaminaze i hidrolitičkih enzima, kao i sintezu ekstracelularnih polisaharida i povećanje poroznosti zemljišta (Jha et al., 2011). Ove osobine su prisutne kod različitih sojeva roda *Enterobacter* i doprinose rastu biljaka i kontroli zemljišnih patogena (Silva et al., 2023).

Pored gore opisanih rodova, koji su detektovani kod svih hibrida, takođe u svim uzorcima su identifikovani i rodovi *Glutamicibacter* i *Marinilactibacillus*, iako je njihova zastupljenost bila zavisna od tipa hibrida. Predstavnici ovih rodova povezani su sa PGP osobinama (Panwar et al., 2016; Borker et al., 2021; Huang et al., 2022; Wolfgang et al., 2023), pri čemu je većina vrsta klasifikovana kao psihrotolerantne ili halotolerantne bakterije (Panwar et al., 2016; Borker et al., 2021; Huang et al., 2022; Patel et al., 2022). U prethodnim istraživanjima, vrste roda *Weissella* su identifikovane kao endofiti semena šećerne repe (Li et al., 2020), a njihova visoka zastupljenost kod hibrida TF predstavljala je glavnu karakteristiku koja je ovaj hibrid razlikovala od ostalih

analiziranih hibrida. Rodovi specifični za pojedine hibride, kao što su *Apibacter* (ED), *Alloscardovia* (KO) i *Pleurocapsa* (T), prethodno su opisani kao članovi morskog, humanog i životinjskog mikrobioma (Killer et al., 2013; Mattarelli and Biavati, 2015; Kwong et al., 2018), dok njihova uloga u biljnom bakteriomu i potencijalne PGP sposobnosti još uvek nisu razjašnjene. Nasuprot tome, rodovi *Arthrobacter* (T) i *Klebsiella* (TF), specifični za tip hibrida, poznati su po svom potencijalu u promociji rasta biljaka (Xu et al., 2018; Sharma et al., 2021).

5.2 Kultivabilni diverzitet hibrida šećerne repe i sorti pšenice

Koncept filosimbioze (*eng. phylosymbiosis*) sugerira da filogenetski blisko srodne vrste imaju veću sličnost u sastavu svojih mikrobioma u poređenju sa filogenetski udaljenijim vrstama (Lim and Bordenstein, 2020). Ovo je u skladu sa istraživanjima koja pokazuju da genotip biljke, sorta, razvojni ciklus i drugi faktori snažno utiču na diverzitet i strukturu endofitnih mikrobioloških zajednica (Li et al., 2020). Proučavanje mikrobioma hibridnih biljaka može pružiti uvid u obrasce filosimbioze unutar familije biljaka. U ovoj disertaciji detaljno je ispitana raznovrsnost bakterija prisutna u rizosferi, korenu i semenu pet hibrida šećerne repe (Eduarda, Koala, Tibor, Tajfun, *Cercospora*-otporni hibrid), kao i u rizosferi i korenu tri sorte pšenice (Centurion, Genius, Modern). Analiza kultivabilnih bakterija pokazala je da su rizosfere svih hibrida šećerne repe delile zajedničku vrstu *Lysinibacillus macroides*, dok su dodatne sličnosti u sastavu vrsta uočene između pojedinačnih hibrida. Prisustvo sojeva roda *Lysinibacillus* u rizosferi ima višestruke koristi za biljku domaćina, uključujući sprečavanje usvajanja kadmijuma (Zhu et al., 2021), kao i smanjenje virulentnosti patogene vrste *Pectobacterium carotovorum* degradacijom AHL signalnih molekula i ometanja međucelijske komunikacije patogena (Stephens and Bentley, 2020). Rizosfera predstavlja region bogat mikrobiološkom raznovrsnošću, koja je u velikoj meri poreklom iz zemljišta, a na koju biljka utiče putem korenskih eksudata, sluzi i mrtvim ćelijama. S obzirom na to da je sastav korenskih eksudata uslovljen genomom biljke, što je pokazano i za rizosferni mikrobiom model sistema *Arabidopsis thaliana* (Gupta et al., 2021), različiti genotipovi ispitivanih hibrida mogu predstavljati ključni faktor koji određuje raznovrsnost bakterija, budući da je svaki hibrid imao najmanje jednu vrstu specifičnu za njegovu rizosferu.

U studiji Zachow et al. (2014) u kojoj su ispitivane razlike u rizosfernom mikrobiomu divlje šećerne repe (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) i savremenih sorti, utvrđeno je da je veći bakterijski diverzitet povezan sa divljim tipovima. Takođe, ista studija je pokazala da ove dve grupe dele sličnosti u vrstama rodova *Pseudomonas* i *Stenotrophomonas*. Rizosfera šećerne repe je ranije opisana kao stanište vrsta *Bacillus subtilis*, *B. halotolerans*, *B. amyloliquefaciens* i *B. safensis* (Farhaoui et al., 2022), pri čemu su prve tri vrste u ovoj disertaciji takođe povezane sa korenom i semenom ispitivanih hibrida. Prethodna istraživanja takođe su ukazala na visok diverzitet bakterijskih taksona unutar korena šećerne repe (Lilley et al., 1996; Okazaki et al., 2014). Pored roda *Bacillus*, kao endofiti korena ranije su identifikovane vrste iz rodova *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Curtobacterium*, *Rhodococcus* i *Staphylococcus* (Lilley et al., 1996), što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji.

U kontekstu pšenice, kultivabilna bakterijska zajednica pokazuje obrasce regrutovanja specifične za sortu, pri čemu je sorta Modern istakla najveći kultivabilni bakterijski diverzitet, posebno u korenu. Takvo razlikovanje među sortama u endosferi u poređenju sa rizosferom već je zabeleženo u literaturi i objašnjava se selektivnim uticajem korena i korenskih eksudata na mikrobiološke zajednice biljaka (Quiza et al., 2023). Takođe, uticaj genoma na formiranje rizosferne zajednice ogleđa se u tome da iz rizosfere svih sorti nije izolovana zajednička vrsta. Pokazano je da je rizosfera tvrde pšenice (*Triticum durum*) generalno okarakterisana predstavnicima klase *Bacilli*, pri čemu je rod *Bacillus* najdominantniji (Albdaiwi et al., 2019), što je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji. Prethodna istraživanja ukazala su na visok diverzitet bakterijskih taksona u korenu tvrde pšenice, među kojima se izdvajaju *B. halotolerans*, *B. mojavensis*, *P. agglomerans*, *V. paradoxus* (Saadaoui et al., 2024), rodovi *Paenibacillus* i *Rhizobium*, što je u skladu sa rezultatima dobijenim u ovoj disertaciji.

5.3 PGP aktivnosti izolata iz šećerne repe i pšenice

Biljke su kolonizovane raznovrsnim bakterijskim zajednicama čije međusobne interakcije određuju zdravlje i produktivnost biljaka. Utvrđivanje da li bakterije podstiču ili inhibiraju rast biljaka predstavlja ključni korak u razvoju inokulanata zasnovanih na PGPB. Štaviše, autohtoni bakterijski sojevi su pogodniji kao promoteri rasta u poređenju sa sojevima unetim iz drugih područja, jer interakcija biljka–mikroorganizam zavisi od brojnih ekoloških faktora, a autohtoni PGPB su značajno prilagođeni svom staništu (Natsagdorj, 2019). Danas se, radi zadovoljenja nutritivnih potreba biljaka i njihove zaštite od fitopatogena, u sve većoj meri koriste velike količine hemijskih đubriva i pesticida (Dimkić et al., 2022). Međutim, dobro je poznato da njihova prekomerna upotreba dovodi do zagađenja zemljišta i podzemnih voda, kao i do sve izraženijeg problema razvoja rezistencije patogena na pesticide. Kako se upotreba hemikalija u poljoprivredi ne može u potpunosti eliminisati, sve veći značaj se pridaje primeni korisnih bakterija kao načinu za ublažavanje ovih problema (Kumar, 2012).

U cilju ispitivanja PGP sposobnosti kultivabilne kolekcije bakterija izolovanih iz pet hibrida šećerne repe, sproveden je niz testova. Sva 32 odabrana bakterijska izolata iz šećerne repe pokazala su sposobnost fiksacije azota u različitom stepenu, što je sa aplikativnog aspekta od velikog značaja, jer je nedostatak dostupnog azota u zemljištu jedan od glavnih faktora koji ograničavaju rast i razvoj biljaka. Većina rastvorljivog neorganskog fosfora primenjenog putem mineralnih đubriva brzo se imobilizuje u zemljištu, čineći ga nedostupnim biljkama i samim tim neefikasnim (Glick, 2012). Zbog toga je jedna od ključnih osobina PGPB sposobnost solubilizacije i mineralizacije fosfora, koju poseduje većina izolata iz šećerne repe ispitanih u ovoj disertaciji.

Sojevi *Providencia vermicola* ED3-10 i *Duffyella gerundensis* KO3-44 (ranije u disertaciji opisan kao vrsta *Mixta theicola* prema analizi gena za 16S rRNK) pokazali su izuzetno visoku produkciju IAA, što je u skladu sa prethodno dokumentovanim IAA-produkujućim sojem *P. vermicola* AAU PR1-A (Panpatte, 2020), dok je za *D. gerundensis*, prema našim saznanjima, ovo prva potvrda takve aktivnosti. IAA sintetisana od strane bakterija povećava površinu i dužinu korena, omogućavajući biljci bolji pristup hranljivim materijama iz zemljišta. Za *M. theicola* je ranije pokazano da značajno poboljšava izduživanje korena kod *Zea mays*, što je povezano sa produkcijom IAA, pored brojnih drugih stimulativnih efekata na domaćina (Hagaggi and Mohamed, 2020). Dodatno, bakterijska IAA dovodi do omekšavanja ćelijskih zidova biljaka, čime se povećava lučenje korenskih eksudata koji obezbeđuju dodatne izvore hranljivih materija za rast bakterija u rizosferi (Glick, 2012). *Providencia vermicola* ED3-10 i *D. gerundensis* KO3-44 pokazali su se kao veoma perspektivni kandidati za stimulaciju rasta biljaka, budući da dele i druge PGP osobine, uključujući fiksaciju azota, solubilizaciju fosfata, produkciju siderofora, pokretljivost i toleranciju na salinitet do 8% NaCl. Međutim, produkcija hidrolitičkih enzima nije zabeležena kod ova dva izolata. Iako u literaturi još uvek ne postoje direktno opisane PGP osobine vrste *D. gerundensis*, to se može delimično objasniti relativno skorom reklasifikacijom vrste *Erwinia gerundensis* u novi rod *Duffyella* kao *D. gerundensis* comb. nov. (Soutar and Stavrinides, 2022). Ipak, prethodna istraživanja na izolatu *E. gerundensis* A4 pokazala su njegovu sposobnost solubilizacije fosfata i produkcije siderofora, kao i efikasnu kolonizaciju korena, listova i cvetova biljke *A. thaliana*. Takođe, inokulacija semena vrste *A. thaliana* ovim izolatom dovela je do povećanja sveže biomase biljaka, kao i povećane dužine i razvijenosti korenovog sistema (Saldierna Guzmán et al., 2021), što dodatno ukazuje na njegov potencijal kao PGPB. Za *P. vermicola* je ranije opisan širok spektar osobina koje promovisu rast biljaka, uključujući produkciju siderofora, solubilizaciju fosfata i fiksaciju azota (Panpatte, 2020), što je potvrđeno i u našem slučaju. Takođe je zabeležen njegov biokontrolni potencijal prema fitopatogenim zemljišnim gljivama i nematodama (Panpatte, 2020). Prethodne studije su pokazale efikasnost PGP bakterija u stimulaciji ukupnog rasta šećerne repe, uključujući povećanje enzimske aktivnosti, sadržaja šećera, vlakana i skladišnog korena, prinosa lista, kao i sadržaja hlorofila i hranljivih elemenata u uslovima suše (Karagöz et al., 2018).

S obzirom na to da nedostatak gvožđa dovodi do poremećaja u ishrani biljaka (Natsagdorj, 2019), izuzetna produkcija siderofora zabeležena u ovoj disertaciji, naročito kod izolata *B. subtilis*,

B. amyloliquefaciens i *B. velezensis*, predstavlja značajnu korisnu osobinu koja može povećati usvajanje gvožđa od strane biljke domaćina. Ove PGPB takođe mogu delovati kao biokontrolni agensi putem kompeticije za gvožđe kao mikroelement, budući da njihove siderofore imaju znatno veći afinitet prema gvožđu u odnosu na siderofore fungalnih patogena, čineći ga time nedostupnim za patogene (Glick, 2012). Sposobnost PGP bakterija da produkuju HCN, koji ima ključnu ulogu u zaštiti biljaka od bolesti, predstavlja još jednu značajnu osobinu (Slama et al., 2019). Poznati efekti HCN uključuju poremećaj energetskeg metabolizma, inhibiciju transporta elektrona i ćelijsku smrt (Ramyabharathi and Raguchander, 2014). Antifungalna aktivnost sojeva *B. halotolerans* C3-16/2.1, *B. zhangzhouensis* C3-50, *B. subtilis* C3-72 i *B. subtilis* T3-4, pored mogućeg prisustva antifungalnih sekundarnih metabolita, može biti povezana i sa sintezom HCN, s obzirom na to da su pomenuti sojevi u ovom radu pokazali snažnu produkciju HCN i inhibiciju rasta patogenih gljiva. Inhibicija *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* prethodno je zabeležena za HCN–produkujuću vrstu *Pseudomonas fluorescens* (Mwangi et al., 2002).

Kod izolata iz pšenice uočene su izražene razlike u PGP profilima i bile su specifične za sortu, pri čemu su izolati sorte Centurion pokazali konzistentno snažnu azotofiksaciju i dobru pokretljivost, dok su kod sorti Genius i Modern dobijeni sojevi sa kombinacijom više PGP osobina. Posebno je značajno da je većina sojeva, naročito kod sorte Modern, ispoljila višestruke PGP mehanizme (azotofiksacija, produkcija IAA, siderofora i egzopolisaharida), što ukazuje na potencijalnu sposobnost prilagođavanja različitim stresnim uslovima i stabilne kolonizacije korena. Ograničena ili odsutna ACC-deaminazna aktivnost, uz sporadičnu detekciju HCN gena, sugerise da se PGP efekat ovih sojeva verovatno ostvaruje pre svega kroz nutritivne i kolonizacione mehanizme, a manje kroz mehanizme prilagođavanja stresu ili direktno antagonističke puteve.

Pored toga, poznato je da PGPB štite biljke domaćine od fitopatogena i putem drugih mehanizama, uključujući produkciju hidrolitičkih enzima (Dimkić et al., 2022). U ovoj disertaciji, kako kod sojeva iz šećerne repe, tako i kod sojeva iz pšenice, zabeležena je produkcija enzima uključenih u razgradnju kompleksnih organskih jedinjenja, što ukazuje na njihov potencijalni značaj u ishrani biljaka, kolonizaciji biljnih tkiva i biokontroli patogena. Želatinazna aktivnost, koje se često dovodi u vezu sa biokontrolom biljnih patogena kao što su insekti i nematode (Shimoi et al., 2010), je najčešće detektovana u ovom istraživanju. Takođe, istaknuta je i uloga želatinaza u zaštiti biljaka pirinča od patogenih gljiva (Shimoi et al., 2010). Dodatno, mikroorganizmi koji produkuju celulaze, pektinaze, ksilanaze i amilaze imaju značajnu ulogu u razgradnji organske materije i mineralizaciji hranljivih elemenata. U ovoj disertaciji, *B. halotolerans* C3-16/2.1, *amyloliquefaciens* C3-19, *Paenibacillus polymyxa* C3-36, *B. velezensis* (T2-23, ED2-2) i *B. subtilis* T3-4 pokazali su najizraženiju egzoenzimsku aktivnost, dok je u pojedinim slučajevima izostala produkcija lipaza, ksilanaza i proteaza. Enzimi kao što su celulaza, pektinaza, ksilanaza i proteaza odgovorni su za hidrolitičke procese koji omogućavaju endofitima bolju kolonizaciju biljnih tkiva i uspostavljanje simbiotskog odnosa između endofita i biljke domaćina (Hassan, 2017). Produkcija ovih enzima zabeležena je kod gotovo svih izolata rodova *Bacillus* i *Paenibacillus* izolovanih iz šećerne repe, što je bilo očekivano s obzirom na to da je većina ovih sojeva bila endofitnog porekla.

Dodatno, poznato je da celulolitičke, lipolitičke i proteolitičke aktivnosti endofita doprinose zaštiti biljaka domaćina od patogenih mikroorganizama putem lize ćelijskog zida patogena (Glick, 2012). Kod sojeva iz pšenice uočene su jasne razlike u egzoenzimskom profilu specifičnim za sortu, pri čemu su sojevi sorte Centurion bili dominantno usmereni ka amilolitičkoj i proteolitičkoj aktivnosti, sorta Genius je pokazala ograničen i fragmentisan potencijal sa malim brojem multifunkcionalnih sojeva, dok su sojevi Modern sorte pokazali najširi i najuravnoteženiji spektar hidrolitičkih enzima. Ovakav obrazac ukazuje da se sorte razlikuju ne samo u sastavu bakterijskih zajednica, već i u njihovom funkcionalnom doprinosu, pri čemu veća raznovrsnost enzima (posebno kod sorte Modern) može povećati potencijal za kolonizaciju biljnih tkiva, razgradnju organskih supstrata i indirektnu zaštitu biljke. Prisutnost pojedinačnih multifunkcionalnih izolata sa više PGP i egzoenzimskih osobina potvrđuje da, i pored opšteg trenda povezanog sa sortom, specifični sojevi mogu imati disproporcionalno veliki biološki značaj.

5.4 Sojevi šećerne repe i pšenice u toleranciji abiotičkog stresa

Salinitet, plavljenje, suša, niske temperature i prisustvo toksičnih metala predstavljaju neke od brojnih abiotičkih stresnih faktora kojima su biljke izložene (Wu et al., 2022). Usevi koji su izloženi ovim stresorima mogu pretrpeti značajne gubitke u proizvodnji. Smatra se da povećanje saliniteta zemljišta negativno utiče na više od 20% ukupnih poljoprivrednih površina širom sveta. Visok salinitet zemljišta, koji je prvenstveno posledica prisustva NaCl, negativno utiče na rast i prinos većine biljnih kultura zbog njihove ograničene tolerancije na so. Povećana koncentracija soli remeti hormonske i nutritivne procese u biljkama, što dovodi do smanjene produktivnosti i usporenog rasta (Wu et al., 2022).

Tolerancija izolata iz šećerne repe na stres izazvan salinitetom potvrđena je njihovom sposobnošću rasta pri povišenim koncentracijama soli u podlozi. Soj *B. halotolerans* C3-16/2.1 pokazao se kao izuzetno perspektivan kandidat za stimulaciju rasta biljaka u uslovima zaslanjenog zemljišta, s obzirom na to da je ispoljio najveći stepen tolerancije na salinitet, čak i pri koncentraciji od 10% NaCl. Prethodna istraživanja su pokazala da *B. halotolerans* može štiti rast biljaka i ublažavati stres izazvan solju kod pšenice putem modulacije sinteze fitohormona i regulacije osmotske ravnoteže, homeostaze jona i ekspresije gena (Wu et al., 2022).

Još jedan značajan abiotički stresor koji negativno utiče na poljoprivrednu proizvodnju jeste suša, definisana kao period deficita vlage u zemljištu koji nastaje kao posledica kombinacije smanjenih padavina i povećane evapotranspiracije u određenom regionu (Mimić et al., 2022). Dvadeset jedan izolat iz šećerne repe mogao se klasifikovati kao tolerantan na sušu, na osnovu njihove sposobnosti rasta u uslovima izraženog deficita vlage. Sojevi *B. subtilis* C3-62 i TF2-1 pokazali su efikasan rast pri maksimalnoj koncentraciji PEG-a, bez vidljivog smanjenja rasta u poređenju sa kontrolom, te se mogu smatrati potencijalnim stres-tolerantnim PGPR kandidatima za primenu u zemljištima pogođenim sušom. Bakterije mogu preživeti u stresnim uslovima zahvaljujući produkciji EPS-a, koji štite mikroorganizme od vodnog stresa poboljšavajući zadržavanje vode i regulišući difuziju izvora organskog ugljenika (Ali et al., 2013). S obzirom na to da su oba soja *B. subtilis* bili producenti EPS-a, ova osobina može predstavljati razlog njihove visoke tolerancije na sušu. Pored toga, EPS omogućava mikroorganizmima vezivanje i kolonizaciju korena biljaka, jer formira mrežu fibrilarnog materijala koja čvrsto povezuje bakterije sa površinom korena (Ali et al., 2013), što dodatno doprinosi njihovoj pogodnosti za praktičnu primenu.

Regulacija nivoa biljnih hormona, naročito auksina i etilena, verovatno predstavlja jedan od najvažnijih mehanizama putem kojih PGPB stimulišu razvoj biljaka, posebno u uslovima stresa kao što je suša (Kim et al., 2012). Bakterije koje sadrže enzim ACC-deaminazu smanjuju količinu ACC-a u biljkama pod stresom, čime se redukuje produkcija stresom indukovano etilena i posledično ublažava oštećenje biljaka. S obzirom na to da su biljke često izložene stresnim faktorima koji indukuju sintezu etilena (Ali et al., 2013), bakterije koje proizvode ACC-deaminazu, kao što su *P. aryabhattai* T1-2, *B. subtilis* KO3-18 i *C. pusillum* ED2-6, predstavljaju dobre kandidate za razvoj bioinokulanata namenjenih ublažavanju abiotičkog stresa kod biljaka.

Takođe, dobijeni rezultati ukazuju da značajan deo selektovanih PGP izolata iz pšenice poseduje izraženu toleranciju na salinitet i stres suše, što je važno sa aspekta njihove potencijalne primene u uslovima abiotičkog stresa. Postepeno smanjenje rasta sa porastom koncentracije NaCl i PEG je očekivano, ali činjenica da je deo izolata zadržao rast i pri najvišim testiranim koncentracijama ukazuje na prisustvo efikasnih mehanizama adaptacije na stres. Posebno su se izdvojili sojevi *P. soli* MP6-55, *P. aryabhattai* (MP8-17 i MP9-1) sa istovremenom tolerancijom na visoke koncentracije PEG i NaCl jer kombinacija PGP osobina i otpornosti na sušu i salinitet sugerise njihov potencijal kao stabilnih kandidata za primenu u poljoprivrednim sistemima izloženim klimatskim i edafskim stresovima.

Testovi tolerancije na toksične metale dodatno su pokazali da soj *B. subtilis* KO3-18 i sojevi *B. velezensis* ispoljavaju značajnu otpornost na kobalt, kadmijum i olovo, što je u skladu sa dobro dokumentovanim bioremedijacionim potencijalom vrsta roda *Bacillus* (Wróbel et al., 2023). Ovakve osobine, uključujući biosorpciju, sekvestraciju posredovanu ekstracelularnim

polisaharidima, bioakumulaciju i biomineralizaciju, široko su prepoznate kao strategije koje omogućavaju bakterijama roda *Bacillus* da prežive u zagađenim sredinama (Wróbel et al., 2023; Nnaji et al., 2024). Ove adaptacije mogu obezbediti kompetitivnu prednost u zemljištima izloženim stresu, dok istovremeno indirektno doprinose rastu šećerne repe putem detoksikacije ili sekvestracije toksičnih metala. Pored toga, navedene osobine mogu uticati na strukturiranje rizosfere favorizovanjem opstanka rezistentnih sojeva i modulacijom interakcija sa taksonima osetljivijim na prisustvo metala (Nnaji et al., 2024). Takođe, sojevi izolovani iz pšenice *Chryseobacterium lathyri/elymi* MP6-19, *Serratia oryzae* MP6-36, *Pseudomonas trivialis/poae* MP6-37/1 i *Curtobacterium herbarum* MP6-39 pokazali su izraženu otpornost na toksične metale. Vrste ovih rodova su već zapažene u toleranciji na toksične metale (Chien et al., 2013; Benmalek et al., 2014; Bhatta et al., 2023)

5.5 Antagonistički potencijal izolata iz šećerne repe i pšenice

Rast fungalnih patogena izolovanih iz šećerne repe bio je snažno inhibiran delovanjem *P. polymyxa* C3-36, *B. halotolerans* C3-16/2.1, *B. amyloliquefaciens* C3-19 i više sojeva *B. subtilis*. Izražen antagonistički potencijal različitih sojeva roda *Bacillus* iz rizosfere šećerne repe prema jednom od najrazornijih patogena, *Cercospora beticola*, već je ranije dokazan (Khakvar et al., 2016). Među 12 ispitanih sojeva *B. subtilis*, najbolji je bio soj TF2-1 sa izrazitom antifungalnom aktivnošću protiv *C. beticola*. Pored toga, *P. polymyxa* C3-36 pokazao je izuzetno snažnu antifungalnu aktivnost protiv svih ispitivanih patogena roda *Fusarium*, što je u skladu sa ranijim izveštajima o delovanju različitih sojeva *P. polymyxa* protiv *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Son et al., 2009). Takođe, oba ispitivana soja *B. halotolerans* C3-16/2.1 i T2-1 bila su sposobna da inhibiraju rast svih testiranih patogena. Sojevi ove vrste već su povezani sa antifungalnom aktivnošću prema različitim biljnim patogenima, uključujući različite vrste iz rodova *Fusarium*, *Rhizoctonia* i *Botrytis* (Sagredo-Beltrán et al., 2018; Tsalgatiidou et al., 2022).

Svi testirani patogeni vrste *F. graminearum*, poznatog uzročnika paleži klasa kod žitarica i bolesti šećerne repe (Hanson and Hill, 2004; Hanson, 2006), pokazali su visoku osetljivost na sojeve *B. subtilis*, *B. halotolerans*, *B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis* i *P. polymyxa*. Uopšteno, izolati *B. amyloliquefaciens* i *P. polymyxa* ispoljili su izuzetno snažan antagonistički potencijal prema svim ispitivanim patogenim gljivama. Samo manji broj PGP-odabranih izolata iz pšenice istovremeno je posedovao širok i snažan antifungalni potencijal, pri čemu su *B. velezensis* MP10-7 i *Paenibacillus glycanilyticus* MP10-20 ispoljili statistički najznačajniju i konzistentnu antagonističku aktivnost prema svim testiranim sojevima roda *Fusarium*, čime se izdvajaju kao najperspektivniji biokontrolni kandidati. Antifungalna aktivnost *P. glycanilyticus* može se dovesti u vezu sa njegovom poznatom sposobnošću produkcije α -1,3-glukanaza, enzima uključenih u hidrolizu ćelijskog zida gljiva, što predstavlja jedan od relevantnih mehanizama biokontrole (Suyotha et al., 2014).

5.6 Promocija rasta šećerne repe i pšenice *in planta*

U *in planta* ogledima ispitivan je uticaj konzorcijuma Mix1, Mix2 i Mix3 na biomasu, sastav mikrobioma i efikasnost kolonizacije, pri čemu su dužina izdanka i suva masa nadzemnih delova korišćeni kao pouzdani indikatori vigora i produktivnosti šećerne repe. Pokazano je da inokulacija PGP bakterijama unapređuje ove osobine stimulisanjem ranog rasta, poboljšanjem vigora klijanaca i, u krajnjoj liniji, povećanjem potencijala prinosa (Sacristán-Pérez-Minayo et al., 2020). Među tretmanima, Mix2 i Mix3 pokazali su jasno pozitivne efekte, naročito u ranoj fazi razvoja biljaka. Međutim, Mix2 je značajno povećao suhu masu u završnoj vremenskoj tački, nadmašivši sve ostale tretmane, uključujući i kontrolu. Ovaj odloženi, ali izražen efekat ukazuje na to da Mix2 može doprineti dugotrajnijoj i održivoj akumulaciji biomase. Ovi rezultati u saglasnosti su sa prethodnim studijama koje su pokazale dugoročne koristi PGP konzorcijuma u stimulaciji

rasta izdanaka i raspodele biomase, čime se povećava fotosintetski kapacitet i podstiče bolji razvoj korena i akumulacija šećera (Sacristán-Pérez-Minayo et al., 2020).

U ogleđima sa inokulacijom pojedinačnim sojevima, svi ispitivani sojevi pokazali su bolje rezultate u pogledu suve mase nadzemnih delova u odnosu na kontrolu. U poređenju sa konzorcijumima, pojedinačni sojevi su ispoljili snažnije rane efekte na biomasu izdanaka. Ovo se može objasniti bržom i efikasnijom kolonizacijom korena od strane pojedinačnih sojeva, dok je u okviru konzorcijuma određenim izolatima verovatno bilo potrebno više vremena da se prilagode. Ova zapažanja ukazuju na to da, iako pojedinačni sojevi mogu delovati brzo, njihovi povoljni efekti u okviru konzorcijuma mogu biti vremenski odloženi, ali potencijalno sinergistički na duži rok, što potvrđuju i prethodna istraživanja koja pokazuju da bakterijski sojevi mogu koegzistirati u konzorcijumu i ispoljavati različitu dinamiku rasta i kolonizacije, pri čemu pojedini članovi dominiraju u različitim fazama razvoja zajednice (Gamez et al., 2020; Cillero et al., 2022; Wang et al., 2024). Sva tri konzorcijuma sadržala su sojeve sa komplementarnim PGP osobinama, uključujući fiksaciju azota, produkciju siderofora, aktivnost ACC-deaminaze i toleranciju na stres. Međutim, Mix2 i Mix3 su uključivali izolate sa širim spektrom enzimske aktivnosti u poređenju sa Mix1. Posebno se izdvaja soj *D. gerundensis* KO3-44, koji je pokazao snažnu produkciju IAA i povećanu aktivnost u ko-kulturi. Ipak, njegov efekat je mogao biti ograničen, s obzirom na to da prekomerna količina IAA može inhibirati rast biljaka (Wang et al., 2025b). Ovi rezultati naglašavaju kompleksnost mikrobioloških interakcija unutar konzorcijuma i ukazuju na značaj pažljivog odabira kompatibilnih sojeva sa komplementarnim osobinama radi optimizacije efekata promocije rasta biljaka.

Pored efekata na rast, važno je razmotriti i kako inokulacija tokom vremena preoblikuje mikrobiome korena i rizosfere, što odražava stabilnost konzorcijuma i procese regrutacije mikroorganizama. Naša sveobuhvatna metabarkoding analiza otkrila je jasne obrasce alfa i beta diverziteta, taksonomskog sastava i obogaćenih taksona kod Mix1, Mix2, Mix3 i kontrole, specifične za tretmane. U vremenskoj tački A, kontrola je pokazala najviši Šenonov diverzitet, što odražava dominaciju autohtonih, zemljišnih i semenom prenetih zajednica u odsustvu inokulacije. Do završnog uzorkovanja, Mix3 je održavao najviši nivo mikrobiološke raznovrsnosti, ukazujući na superiornu dugoročnu stabilnost, dok je diverzitet opadao u kontroli, Mix1 i Mix2. Ovaj obrazac ukazuje na sposobnost Mix3 da tokom čitavog rasta biljaka održi stabilnu i robusnu mikrobiološku zajednicu. Kod šećerne repe poznato je da se mikrobiom rizosfere dinamično menja tokom ontogeneze biljke, pri čemu su raznovrsnost i sastav snažno uslovljeni korenskim eksudatima i obrascima regrutacije mikroorganizama (Wolfgang et al., 2023). Pad diverziteta u kontroli tokom vremena može odražavati prirodne sukcesivne promene, naročito u uslovima monokulture ili gajenja u saksijama (Cui et al., 2022; Wolfgang et al., 2023). S obzirom na to da je šećerna repa izrazito zahtevna u pogledu azota, povišeni diverzitet koji je Mix3 održavao u završnoj fazi razvoja posebno je značajan, jer visoka mikrobiološka raznovrsnost snažno doprinosi ciklusu hraniva i dostupnosti azota (Liu et al., 2024).

Proteobacteria je bio dominantni razdeo u ranoj fazi eksperimenta, što je u skladu sa nalazima iz brojnih rizosfernih sistema (Okazaki et al., 2014), ali sa različitim vremenskim obrascima u zavisnosti od tretmana. Za razliku od ranijih izveštaja u kojima su *Actinobacteriota* opisane kao dominantne u mikrobiomu rizosfere i korena šećerne repe (Okazaki et al., 2014; Skivka i Hudz, 2021), u ovoj disertaciji pomenuti razdeo zauzimao je tek sedmo mesto po zastupljenosti i pokazivao visoku varijabilnost između tretmana. U kontroli, Mix1 i Mix2, nekoliko glavnih razdela (*Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteriota*, *Chloroflexi*, *Acidobacteriota* i *Myxococcota*) imalo je tendenciju opadanja tokom vremena. Nasuprot tome, Mix3 je održavao ili čak povećavao njihovu relativnu zastupljenost, što ukazuje na to da je ovaj konzorcijum ublažavao gubitak raznovrsnosti i podržavao opstanak spororastućih ili taksona specijalizovanih za nišu. Razdeli *Bacteroidota* i *Patescibacteria* su se postepeno povećavali u svim tretmanima, dostižući najviše vrednosti u kontroli u vremenskoj tački C, što je u skladu sa obogaćivanjem kopiotrofnih ili sa domaćinom povezanih grupa tokom oblikovanja rizosfere. Ovaj trend je saglasan sa izveštajima koji *Bacteroidota* opisuju kao kopiotrofne linije koje se intenzivno razmnožavaju u uslovima povećane

dostupnosti ugljenika i hraniva u zemljištima pod uticajem biljaka (Fierer et al., 2007). Iako su *Planctomycetota* bile relativno zastupljene u ranoj fazi, njihov pad nakon drugog uzorkovanja verovatno je povezan sa njihovim sporim rastom, oligotrofnim načinom života i smanjenom kompetitivnošću u trenutku kada brzorastući taksoni intenziviraju korišćenje supstrata poreklom iz korena (Wiegand et al., 2018).

Na nivou roda, *Pseudomonas* je bio najčešće detektovan rod u svim tretmanima, što je u skladu sa skorijim istraživanjima (Cui et al., 2022). Njegovo rano obogaćenje korelira sa dobro poznatom ulogom brzog kolonizatora (Lambert et al., 1990). Visoku zastupljenost pokazali su rod *Pirellula* i drugi predstavnici planktomiceta, kao i rodovi *Streptomyces*, *Luteolibacter* i *Bacillus*. Rod *Streptomyces* je pokazao opšti trend opadanja nakon drugog uzorkovanja, što je ranije opisano za koren šećerne repe nakon stadijuma klijanaca (Wolfgang et al., 2023), izuzev u tretmanu Mix3, gde je njegova zastupljenost ostala stabilna. Slično analizama objedinjenih uzoraka korena i rizosfere koje su sprovedi Zachow et al. (2014), i naši rezultati su pokazali preklapanje više rodova, uključujući *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Devosia*, *Flavobacterium* i *Cellvibrio*. Uopšteno, rodovi *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Devosia*, *Streptomyces*, *Flavobacterium* i *Cellvibrio* često se sreću u korenu i rizosferi, pri čemu su *Devosia* i *Streptomyces* posebno izdvajaju po čestoj zastupljenosti u zajednicama povezanim sa korenom (Okazaki et al., 2014; Zachow et al., 2014; Cui et al., 2022; Ikeda et al., 2023; Wolfgang et al., 2023). Nasuprot tome, rodovi *Pirellula* i *Lysinibacillus* su pretežno zastupljeni u rizosferi (Huang et al., 2020; Sun et al., 2025). Rod *Hydrogenophaga*, koji je takođe bio obogaćen u Mix3 (vremenska tačka B), ranije je opisan kao promotor tolerancije na salinitet, rast i sazrevanje soje (*Glycine max*) (Ilangumaran et al., 2024). Prema našim saznanjima, za rod *Opitutus* do sada nisu opisani PGP efekti, iako je vrsta *O. terrae* poznata kao fermentativni anaerob prvobitno izolovan iz zemljišta pirinčanih polja, što ukazuje na preferenciju ka specifičnim ekološkim uslovima (van Passel et al., 2011). Pored direktnih poređenja između konzorcijuma, analiza diferencijalne zastupljenosti u odnosu na kontrolu pokazala je da je svaki konzorcijum regrutovao specifičan skup taksona, pri čemu je samo mali broj bio zajednički svim tretmanima. Rod *Opitutus* izdvojio se kao jedini rod čija je zastupljenost bila statistički značajno povećana u sva tri tretmana u odnosu na kontrolu, što ukazuje na to da bi mogao predstavljati ključni i prilagodljiv takson u uslovima promena rizosfere izazvanih inokulacijom.

Iako promene na nivou zajednice pružaju uvid u ukupne efekte tretmana, perzistentnost pojedinačnih sojeva daje ključne informacije o kompatibilnosti konzorcijuma i strategijama kolonizacije. Grupa *Bacillus*, koja obuhvata više blisko srodnih izolata koji se ne mogu identifikovati na osnovu analize gena za 16S rRNK, generalno je bila perzistentna, ali je pokazivala različitu dinamiku. U Mix2 je privremeni pad u vremenskoj tački B bio praćen oporavkom u vremenskoj tački C, što može odražavati kompetitivne interakcije ili ekološku sukcesiju, dok je u Mix3 RA roda *Bacillus* opala sa 48% na 10%. Ovakva dinamika u skladu je sa sposobnošću vrsta roda *Bacillus* da formiraju endospore indukovane stresom, čime se smanjuje metabolička aktivnost i, posledično, njihova detektabilnost u NGS analizama (Romero-Rodríguez et al., 2023). Ove osobine verovatno objašnjavaju i njihovu nižu uspešnost u ponovnoj izolaciji metodama kultivacije. Takva neslaganja odražavaju kako ekološko ponašanje inokulisanih sojeva, tako i metodološka ograničenja pojedinačnih pristupa, naglašavajući značaj integracije više metoda pri tumačenju mikrobiološke dinamike. Na primer, *P. oryzihabitans* KO3-19 je ponovo izolovan ubrzo nakon inokulacije, ali nije detektovan NGS-om, verovatno zbog niske zastupljenosti (Petrović et al., 2026). Nasuprot tome, soj *D. gerundensis* KO3-44 nije ponovo izolovan klasičnim metodama, ali je identifikovan u metabarkodirajućim analizama u kasnijim vremenskim tačkama, što ukazuje na moguće kašnjenje u uspostavljanju zajednice. *P. polymyxa* C3-36, za razliku od toga, bio je detektovan sa oba pristupa i pokazivao je porast RA u Mix2 i Mix3. Izražena produkcija ekstracelularnih polisaharida, rojenje i plivanje kod oba soja (Petrović et al., 2024) verovatno olakšavaju formiranje biofilma i prijanjanje za površinu korena, čime se podržava dugoročna održivost (Ajijah et al., 2023). Soj *C. pusillum* ED2-6 pokazao je snažnu sposobnost kolonizacije, budući da je bio i ponovo izolovan i obogaćen prema NGS analizama. Njegove višestruke PGP osobine i poreklo iz korena

verovatno doprinose dobroj adaptaciji na okruženje šećerne repe (Petrović et al., 2024; Arhin et al., 2025).

Mix3 je obuhvatao sojeve *B. halotolerans* C3-16/2.1, *P. polymyxa* C3-36, *B. subtilis* KO3-18, *M. theicola* KO3-44 (*D. gerundensis*) i *B. velezensis* T2-23, čime je formirana kombinacija koja objedinjuje fiksaciju azota, produkciju IAA, sintezu EPS-a, solubilizaciju fosfata, izraženu sposobnost rojenja i plivanja i snažnu siderofornu aktivnost (Petrović et al., 2024). Ove osobine verovatno doprinose otpornosti i kolonizacionom potencijalu konzorcijuma, jačajući kompleksnost i funkcionalnost mikrobioloških zajednica. Posebno, *M. theicola* (IAA, EPS, fiksacija azota) i *P. polymyxa* (EPS, IAA, fiksacija azota) mogu podsticati regrutaciju mikroorganizama i strukturiranje rizosfere, dok *B. velezensis* i *B. subtilis* obezbeđuju uspešno zauzimanje niša i kompeticiju za resurse (Petrović et al., 2024). Nasuprot tome, Mix1 i Mix2, iako funkcionalno kompetentni, ne poseduju sinergizam IAA/EPS/fiksacije azota kakva je prisutna u Mix3, što može objasniti njihovu promenljivu raznovrsnost i slabije trendove obogaćenja.

Poseban značaj ovog istraživanja ima tretman Tp14, koji obuhvata izolate *S. oryzae* MP6-36 i *B. halotolerans* MP9-8, a koji je pokazao najkonzistentnije i statistički najznačajnije poboljšanje rasta pšenice. Analiza funkcionalnih osobina ovih izolata ukazuje da izvanredan efekat ne proizilazi iz jedne dominantne osobine, već iz njihove funkcionalne komplementarnosti. Oba izolata pokazuju toleranciju na sušu, salinitet i većinu toksičnih metala, dok se njihove PGP osobine i produkcija hidrolitičkih enzima međusobno dopunjuju, što se ogleda i u povećanoj proizvodnji siderofora u kulturi. Prethodna istraživanja takođe ističu značaj *B. halotolerans* KKD1 u poboljšanju rasta pšenice, pokazujući da kolonizacija i formiranje biofilma omogućavaju dugotrajnu modifikaciju rizosfere, solubilizaciju i fiksaciju hranljivih materija, dok proizvodnja fitohormona stimuliše rast biljke, a višestruki mehanizmi ublažavanja stresa omogućavaju rast i u salinitetom pogođenim uslovima (Wu et al., 2022). Vrste roda *Serratia* doprinose većem sadržaju azota, fosfora i kalijuma u nadzemnim delovima i zrnu pšenice, povećanju broja klasova i ukupnom prinosu, uz smanjenje oksidativnih oštećenja i veću toleranciju biljaka na različite nivoe saliniteta (Kulkova et al., 2024). Ovi rezultati naglašavaju da sinergija funkcionalno komplementarnih izolata može biti ključ za stabilno poboljšanje rasta biljaka, čak i pod stresnim uslovima, i potvrđuju potencijal pažljivo dizajniranih mikrobioloških konzorcijuma za održivu poljoprivredu.

U ovoj disertaciji zabeleženo je da je izolat *S. oryzae* MP6-36 ostvario znatno jači promotivni efekat na rast pšenice u kombinaciji sa vrstama roda *Bacillus* u odnosu na vrste roda *Pseudomonas*, što ukazuje na kompatibilnost specifičnu za rod. Ovakav obrazac potvrđen je i u literaturi, gde je ko-inokulacija *S. marcescens* i *B. zhangzhouensis* povezana sa povećanom solubilizacijom fosfata iz mineralnih formi i poboljšanim rastom pšenice (Brambilla et al., 2022).

Prethodna istraživanja pokazuju da u monokulturi jedan bakterijski soj nosi ceo teret svojih metaboličkih i regulatornih funkcija, što često smanjuje efikasnost i doprinos korisnim aktivnostima za rast biljke. Suprotno tome, u konzorcijumima od dva ili više mikroorganizama dolazi do podele rada, pri čemu članovi razmenjuju metabolizam, energiju i funkcije, stvarajući sinergijski efekat (Singh et al., 2023). Na ovaj način se može objasniti superiornost dvočlanog konzorcijuma T14 u rastu pšenice, koji nadmašuje učinak pojedinačnih sojeva i naglašava značaj funkcionalno kompatibilnih sojeva za postizanje maksimalnog sinergijskog efekta.

5.7 Uticaj Mix3 konzorcijuma na mikrobiom šećerne repe u transmisijkom ogledu sa ‘*Ca. Phytoplasma solani*’

U biljnim sistemima, visoka mikrobiološka raznovrsnost povezuje se sa suzbijanjem patogena, efikasnijim kruženjem hranljivih materija i stabilnošću rizosferne zajednice, te se može posmatrati kao potencijalni biomarker u strategijama zaštite biljaka (Berg et al., 2017). Pristupi inženjerisanju rizosfere šećerne repe naglašavaju značaj konzorcijuma koji održavaju raznovrsnost, naročito u uslovima kontinuirane proizvodnje, gde inače dolazi do smanjenja korisnih i povećanja patogenih taksona (Cui et al., 2022). Na osnovu bogatstva taksona povezanih sa azotnim ciklusom, suzbijanje prekomerne dominacije *Bacillota* i stabilno prisustvo *Pseudomonadota* u konzorcijumu

Mix3 dovelo je do njegove preporuke za dalje testiranje u kavezima sa biljkama šećerne repe izloženim prirodnim fitoplazma-insekt-vektorima (Petrović et al., 2026). Uzimajući u obzir nedavno potvrđenu direktnu uzročno-posledičnu vezu između infekcije fitoplazmom ‘*Candidatus Phytoplasma solani*’ i pojave truleži korena izazvane fungalnim patogenom *Macrophomina phaseolina*, koja predstavlja ozbiljnu pretnju proizvodnji šećerne repe, Mix3 je izabran za evaluaciju potencijala biokontrole sa ciljem da se proceni da li konzorcijum koji održava raznovrsnost može stabilizovati mikrobiom i povećati toleranciju biljaka prema oba patogena. S obzirom na to da se odgovori mikroorganizama često razlikuju između endosfere korena i same rizosfere, analizirane su obe sfere kako bi se obuhvatili specifični efekti infekcije i tretmana (Cui et al., 2022; Wolfgang et al., 2023).

Uzorci rizosfere su pokazivali veće bogatstvo i raznovrsnost bakterijskih zajednica u poređenju sa uzorcima korena, gde je vektorski prenos fitoplazme imao izraženiji efekat restrukturiranja mikrobioma. Razdeli *Actinomycetota* i *Pseudomonadota* detektovani su u svim uzorcima, što potvrđuje njihovu široku rasprostranjenost u bakteriobiomu šećerne repe, u skladu sa ranijim izveštajima (Okazaki et al., 2014; Skivka i Hudz, 2021). Dodatno, pojava razdela *Mycoplasmata* isključivo u korenu biljaka izloženih vektorima koji prenose fitoplazmu, zajedno sa smanjenom zastupljenošću *Bacteroidota* u ovim uzorcima, odražava karakteristične pomake u sastavu mikroorganizama povezane sa vektorski posredovanim unošenjem fitoplazme. Negativan uticaj patogena na homeostazu biljnog mikrobioma dobro je dokumentovan kod različitih useva i često dovodi do disbioze povezane sa bolestima, što se neposredno odražava na zdravstveno stanje biljaka (Dimkić et al., 2023; Almirón et al., 2025).

Mix3 ispoljio je snažan selektivni pritisak na mikrobiološke zajednice rizosfere. Obogaćivanje oligotrofnih i stres-tolerantnih taksona kao što su ‘*Candidatus Udaeobacter*’, ‘*Candidatus Solibacter*’ i *Gemmatimonas* ukazalo je na to da tretman Mix3 podstiče pomeranje ka resursno efikasnijoj i stabilnijoj mikrobiološkoj zajednici (Kielak et al., 2016; Willms et al., 2021; Mujakić et al., 2023). Istovremeno povećanje rodova iz razdela *Actinobacteria*, kao što su *Kribbella* i *Baekduia*, dodatno ukazuje na povećan kapacitet za razgradnju kompleksne organske materije i mikrobiološke interakcije, što potencijalno doprinosi otpornosti rizosfere pod biotičkim stresom (Nouioui et al., 2018; Vieira et al., 2023). Nasuprot tome, rizosferom šećerne repe tretirane prenosiocima fitoplazme dominirali su kopiotrofni i sa biljkama povezani taksoni, uključujući *Azospirillaceae*, *Pararhizobium* i *Metabacillus*, što je u skladu sa promenama u metabolizmu biljke izazvanim patogenom i povećanim lučenjem korenskih eksudata koji stimulišu brzo rastuće odgovorne organizme u rizosferi (Petrović et al., 2026). Značajno je da ograničene razlike između tretmana Rizosfera+Fito i Rizosfera+Fito+Mix3 ukazuju na to da efekti, koje pokreće interakcija domaćin–patogen mogu delimično nadjačati efekte inokulacije mikroorganizmima. U celini, ovi rezultati ukazuju da infekcija fitoplazmom podstiče kopiotrofnu, hranljivim materijama bogatu rizosferu, dok Mix3 usmerava zajednicu ka suprotnom pravcu — ka oligotrofnim, stabilnijim mikrobiološkim zajednicama, pri čemu su najizraženiji efekti u rizosferi, a znatno manje promene uočene su u zajednicama povezanim sa korenom (Yuan et al., 2018). Iako analiza diferencijalne zastupljenosti nije pokazala statistički značajno obogaćivanje u okviru tretmana povezanih sa korenom, kompozicioni podaci jasno ukazuju na snažan biološki odgovor na infekciju fitoplazmom. Potvrđeno povećanje zastupljenosti taksona ‘*Candidatus Phytoplasma*’ u grupama Koren+Fito i Koren+Fito+Mix3 jasno ukazuje na uspešno uspostavljanje ‘*Ca. P. solani*’ u tkivima korena. Pored toga, značajno obogaćivanje *Macrophomina* u grupi Koren+Fito+Mix3 potvrđuje njenu ulogu sekundarnog izazivača infekcije i podržava molekularne dokaze o njenoj dominaciji u korenima zahvaćenim fitoplazmom, što je u skladu sa izveštajima o ovoj dvostrukoj patogenoj interakciji (Duduk et al., 2023). Zanimljivo je da je pod pritiskom fitoplazme rizosferni mikrobiom bio obogaćen i rodom *Arthrobacter*, koji je široko prepoznat po svojoj ulozi u poljoprivrednoj bioremedijaciji (Sun et al., 2024). Nekoliko vrsta roda *Arthrobacter*, pretežno zemljišnih rizobakterija, opisani su kao dobri promoteri rasta biljaka zbog svojih funkcionalnih osobina, uključujući solubilizaciju kalijuma i fosfata, fiksaciju azota i produkciju IAA. Ova svojstva su često povezana i sa antifungalnom aktivnošću *in planta*, kao i sa povećanim kapacitetom za podršku

kolonizaciji korisnih mikroorganizama i ublažavanje abiotičkog stresa kod biljaka (Sun et al., 2024). Ovo ukazuje na to da šećerna repa regrutuje korisne mikrobiološke partnere tokom infekcije fitoplazmom, što je u skladu sa prethodno opisanim promjenama mikrobioma u rizosferi i korenu šećerne repe koje biljka aktivno usmerava tokom infekcije fungalnim patogenom *Rhizoctonia solani* (Carrión et al., 2019). Takvo regrutovanje može predstavljati biljci urođen, mikrobiomom posredovan odbrambeni mehanizam koji usporava ili ublažava razvoj simptoma, posebno imajući u vidu da infekcija fitoplazmom smanjuje prirodnu zastupljenost ovih taksona u zdravim korenima šećerne repe. Pored toga, obogaćivanje roda *Pseudarthrobacter* u šećernoj repi tretiranoj sa Mix3 konzorcijumom, naročito u uslovima infekcije fitoplazmom, ukazuje na to da biljka i mikrobiološki konzorcijum mogu selektivno regrutovati različite korisne taksone kao odgovor na stres. Sam tretman Mix3 takođe je uticao na sastav mikrobioma rizosfere i korena, podstičući obogaćivanje rodova *Kozakia* i *Streptomyces* u rizosferi, kao i roda *Kocuria* u tkivima korena. Pripadnici roda *Streptomyces* su dobro poznati po svojim izuzetnim biokontrolnim sposobnostima, posebno u sistemima šećerne repe (Abdelghany et al., 2024) i uloji u ciklusu hranljivih materija, što naglašava njihov potencijalni doprinos zdravlju zemljišta i produktivnosti biljaka (Vurukonda et al., 2018). Iako je PGP potencijal pripadnika roda *Kozakia* još uvek slabo istražen, *K. baliensis* je poznata kao producent egzopolisaharida (Wünsche et al., 2023). Pripadnici roda *Kocuria* izolovani su kako iz rizosfere, tako i iz unutrašnjih tkiva različitih biljnih vrsta. Endofitni izolati roda *Kocuria* iskazali su antagonističku aktivnost prema više fitopatogenih gljiva i bakterija (Shchyogolev et al., 2024). Značajno je da je pokazano da *K. rhizophila* uspešno kolonizuje rizosferu paradajza, posebno u uslovima vodnog deficita, uz održavanje stabilne aktivnosti u promociji rasta biljaka (Almalkawi et al., 2025).

S obzirom da mikrobiološke interakcije u rizosferi obuhvataju i bakterije i gljive, restrukturiranje izazvano fitoplazmom ispitano je i na nivou fungalnih zajednica, uz poseban fokus na promene u zastupljenosti patogenih i korisnih taksona. Infekcija fitoplazmom očigledno dovodi do izraženih promena u strukturi fungalne zajednice rizosfere, favorizujući određene taksone kao što su *Pichia*, *Phaffomycetaceae* i *Talaromyces*, dok istovremeno smanjuje zastupljenost tipičnih rodova rizosfere, uključujući *Gibellulopsis*, *Vishniacozyma*, *Cladosporium*, *Rhodotorula* i *Symmetrospora*. Posebno je značajno prisustvo vrsta roda *Talaromyces*, koji su poznati po snažnoj antifungalnoj aktivnosti i sposobnosti da promovišu rast pšenice u uslovima patogenog stresa (Yang et al., 2024), što ukazuje na moguću selektivnu mobilizaciju gljiva sa supresivnim dejstvom na bolesti. Uporedivi obrasci, koje karakterišu gubitak diverziteta i pojednostavljenje fungalnih mreža, uočeni su i u tkivima kineske urme zaražene fitoplazmom (Wang et al., 2025a), što implicira da restrukturiranje mikrobioloških zajednica izazvano fitoplazmom može predstavljati široko očuvan odgovor kod različitih biljnih domaćina. Povećana raznolikost u uzorcima Rizosfera+Fito+Mix3 sugeriše da bakterijska inokulacija može stvoriti nove ekološke niše, delimično ublažavajući supresivni efekat fitoplazme i omogućavajući kolonizaciju dodatnih gljiva, kao što su *Wickerhamomyces* i *Penicillium*. Prisustvo roda *Cercospora* u neinokulisanoj rizosferi i u uzorcima Rizosfera+Fito, kao i njegovo odsustvo u tretmanu Rizosfera+Fito+Mix3, jasno ukazuje da kombinovani bakterijski tretman efikasno suzbija ovaj rod, koji sadrži poznate patogene šećerne repe (Tayyab et al., 2023). U uzorcima Koren+Fito+Mix3, metabarkoding podaci potvrdili su izrazitu dominaciju roda *Macrophomina*, što je u skladu sa prethodnim nalazima koji ukazuju da infekcija fitoplazmom dovodi do sekundarne kolonizacije i infekcije ovim patogenom (Duduk et al., 2023).

5.8 Uticaj konzorcijuma na rast i prinos šećerne repe u polju

Ogledi u polju pokazali su da su pojedinačni bakterijski sojevi i konzorcijumi bakterija uticali na rast, prinos i parametre kvaliteta šećerne repe, pri čemu su njihovi efekti varirali između dve eksperimentalne lokacije. Varijabilnost u efikasnosti mikrobioloških inokulanata između lokaliteta česta je pojava i najčešće se povezuje sa razlikama u osobinama zemljišta, sastavu

autohtonog mikrobioma i spoljašnjim uslovima sredine (Compant et al., 2019). Nadzemna biomasa je uspešno bila povećana u više tretmana, naročito T5, T7 i T12, na oba lokaliteta.

Posebno je važno istaći da tretman T15 (Mix3), koji je pokazao najbolje rezultate u kontrolisanim uslovima *in planta* ogleđa, nije doveo do povećanja prinosa u uslovima ogleđa u polju, iako je rezultirao povećanim sadržajem kalijuma, natrijuma i šećera u korenu. U ogleđima u polju, tretmani koji su doveli do povećanja sadržaja šećera uglavnom su rezultirali smanjenim prinosom korena, što ukazuje na kompromis između akumulacije šećera i proizvodnje biomase. Ovaj obrazac je u skladu sa prethodnim istraživanjima koja ukazuju da bakterijska inokulacija može preusmeriti metabolizam ugljenika ka sintezi šećera, čime se ograničava ukupni rast biljke (Sacristán-Pérez-Minayo et al., 2020). Takav balans može biti dodatno uslovljen spoljašnjim faktorima ili ograničenjima u snabdevanju hranljivim materijama, pri čemu biljke u stresnim uslovima mogu davati prednost čistoći šećera u odnosu na prinos. Nutritivni profili korena šećerne repe u našim ogleđima pokazali su obrasce koji su u skladu sa literaturom koja opisuje uticaj zemljišnih uslova i praksi đubrenja na dinamiku kalijuma i natrijuma. Na lokalitetu Tamiš, povećana akumulacija natrijuma i alfa-amino azota, kao i generalno povišen sadržaj natrijuma u većini tretmana, mogu biti povezani sa dostupnošću kalijuma u zemljištu i potencijalnom fiksacijom kalijuma, pri čemu natrijum može delimično zameniti kalijum (Wakeel et al., 2010). Nasuprot tome, na lokalitetu Novi Sad uočen je povećan sadržaj kalijuma u korenu repe kod svih tretmana, što je u skladu sa poznatom vezom između većeg usvajanja kalijuma, povećane koncentracije saharoze i smanjenog sadržaja vode u korenu (Tsialtas and Maslaris, 2009). Obogaćenje kalijumom i natrijumom u većini tretmana verovatno je doprinelo održavanju sličnog procenta šećera između lokaliteta, uprkos razlikama u prinosu, što je u skladu sa navodima da oba elementa mogu povećati sadržaj šećera i smanjiti nivo alfa-amino azota (Tsialtas and Maslaris, 2009). Međutim, prekomerno usvajanje natrijuma, kao što je uočeno kod tretmana T1 na oba lokaliteta, može objasniti niži sadržaj šećera uprkos poboljšanoj mineralnoj ishranjenosti, što je u skladu sa negativnim efektima visokog sadržaja natrijuma na prinos u povoljnim agroekološkim uslovima (Tsialtas and Maslaris, 2009). Značajno je da su dva konzorcijuma, T9 (*B. subtilis* KO3-18 + *M. theicola* KO3-44) i T10 (*B. halotolerans* C3-16/2.1 + *M. theicola* KO3-44), istovremeno povećala i sadržaj šećera i prinos korena, čime su prevazišli uobičajeni kompromis koji se često uočava u proizvodnji šećerne repe. Ovaj dvostruki efekat verovatno je posledica komplementarnih PGP osobina ovih izolata, kao i njihove sposobnosti da u ko-kulturi dodatno unaprede funkcije poput produkcije IAA, pektinaza i siderofora. Ovakve sinergističke interakcije naglašavaju potencijal konzorcijuma zasnovanih na funkcionalnoj kompatibilnosti da ostvare značajne agronomske koristi.

5.9 Analiza genoma selektovanih sojeva šećerne repe

AntiSMASH analiza pokazala je da *Bacillus* sojevi obuhvaćeni ovom disertacijom poseduju širok spektar biosintetičkih genskih klastera uključenih u sintezu sekundarnih metabolita značajnih za biokontrolnu aktivnost, antimikrobno delovanje, kompeticiju i kolonizaciju biljnih tkiva. Kod svih *Bacillus* izolata identifikovani su klasteri za produkciju fengicina, surfaktina i bacilizina, metabolita koji su u literaturi dobro poznati po svojoj ulozi u suzbijanju fitopatogena i stabilizaciji rizosfernih mikrobioloških zajednica. Fengicin i surfaktin deluju prvenstveno narušavanjem integriteta i propustljivosti fungalnih ćelijskih membrana, što dovodi do povećane permeabilnosti membrane, bubrenja ćelija i njihove lize, pri čemu je fengicin posebno efikasan protiv filamentoznih gljiva, uključujući vrste roda *Fusarium* (Dimkić et al., 2022). Pored toga, bacilizin doprinosi antimikrobnoj aktivnosti *Bacillus* izolata inhibicijom sinteze ćelijskog zida bakterija i gljiva, što predstavlja važan mehanizam biološke kontrole biljnih bolesti (Dimkić et al., 2022). Dodatno, kod *B. subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18 identifikovani su biosintetički klasteri za produkciju subtilozina A i subtilomicina, bakteriocina tipičnih za ovu vrstu, koji su poznati po izraženoj antibakterijskoj aktivnosti prema Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama (Shelburne et al., 2007; Phelan et al., 2013). Takođe, dokumentovano je da subtilomicin koji proizvodi endofitni soj *B. subtilis* BSn5 može da veže sopstveni flagelin i na taj način ublaži flg22-

indukovani odbrambeni odgovor biljke, čime se omogućava uspješnija endofitna kolonizacija različitih biljnih domaćina (Deng et al., 2019). Takođe, klaster za sintezu subtilozina A detektovan je i kod *B. halotolerans* C3-16/2.1. Specifičnosti *Bacillus* sojeva dodatno su potvrđene prisustvom poliketidnih biosintetičkih puteva. *B. subtilis* KO3-18 i *B. halotolerans* C3-16/2.1 dele klaster za produkciju bacilajena, poliketida sa antibakterijskom aktivnošću (Dimkić et al., 2022). Nasuprot tome, *B. velezensis* C3-19, koji je u literaturi prepoznat kao jedan od najefikasnijih biokontrolnih *Bacillus* sojeva, poseduje klastere za produkciju poliketida dificidina i makrolaktina, jedinjenja poznatih po snažnom antibakterijskom delovanju i pospešivanju ISR-a kod biljaka (Dimkić et al., 2022).

Analiza genoma svih ispitivanih izolata pokazuje jasnu razliku između stvarnog, funkcionalno relevantnog potencijala za antimikrobnu rezistenciju i prisustva udaljenih homolognih sekvenci koje same po sebi ne ukazuju na fenotipsku antimikrobnu rezistenciju. U tom kontekstu, rezultati ukazuju da su u većini izolata detektovani samo evolutivno konzervirani, hromozomski kodirani geni ili regulatori, bez dokaza o stečenim, mobilnim ili klinički relevantnim AMR determinantama. Za *B. subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18, detektovani geni, kao što su *bmr/blt*-tip efluks transportera, *vmlR* ABCF ribozomska zaštita, kao i *mphK* i *mprF*, uklapaju se u poznate, pretežno hromozomski kodirane mehanizme urođene tolerancije/rezistencije kod *B. subtilis*. Efluksne pumpe koje obezbeđuju rezistenciju na strukturno različite supstrate Bmr i Blt su eksperimentalno opisane u *B. subtilis* (Ahmed et al., 1995). VmlR je hromozomski kodirana ABCF ATP-aza koja kod *B. subtilis* omogućava rezistenciju na PLSA antibiotike (pleuromutiline, linkozamide i streptogramine tipa A) (Takada et al., 2022). CARD anotacija dodatno podržava da *mphK* kodira makrolid-fosfotransferazu identifikovanu u *B. subtilis* (Pawlowski et al., 2018), dok *mprF* kodira efektor membranskog mehanizama tolerancije na katjonske antimikrobne peptide. U proceni bezbednosti, ključni kriterijum predstavlja odsustvo stečenih, klinički relevantnih gena antimikrobne rezistencije, što je princip koji je eksplicitno istaknut u okviru Evropske agencije za bezbednost hrane. Kako su svi identifikovani geni antimikrobne rezistencije u ispitivanom soju *B. subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18 hromozomski kodirani i odgovaraju urođenim mehanizmima rezistencije, njihovo prisustvo ne predstavlja bezbednosni rizik, jer urođeni geni rezistencije imaju nizak rizik horizontalnog prenosa i smatraju se zanemarljivom pretnjom po životnu sredinu (Nøhr-Meldgaard et al., 2022). Iako su integrativni i konjugativni elementi (*eng. Integrative and conjugative elements*, ICE), kao što je ICEBs1, opisani kod pojedinih sojeva *B. subtilis* (Bose and Grossman, 2011), njihovo odsustvo u genomu ispitivanog soja ukazuje na izostanak potencijala za horizontalni prenos rezistencije i podržava ekološku bezbednost njegove primene.

Sveukupno, rezultati ove doktorske disertacije potvrđuju da integracija diverzitetских, funkcionalnih i genomskih pristupa predstavlja pouzdanu osnovu za racionalan dizajn efikasnih i stabilnih mikrobnih bioformulacija namenjenih održivoj poljoprivredi. Poseban doprinos ove disertacije ogleda se u primeni modela pregleda funkcionalnosti zajednice, koji omogućava prediktivnu i ciljanu selekciju kompatibilnih mikroorganizama sa najvećim funkcionalnim potencijalom, čime se prevazilaze ograničenja tradicionalnih empirijskih pristupa u razvoju mikrobnih konzorcijuma. Dobijeni rezultati imaju značajan translacioni i aplikativni potencijal, jer izdvojeni izolati i konzorcijumi predstavljaju perspektivne kandidate za razvoj komercijalnih bioinokulanata i biopesticida namenjenih unapređenju prinosa, kvaliteta useva i zaštite biljaka uz smanjenu upotrebu hemijskih pesticida i mineralnih inputa. Na taj način, ova disertacija daje doprinos boljem razumevanju interakcija biljka–mikrobiom i predstavlja važan korak ka razvoju novih generacija mikrobioloških preparata za savremenu, ekološki prihvatljivu i klimatski održivu poljoprivredu.

6. ZAKLJUČCI

1. Diverzitet bakterija i struktura mikrobioloških zajednica povezanih sa šećernom repom i pšenicom značajno zavise od sorte biljaka, tipa analiziranog uzorka (koren, seme ili rizosfera) i genotipa domaćina.

2. Metabarkoding analiza semena šećerne repe pokazala je konzistentan obrazac diverziteta u skladu sa kultivabilnim pristupom, pri čemu je viši alfa diverzitet zabeležen kod hibrida Eduarda, Koala i Tibor na svim taksonomskim nivoima, dok je Tajfun imao najniži alfa diverzitet i bogatstvo vrsta. Analiza beta diverziteta pokazala je jasno odvajanje hibrida KO i TF u odnosu na hibride ED, T i *Cercospora*-otporni hibrid, kako na ASV nivou, tako i na nivou roda, što ukazuje na značajne razlike u strukturi mikrobioma semena između genotipova. Na taksonomskom nivou, razdeo *Proteobacteria* bio je dominantan kod svih pet hibrida, dok je rod *Pantoea* bio najzastupljeniji predstavnik mikrobioma semena. Analizom diferencijalne zastupljenosti identifikovana su 23 taksona koja su bila statistički značajno obogaćena u pojedinim hibridima, što dodatno potvrđuje izražen genotipski efekat domaćina na strukturu bakterijskih zajednica u semenu.

3. Hibridi šećerne repe razlikovali su se u nivou kultivabilnog diverziteta, pri čemu je Eduarda imala najveći diverzitet u semenu, a Tibor u korenu, dok je samo Tibor pokazao potpuni izostanak preklapanja vrsta između korena, rizosfere i semena. Zajedničke bakterijske vrste detektovane su između hibrida u semenu (*Bacillus subtilis*) i rizosferi (*Lysinibacillus macroides*), dok u korenu nije postojala nijedna zajednička vrsta između pet ispitivanih hibrida, što ukazuje na snažnu selektivnu ulogu korena.

4. Ispitivanjem kultivabilnog bakteriobioma pšenice nije zabeležena zajednička vrsta u rizosferi različitih sorti, dok je u korenu prisustvo *Agrobacterium tumefaciens* bilo zajedničko za ispitivane genotipove. Sorta Modern ispoljila je najveći kultivabilni bakterijski diverzitet kako u korenu tako i u rizosferi, što ukazuje na snažan uticaj genotipa domaćina na oblikovanje mikrobioloških zajednica.

5. Bakterijski izolati poreklom iz šećerne repe i pšenice ispoljili su širok spektar osobina značajnih za promociju rasta biljaka, uključujući PGP potencijal, produkciju hidrolitičkih enzima, toleranciju na abiotičke faktore i antifungalnu aktivnost. Analiza tolerancije na toksične metale pokazala je da su izolati najtolerantniji na olovo-hlorid, umereno tolerantni na kobalt-nitrat i kadmijum-nitrat, dok se živa-hlorid izdvojila kao najtoksičniji metal. Pri tome su samo izolati *Bacillus subtilis* poreklom iz šećerne repe i pšenice ispoljili podjednaku tolerantnost na živa-hlorid pri koncentraciji od 0,008%. U pogledu antagonističkog potencijala, izolat *Bacillus velezensis* T2-23 pokazao je najvišu i statistički značajnu efikasnost u suzbijanju proliferacije većeg broja patogenih *Fusarium*, zatim slede *B. velezensis* C3-19, *B. velezensis* ED2-2 i *B. subtilis* TF2-1. Kao statistički najznačajniji antagonisti *Cercospora beticola* izdvojeni su izolati C3-19 i T2-23. Među izolatima poreklom iz pšenice, statistički najznačajniju antagonističku aktivnost prema vrstama roda *Fusarium* pokazali su *B. velezensis* MP10-7 i *P. glycanilyticus* MP10-20.

6. Metabarkoding analiza korena i rizosfere iz *in planta* testova pokazala je da je diverzitet bakterija izrazito zavisio od primenjenog tretmana i vremena uzorkovanja. Dok je kod kontrolnih biljaka, kao i kod tretmana Mix1 i Mix2, zabeležen postepen pad diverziteta bakterija do kraja perioda uzorkovanja, primena konzorcijuma Mix3 doprinela je povećanju diverziteta i očuvanju stabilnosti mikrobioma. Ovaj efekat se ogleda u oporavku rodova *Bacillus*, *Opitutus*, *Geobacillus*, *Planctomicrobium*, *Hydrogenospora*, *Hydrogenophaga*, *Kribbella* i *Streptomyces*, koji su u preostalim tretmanima uglavnom ispoljavali opadajuće trendove tokom vremena.

7. *Curtobacterium pusillum* ED2-6 potvrđen je kao stabilan i pouzdan endofit šećerne repe, s obzirom na to da je prvobitno izolovan iz korena hibrida Eduarda i da je uspešno ponovo kolonizovao koren šećerne repe hibrida Koala. Ostali izolati, poreklom iz semena i korena različitih hibrida šećerne repe, uspešno su kolonizovali rizosferu hibrida Koala, što ukazuje na visok stepen adaptabilnosti, kompatibilnosti i funkcionalne plastičnosti u interakciji sa različitim genotipovima domaćina.

8. Model pregleda funkcionalnosti zajednice pokazao se efikasnijim u selekciji i formiranju konzorcijuma u poređenju sa tradicionalnim pristupima, kako kod izolata iz šećerne repe, tako i kod izolata iz pšenice, uspešno identifikujući kombinacije sa najvećim potencijalom za ispoljavanje željenih funkcija. Dvočlani konzorcijumi i monokulture pokazali su bolju efikasnost kolonizacije i stabilniji učinak u *in planta* i uslovima oglada u polju u odnosu na višekomponentne konzorcijume.

9. U *in planta* ogledima šećerne repe svi pojedinačni testirani izolati pokazali su pozitivan uticaj na suhu masu nadzemnog dela biljke u poređenju sa kontrolom, pri čemu su najizraženiji efekti zabeleženi kod izolata *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18, *B. velezensis* C3-19 i *Paenibacillus polymyxa* C3-36, dok je među konzorcijumima tretman Mix2 ostvario najpovoljniji učinak u odnosu na kontrolu. Dvočlani konzorcijum Tp14, sastavljen od *Serratia oryzae* MP6-36 i *Bacillus halotolerans* MP9-8, doveo je do statistički najznačajnijeg povećanja svih ispitivanih parametara pšenice, izuzev dužine korena, kod koje je, iako nešto slabiji u poređenju sa tretmanom Tp8, zabeležen značajan porast od 64%.

10. Uticaj primenjenih konzorcijuma na suhu masu korena i prinos na kraju vegetacione sezone šećerne repe varirao je u zavisnosti od vremena uzorkovanja i oglednog polja, što ukazuje na dinamičnu reakciju biljaka zavisnu od lokaliteta. Tretmani koji su u prvom uzorkovanju doveli do povećanja mase nadzemnog dela biljke pokazali su i pozitivan uticaj na konačan prinos u odnosu na kontrolu. Iako je kod većine tretmana uočen negativan odnos između prinosa i sadržaja šećera, konzorcijumi T9 (Novi Sad) i T10 (Tamiš) izdvojili su se kao jedini koji su istovremeno unapredili oba parametra. Rezultati takođe ukazuju da povećanje biomase nije nužno povezano sa većim diverzitetom bakterija, već prvenstveno zavisi od funkcionalne komplementarnosti članova konzorcijuma.

11. Infekcija fitoplazmom dovela je do izraženih promena u mikrobiomu korena i rizosfere šećerne repe, pri čemu je u korenu zabeleženo obogaćenje rodova *Skermanella* i *Blastococcus*, dok je u rizosferi došlo do obogaćenja roda *Arthrobacter*. Primena konzorcijuma Mix3 delimično je ublažila ove patogenom indukovane promene u rizosferi, smanjujući relativnu zastupljenost *Skermanella* i *Microvirga*, a povećavajući zastupljenost *Pseudarthrobacter*, *Streptomyces*, *Acetobacter* i *Kozakia*. Premda, Mix3 u korenu nije imao izražen supresivni efekat na fitoplazmom obogaćene taksone, doveo je do obogaćenja roda *Kocuria*. Takođe, Mix3 je doprineo obogaćivanju više bakterijskih taksona povezanih sa PGP i biokontrolnim osobinama u korenu i u rizosferi.

12. Visoka zastupljenost taksona 'Candidatus Phytoplasma' i *Macrophomina* u uzorku Koren+Fito+Mix3 pokazala je da Mix3 nije bio dovoljan da u potpunosti spreči prisustvo fitoplazme niti da onemogući sekundarnu kolonizaciju roda *Macrophomina*, što ukazuje na ograničen domet Mix3 pod uslovima snažnog patogenog pritiska. Nasuprot tome, Mix3 pokazao je izraženu sposobnost supresije *Cercospora* iz rizosfere, što predstavlja dodatni zaštitni efekat mikrobiološkog konzorcijuma pod patogenim pritiskom.

13. Na osnovu filogenije i rezultata ANI analize, ispitivani sojevi su pouzdano identifikovani na nivou vrste. Utvrđeno je da sojevi pripadaju vrstama *Bacillus halotolerans* C3-16/2.1, *Bacillus velezensis* C3-19, *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18, *Pseudomonas oryzae* KO3-19 i *Duffyella gerundensis* KO3-44, čime je potvrđena njihova filogenetska pripadnost. AntiSMASH

analiza pokazala je da ispitivani izolati *B. subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18, *B. halotolerans* C3-16/2.1 i *B. velezensis* C3-19 poseduju genske klastere za produkciju siderofora, kao i za neribozomalnu i ribozomalnu sintezu antimikrobnih peptida i poliketida, dok su kod izolata *P. oryzae* KO3-19 i *D. gerundensis* KO3-44 identifikovani klasteri za produkciju metalofora i karotenoida.

14. Na osnovu ukupnih rezultata, za dalja istraživanja i potencijalnu komercijalizaciju izdvojeni su sojevi *Curtobacterium citreum/oceanosedimentum* MP6-33 i *S. oryzae* MP6-36, kao i konzorcijum (*S. oryzae* MP6-36 i *B. halotolerans* MP9-8) za ispitivanje uticaja na rast i prinos poljoprivrednih kultura u polju. Za potrebe biokontrole posebno su se izdvojili *P. glycanilyticus* MP10-20 i *B. velezensis* T2-23, dok je konzorcijum Mix3 pokazao visok potencijal u suzbijanju *Cercospora beticola*. Pored toga, izolat *B. halotolerans* C3-16/2.1 identifikovan je kao perspektivan kandidat za primenu u uslovima abiotskog stresa pri povišenim koncentracijama soli.

7. LITERATURA

- Abarenkov, K., Zirk, A., Piirmann, T., Pöhönen, R., Ivanov, F., Nilsson, R.H., Kõljalg, U., 2024. UNITE QIIME release for Fungi (version 04.04.2024). UNITE Community. <https://doi.org/10.15156/BIO/2959336>
- Abbas, S., Javed, M.T., Shahid, M., Hussain, I., Haider, M.Z., Chaudhary, H.J., Tanwir, K., Maqsood, A., 2020. *Acinetobacter* sp. SG-5 inoculation alleviates cadmium toxicity in differentially Cd tolerant maize cultivars as deciphered by improved physio-biochemical attributes, antioxidants and nutrient physiology. *Plant Physiol. Biochem. PPB* 155, 815–827. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.08.024>
- Abdelghany, W.R., Yassin, A.S., Abu-Ellail, F.F.B., Al-Khalaf, A.A., Omara, R.I., Hozzein, W.N., 2024. Combatting sugar beet root rot: *Streptomyces* strains efficacy against *Fusarium oxysporum*. *Plants* 13. <https://doi.org/10.3390/plants13020311>
- Ahmed, M., Lyass, L., Markham, P.N., Taylor, S.S., Vázquez-Laslop, N., Neyfakh, A.A., 1995. Two highly similar multidrug transporters of *Bacillus subtilis* whose expression is differentially regulated. *J. Bacteriol.* 177, 3904–3910. <https://doi.org/10.1128/jb.177.14.3904-3910.1995>
- Ajjah, N., Fiodor, A., Pandey, A.K., Rana, A., Pranaw, K., 2023. Plant growth-promoting bacteria (PGPB) with biofilm-forming ability: A multifaceted agent for sustainable agriculture. *Diversity* 15, 112. <https://doi.org/10.3390/d15010112>
- 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. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01639>
- Alcock, B.P., Huynh, W., Chalil, R., Smith, K.W., Raphenya, A.R., Wlodarski, M.A., Edalatmand, A., Petkau, A., Syed, S.A., Tsang, K.K., Baker, S.J.C., Dave, M., McCarthy, M.C., Mukiri, K.M., Nasir, J.A., Golbon, B., Imtiaz, H., Jiang, X., Kaur, K., Kwong, M., Liang, Z.C., Niu, K.C., Shan, P., Yang, J.Y.J., Gray, K.L., Hoad, G.R., Jia, B., Bhandu, T., Carfrae, L.A., Farha, M.A., French, S., Gordzevich, R., Rachwalski, K., Tu, M.M., Bordeleau, E., Dooley, D., Griffiths, E., Zubyk, H.L., Brown, E.D., Maguire, F., Beiko, R.G., Hsiao, W.W.L., Brinkman, F.S.L., Van Domselaar, G., McArthur, A.G., 2023. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res.* 51, D690–D699. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac920>
- Ali, S.Z., Sandhya, V., Venkateswar Rao, L., 2013. Isolation and characterization of drought-tolerant ACC deaminase and exopolysaccharide-producing fluorescent *Pseudomonas* sp. *Ann. Microbiol.* 1–10.
- Almalkawi, N., Farkas, M., Márton, D., Pápai, M., Amara, I., Takács, S., Daood, H., Tánicsics, A., Tajti, K., Wirth, R., Maróti, G., Cserhádi, M., Kriszt, B., 2025. Plant growth-promoting effect of *Kocuria* sp. and *Brevibacillus* sp. strains on tomato under different irrigation conditions. *Front. Sustain. Food Syst.* 9. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2025.1712126>
- Almirón, C., Petitti, T.D., Ponso, M.A., Romero, A.M., Areco, V.A., Bianco, M.I., Espariz, M., Yaryura, P.M., 2025. Functional and genomic analyses of plant growth promoting traits in *Priestia aryabhatai* and *Paenibacillus* sp. isolates from tomato rhizosphere. *Sci. Rep.* 15, 3498. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87390-0>
- Anderson, M.J., 2006. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics* 62, 245–253. <https://doi.org/10.1111/j.1541-0420.2005.00440.x>
- Andrews, S., 2010. A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data.
- Arhin, A., Foriska, I., Wiegand, S., Brown, K., Crayne, K., Stroschio, K., Mohan, R., 2025. Comparative analysis of endophytic *Curtobacterium* species reveals commonalities and adaptations. <https://doi.org/10.20944/preprints202502.0276.v1>
- Ayilara, M.S., Adeleke, B.S., Akinola, S.A., Fayose, C.A., Adeyemi, U.T., Gbadegesin, L.A., Omole, R.K., Johnson, R.M., Uthman, Q.O., Babalola, O.O., 2023. Biopesticides as a

- promising alternative to synthetic pesticides: A case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. *Front. Microbiol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1040901>
- Baldani, J.I., Reis, V.M., Videira, S.S., Boddey, L.H., Baldani, V.L.D., 2014. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant Soil* 384, 413–431. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6>
- Barrett, T., Dowle, M., Srinivasan, A., Gorecki, J., Chirico, M., Hocking, T., Schwendinger, B., Krylov, I., 2026. data.table: Extension of data.frame. R package version 1.18.99, <https://r-datatable.com>.
- Ben Slama, H., Cherif-Silini, H., Bouket, A., Qader, M., Silini, A., Yahiaoui, B., Alenezi, F., Luptakova, L., Triki, M., Vallat, A., Oszako, T., Rateb, M., Lassaad, B., 2019. Screening for *Fusarium* antagonistic bacteria from contrasting niches designated the endophyte *Bacillus halotolerans* as plant warden against *Fusarium*. *Front. Microbiol.* 9.
- Benmalek, Y., Halouane, A., Hacene, H., Fardeau, M.-L., 2014. Resistance to heavy metals and bioaccumulation of lead and zinc by *Chryseobacterium solincola* strain 1YB-R12T isolated from soil. *Int. J. Environ. Eng.* 6, 68–77. <https://doi.org/10.1504/IJEE.2014.057832>
- Berg, G., Köberl, M., Rybakova, D., Müller, H., Grosch, R., Smalla, K., 2017. Plant microbial diversity is suggested as the key to future biocontrol and health trends. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93, fix050. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix050>
- Berg, G., Rybakova, D., Grube, M., Köberl, M., 2016. The plant microbiome explored: implications for experimental botany. *J. Exp. Bot.* 67, 995–1002. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv466>
- Berić, T., Urdaci, M.C., Stanković, S., Knežević-Vukčević, J., 2009. RAPD analysis of genetic diversity and qualitative assessment of hydrolytic activities in a collection of *Bacillus* sp. isolate. *Arch. Biol. Sci.* 61, 645–652.
- Bertoldo, G., Lucia, M.C.D., Squartini, A., Concheri, G., Broccanello, C., Romano, A., Ravi, S., Cagnin, M., Baglieri, A., Stevanato, P., Bertoldo, G., Lucia, M.C.D., Squartini, A., Concheri, G., Broccanello, C., Romano, A., Ravi, S., Cagnin, M., Baglieri, A., Stevanato, P., 2021. Endophytic microbiome responses to sulfur availability in *Beta vulgaris* (L.). *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22137184>
- Bhatta, D., Adhikari, A., Kang, S.-M., Kwon, E.-H., Jan, R., Kim, K.-M., Lee, I.-J., 2023. Hormones and the antioxidant transduction pathway and gene expression, mediated by *Serratia marcescens* DB1, lessen the lethality of heavy metals (As, Ni, and Cr) in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 263, 115377. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115377>
- Blin, K., Shaw, S., Vader, L., Szenei, J., Reitz, Z.L., Augustijn, H.E., Cediél-Becerra, J.D.D., de Crécy-Lagard, V., Koetsier, R.A., Williams, S.E., Cruz-Morales, P., Wongwas, S., Segurado Luchsinger, A.E., Biermann, F., Korenskaia, A., Zdouc, M.M., Meijer, D., Terlouw, B.R., van der Hooft, J.J.J., Ziemert, N., Helfrich, E.J.N., Masschelein, J., Corre, C., Chevrette, M.G., van Wezel, G.P., Medema, M.H., Weber, T., 2025. antiSMASH 8.0: extended gene cluster detection capabilities and analyses of chemistry, enzymology, and regulation. *Nucleic Acids Res.* 53, W32–W38. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaf334>
- Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., Alexander, H., Alm, E.J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J.E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C.J., Brown, C.T., Callahan, B.J., Caraballo-Rodríguez, A.M., Chase, J., Cope, E.K., Da Silva, R., Diener, C., Dorrestein, P.C., Douglas, G.M., Durall, D.M., Duvall, C., Edwardson, C.F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J.M., Gibbons, S.M., Gibson, D.L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G.A., Janssen, S., Jarmusch, A.K., Jiang, L., Kaehler, B.D., Kang, K.B., Keefe, C.R., Keim, P., Kelley, S.T., Knights, D., Koester, I., Kosciulek, T., Kreps, J., Langille, M.G.I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y.X., Lofffield, E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B.D., McDonald, D., McIver, L.J., Melnik, A.V., Metcalf, J.L., Morgan, S.C.,

- Morton, J.T., Naimey, A.T., Navas-Molina, J.A., Nothias, L.F., Orchanian, S.B., Pearson, T., Peoples, S.L., Petras, D., Preuss, M.L., Pruesse, E., Rasmussen, L.B., Rivers, A., Robeson, M.S., Rosenthal, P., Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A., Sinha, R., Song, S.J., Spear, J.R., Swafford, A.D., Thompson, L.R., Torres, P.J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P.J., Ul-Hasan, S., van der Hoof, J.J.J., Vargas, F., Vázquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., von Hippel, M., Walters, W., Wan, Y., Wang, M., Warren, J., Weber, K.C., Williamson, C.H.D., Willis, A.D., Xu, Z.Z., Zaneveld, J.R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight, R., Caporaso, J.G., 2019. Author Correction: Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 (Nature Biotechnology, (2019), 37, 8, (852-857), 10.1038/s41587-019-0209-9). Nat. Biotechnol. 37, 1091. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0252-6>
- Bonin, N., Doster, E., Worley, H., Pinnell, L.J., Bravo, J.E., Ferm, P., Marini, S., Prospero, M., Noyes, N., Morley, P.S., Boucher, C., 2023. MEGARes and AMR++, v3.0: an updated comprehensive database of antimicrobial resistance determinants and an improved software pipeline for classification using high-throughput sequencing. Nucleic Acids Res. 51, D744–D752. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1047>
- Borker, S.S., Thakur, A., Kumar, Sanjeet, Kumari, S., Kumar, R., Kumar, Sanjay, 2021. Comparative genomics and physiological investigation supported safety, cold adaptation, efficient hydrolytic and plant growth-promoting potential of psychrotrophic *Glutamicibacter arilaitensis* LJH19, isolated from night-soil compost. BMC Genomics 22, 307. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07632-z>
- Bose, B., Grossman, A.D., 2011. Regulation of horizontal gene transfer in *Bacillus subtilis* by activation of a conserved site-specific protease. J. Bacteriol. 193, 22–29. <https://doi.org/10.1128/jb.01143-10>
- Brader, G., Compant, S., Mitter, B., Trognitz, F., Sessitsch, A., 2014. Metabolic potential of endophytic bacteria. Curr. Opin. Biotechnol. 27, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.012>
- Brambilla, S., Stritzler, M., Soto, G., Ayub, N., 2022. A synthesis of functional contributions of rhizobacteria to growth promotion in diverse crops. Rhizosphere 24, 100611. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2022.100611>
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A., Holmes, S.P., 2016. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nat. Methods 13, 581–583. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
- Carrión, V.J., Perez-Jaramillo, J., Cordovez, V., Tracanna, V., de Hollander, M., Ruiz-Buck, D., Mendes, L.W., van Ijcken, W.F.J., Gomez-Exposito, R., Elsayed, S.S., Mohanraju, P., Arifah, A., van der Oost, J., Paulson, J.N., Mendes, R., van Wezel, G.P., Medema, M.H., Raaijmakers, J.M., 2019. Pathogen-induced activation of disease-suppressive functions in the endophytic root microbiome. Science 366, 606–612. <https://doi.org/10.1126/science.aaw9285>
- Carroll, L.M., Cheng, R.A., Kovac, J., 2020. No assembly required: Using BTyp3 to assess the congruency of a proposed taxonomic framework for the *Bacillus cereus* group with historical typing methods. Front. Microbiol. 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580691>
- Chang, Y.-C., Zouari, M., Gogorcena, Y., Lucena, J.J., Abadía, J., 2003. Effects of cadmium and lead on ferric chelate reductase activities in sugar beet roots. Plant Physiol. Biochem. 41, 999–1005. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2003.07.007>
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., Gu, J., 2018. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. Bioinformatics 34, i884–i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
- Chien, C.-C., Lin, B.-C., Wu, C.-H., 2013. Biofilm formation and heavy metal resistance by an environmental *Pseudomonas* sp. Biochem. Eng. J., Biorefineries, Biomaterials, and bio-based functional chemicals 78, 132–137. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2013.01.014>
- Cillero, J.I., Henríquez, P.A., Ledger, T.W., Ruz, G.A., González, B., 2022. Individual competence predominates over host nutritional status in *Arabidopsis* root exudate-mediated bacterial

- enrichment in a combination of four *Burkholderiaceae* species. *BMC Microbiol.* 22, 218. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02633-8>
- Compant, S., Samad, A., Faist, H., Sessitsch, A., 2019. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *J. Adv. Res., Special Issue on Plant Microbiome* 19, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.03.004>
- Cui, R., Geng, G., Wang, G., Stevanato, P., Dong, Y., Li, T., Yu, L., Wang, Y., 2022. The response of sugar beet rhizosphere micro-ecological environment to continuous cropping. *Front. Microbiol.* 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.956785>
- Deng, Y., Chen, H., Li, C., Xu, J., Qi, Q., Xu, Y., Zhu, Y., Zheng, J., Peng, D., Ruan, L., Sun, M., 2019. Endophyte *Bacillus subtilis* evade plant defense by producing lantibiotic subtilomycin to mask self-produced flagellin. *Commun. Biol.* 2, 368. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0614-0>
- Diaz-Colunga, J., Skwara, A., Gowda, K., Diaz-Uriarte, R., Tikhonov, M., Bajic, D., Sanchez, A., 2023. Global epistasis on fitness landscapes. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 378, 20220053. <https://doi.org/10.1098/rstb.2022.0053>
- Diaz-Colunga, J., Skwara, A., Vila, J.C.C., Bajic, D., Sanchez, A., 2024. Global epistasis and the emergence of function in microbial consortia. *Cell* 187, 3108-3119.e30. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.04.016>
- Dimkić, I., Berić, T., Stević, T., Pavlović, S., Šavikin, K., Fira, D., Stanković, S., 2015. Additive and synergistic effects of *Bacillus* spp. isolates and essential oils on the control of phytopathogenic and saprophytic fungi from medicinal plants and marigold seeds. *Biol. Control* 87, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.04.011>
- Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović, M., Degrassi, G., Fira, D., 2022. Plant-associated *Bacillus* and *Pseudomonas* antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms - A review. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 117, 101754. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101754>
- Dimkić, I., Jelušić, A., Kruščić, K., Janakiev, T., 2023. Pathobiome and microbial community shifts associated with vegetable, fruit, and cereal crops, in: Verma, P.K., Mishra, S., Srivastava, V., Mehrotra, S. (Eds.), *Plant Pathogen Interaction*. Springer Nature, Singapore, pp. 237–258. https://doi.org/10.1007/978-981-99-4890-1_9
- Duduk, N., Vico, I., Kosovac, A., Stepanović, J., Čurčić, Ž., Vučković, N., Rekanović, E., Duduk, B., 2023. A biotroph sets the stage for a necrotroph to play: ‘*Candidatus* Phytoplasma solani’ infection of sugar beet facilitated *Macrophomina phaseolina* root rot. *Front. Microbiol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1164035>
- Fanai, A., Bohia, B., Lalremruati, F., Lalhriatpuii, N., Lalrokimi, Lalmuanpuii, R., Singh, P.K., Zothanpuia, 2024. Plant growth promoting bacteria (PGPB)-induced plant adaptations to stresses: an updated review. *PeerJ* 12, e17882. <https://doi.org/10.7717/peerj.17882>
- Farhaoui, A., Adadi, A., Tahiri, A., El Alami, N., Khayi, S., Mentag, R., Ezrari, S., Radouane, N., Mokri, F., Belabess, Z., Lahlali, R., 2022. Biocontrol potential of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) against *Sclerotium rolfsii* diseases on sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 119, 101829. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2022.101829>
- Feldgarden, M., Brover, V., Gonzalez-Escalona, N., Frye, J.G., Haendiges, J., Haft, D.H., Hoffmann, M., Pettengill, J.B., Prasad, A.B., Tillman, G.E., Tyson, G.H., Klimke, W., 2021. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Sci. Rep.* 11, 12728. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91456-0>
- Fierer, N., Bradford, M.A., Jackson, R.B., 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88, 1354–1364. <https://doi.org/10.1890/05-1839>
- Florensa, A.F., Kaas, R.S., Clausen, P.T.L.C., Aytan-Aktug, D., Aarestrup, F.M. 2022. ResFinder - an open online resource for identification of antimicrobial resistance genes in next-generation sequencing data and prediction of phenotypes from genotypes. *Microb Genom.* 8, 000748. [10.1099/mgen.0.000748](https://doi.org/10.1099/mgen.0.000748).

- Friedman, J.H., Hastie, T., Tibshirani, R., 2010. Regularization paths for generalized linear models via coordinate descent. *J. Stat. Softw.* 33, 1–22. <https://doi.org/10.18637/jss.v033.i01>
- Galani, B., Chauhan, J., Gohel, S., 2024. Role of rhizospheric microbial enzymes in plant growth promotion, antagonism, and sustainable agriculture: A review. *Trends Hortic.* 7, 4902. <https://doi.org/10.24294/th.v7i2.4902>
- Gamez, R.M., Ramirez, S., Montes, M., Cardinale, M., 2020. Complementary dynamics of banana root colonization by the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus amyloliquefaciens* Bs006 and *Pseudomonas palleroniana* Ps006 at spatial and temporal scales. *Microb. Ecol.* 80, 656–668. <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01571-0>
- Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica* 2012, 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Gordon, S.A., Weber, R.P., 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiol.* 26, 192–195. <https://doi.org/10.1104/pp.26.1.192>
- Gouda, El-Fahar, S.A., El-Shoraky, F.S., 2009. Effect of some essential oils on controlling sugar beet damping-off and root rot diseases caused by many serious soil-borne fungal pathogens in Nile delta region. *J. Plant Prot. Pathol.* 34, 3825–3836. <https://doi.org/10.21608/jppp.2009.166756>
- Gupta, R., Anand, G., Gaur, R., Yadav, D., 2021. Plant–microbiome interactions for sustainable agriculture: a review. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 27, 165–179. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-00927-1>
- Gupta, R., Khan, F., Alqahtani, F.M., Hashem, M., Ahmad, F., 2024. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) assisted bioremediation of heavy metal toxicity. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 196, 2928–2956. <https://doi.org/10.1007/s12010-023-04545-3>
- Gupta, S., Pandey, S., 2019. ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in french bean (*Phaseolus vulgaris*) Plants. *Front. Microbiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01506>
- Gupta, S.K., Padmanabhan, B.R., Diene, S.M., Lopez-Rojas, R., Kempf, M., Landraud, L., Rolain, J.-M., 2014. ARG-ANNOT, a new bioinformatic tool to discover antibiotic resistance genes in bacterial genomes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58, 212–220. <https://doi.org/10.1128/aac.01310-13>
- Gurevich, A., Saveliev, V., Vyahhi, N., Tesler, G., 2013. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics* 29, 1072–1075. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt086>
- Hanson, L., Hill, A., 2004. *Fusarium* species causing *Fusarium* yellows of sugarbeet. *J. Sugar Beet Res.* 41, 163–178. <https://doi.org/10.5274/jsbr.41.4.163>
- Hanson, L.E., 2006. *Fusarium* yellowing of sugar beet caused by *Fusarium graminearum* from Minnesota and Wyoming. *Plant Dis.* 90, 686–686. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0686A>
- Hassan, S.E.-D., 2017. Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L. *J. Adv. Res.* 8, 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.09.001>
- Huang, W., Sun, D., Fu, J., Zhao, H., Wang, R., An, Y., 2020. Effects of continuous sugar beet cropping on rhizospheric microbial communities. *Genes* 11, 13. <https://doi.org/10.3390/genes11010013>
- Huang, X.-X., Xu, L., Shang, J., Sun, J.-Q., 2022. *Marinilactibacillus kalidii* sp. nov., an indole acetic acid-producing endophyte isolated from a shoot of halophyte *Kalidium cuspidatum*. *Curr. Microbiol.* 79, 198. <https://doi.org/10.1007/s00284-022-02894-6>
- Huber, B., Riedel, K., Hentzer, M., Heydorn, A., Gotschlich, A., Givskov, M., Molin, S., Eberl, L., 2001. The cep quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility. *Microbiology* 147, 2517–2528. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-9-2517>

- Ikeda, S., Okazaki, K., Takahashi, H., Tsurumaru, H., Minamisawa, K., 2023. Seasonal shifts in bacterial community structures in the lateral root of sugar beet grown in an Andosol field in Japan. *Microbes Environ.* 38, ME22071. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME22071>
- Ilangumaran, G., Subramanian, S., Smith, D.L., 2024. Complete genome sequences of *Rhizobium* sp. strain SL42 and *Hydrogenophaga* sp. strain SL48, microsymbionts of *Amphicarpaea bracteata*. *Front. Microbiomes* 3. <https://doi.org/10.3389/frmbi.2024.1309947>
- Jain, C., Rodriguez-R, L.M., Phillippy, A.M., Konstantinidis, K.T., Aluru, S., 2018. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. *Nat. Commun.* 9, 5114. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07641-9>
- Jha, C.K., Aeron, A., Patel, B.V., Maheshwari, D.K., Saraf, M., 2011. *Enterobacter*: Role in plant growth promotion, in: Maheshwari, D.K. (Ed.), *Bacteria in agrobiolgy: Plant growth responses*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 159–182. https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9_8
- Karagöz, H., Çakmakçi, R., Hosseinpour, A., Kodaz, S., 2018. Alleviation of water stress and promotion of the growth of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants by multi-traits rhizobacteria. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 16, 6801. https://doi.org/10.15666/aeer/1605_68016813
- Kevrešan, S., Petrović, N., Popović, M., Kandrač, J., 1998. Effect of heavy metals on nitrate and protein metabolism in sugar beet. *Biol. Plant.* 41, 235–240. <https://doi.org/10.1023/A:1001818714922>
- Khakvar, R., Bakhshi, M., Arzanlou, M., Mousavi, S., Bandehagh, A., 2016. Inhibitory effects of antagonistic bacteria inhabiting the rhizosphere of the sugarbeet plants, on *Cercospora beticola* Sacc., the causal agent of *Cercospora* leaf spot disease on sugarbeet. *J. Plant Prot. Res.* 2016 Vol 56 No 1.
- 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. *Front. Microbiol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00744>
- Killer, J., Ročková, Š., Vlková, E., Rada, V., Havlík, J., Kopečný, J., Bunešová, V., Benada, O., Kofroňová, O., Pechar, R., Profousová, I., 2013. *Alloscardovia macacae* sp. nov., isolated from the milk of a macaque (*Macaca mulatta*), emended description of the genus *Alloscardovia* and proposal of *Alloscardovia criceti* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63, 4439–4446. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.051326-0>
- Kim, Y.C., Glick, B.R., Bashan, Y., Ryu, C.-M., 2012. Enhancement of plant drought tolerance by microbes, in: Aroca, R. (Ed.), *Plant responses to drought stress: From morphological to molecular features*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 383–413. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_15
- Kitir Sen, N., Kocaman, A., Aydemir, Ö.E., 2025. The role of chemical fertilizer reduction and different microbial inoculants on yield increase in lettuce cultivation. *BMC Plant Biol.* 25, 981. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06986-w>
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., Glöckner, F.O., 2013. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res.* 41, e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Knežević, M.M., Stajković-Srbinović, O.S., Assel, M., Milić, M.D., Mihajlovski, K.R., Delić, D.I., Buntić, A.V., 2021. The ability of a new strain of *Bacillus pseudomycooides* to improve the germination of alfalfa seeds in the presence of fungal infection or chromium. *Rhizosphere* 18, 100353. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100353>
- Krnjaja, V., Stanković, S., Obradović, A., Petrović, T., Mandić, V., Bijelić, Z., Božić, M., Krnjaja, V., Stanković, S., Obradović, A., Petrović, T., Mandić, V., Bijelić, Z., Božić, M., 2018. Trichotheccene genotypes of *Fusarium graminearum* populations isolated from winter wheat crops in Serbia. *Toxins* 10. <https://doi.org/10.3390/toxins10110460>

- Kulkova, I., Wróbel, B., Dobrzyński, J., 2024. *Serratia* spp. as plant growth-promoting bacteria alleviating salinity, drought, and nutrient imbalance stresses. *Front. Microbiol.* 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1342331>
- Kumar, S., 2012. Biopesticides: A need for food and environmental safety. *J. Biofertilizers Biopestic.* 03. <https://doi.org/10.4172/2155-6202.1000e107>
- Kwong, W.K., Steele, M.I., Moran, N.A., 2018. Genome sequences of *Apibacter* spp., Gut Symbionts of Asian Honey Bees. *Genome Biol. Evol.* 10, 1174–1179. <https://doi.org/10.1093/gbe/evy076>
- L. M. Skivka, S. O. Hudz, 2021. Formation of the eubacterial complex in the rhizosphere of sugar beet (*Beta vulgaris*) under different fertilization systems. *Biotechnol. Acta* 14, 81–87. <https://doi.org/10.15407/biotech14.01.81>
- Lambert, B., Meire, P., Joos, H., Lens, P., Swings, J., 1990. Fast-growing, aerobic, heterotrophic bacteria from the rhizosphere of young sugar beet plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 3375–3381. <https://doi.org/10.1128/aem.56.11.3375-3381.1990>
- Lee, S.Y., Weon, H.Y., Kim, J.J., Han, J.H., 2016. Biocontrol of leaf mustard powdery mildew caused by *Erysiphe cruciferarm* using *Bacillus velezensis* YP2. *Korean J. Pestic. Sci.* 20, 369–374. <https://doi.org/10.7585/kjps.2016.20.4.369>
- Li, H., 2013. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1303.3997>
- Li, M., Yang, F., Wu, X., Yan, H., Liu, Y., 2020. Effects of continuous cropping of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) on its endophytic and soil bacterial community by high-throughput sequencing. *Ann. Microbiol.* 70, 39. <https://doi.org/10.1186/s13213-020-01583-8>
- Lilley, A.K., Fry, J.C., Bailey, M.J., Day, M.J., 1996. Comparison of aerobic heterotrophic taxa isolated from four root domains of mature sugar beet (*Beta vulgaris*). *FEMS Microbiol. Ecol.* 21, 231–242. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1996.tb00350.x>
- Lim, S.J., Bordenstein, S.R., 2020. An introduction to phyllosymbiosis. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 287, 20192900. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2900>
- Lin, H., Peddada, S.D., 2024. Multigroup analysis of compositions of microbiomes with covariate adjustments and repeated measures. *Nat. Methods* 21, 83–91. <https://doi.org/10.1038/s41592-023-02092-7>
- Liu, D., Xu, L., Wang, H., Xing, W., Song, B., Wang, Q., 2024. Root exudates promoted microbial diversity in the sugar beet rhizosphere for organic nitrogen mineralization. *Agriculture* 14, 1094. <https://doi.org/10.3390/agriculture14071094>
- Love, Michael I., Huber, W., Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 15, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Mallick, H., Rahnavard, A., McIver, L.J., Ma, S., Zhang, Y., Nguyen, L.H., Tickle, T.L., Weingart, G., Ren, B., Schwager, E.H., Chatterjee, S., Thompson, K.N., Wilkinson, J.E., Subramanian, A., Lu, Y., Waldron, L., Paulson, J.N., Franzosa, E.A., Bravo, H.C., Huttenhower, C., 2021. Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies. *PLoS Comput. Biol.* 17, e1009442. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1009442>
- Mattarelli, P., Biavati, B., 2015. *Alloscardovia*, in: *Bergey's Manual of systematics of archaea and bacteria.* John Wiley & Sons, Ltd, pp. 1–3. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00018>
- McArdle, B.H., Anderson, M.J., 2001. Fitting multivariate models to community data: A comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology* 82, 290–297. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082%255B0290:FMMTCD%255D2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082%255B0290:FMMTCD%255D2.0.CO;2)
- McMurdie, P.J., Holmes, S., 2013. phyloseq: An R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PLOS ONE* 8, e61217. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061217>
- Medina, P., Baresi, L., 2007. Rapid identification of gelatin and casein hydrolysis using TCA. *J. Microbiol. Methods* 69, 391–393. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.01.005>

- Mimić, G., Živaljević, B., Blagojević, D., Pejak, B., Brdar, S., 2022. Quantifying the effects of drought using the crop moisture stress as an indicator of maize and sunflower yield reduction in Serbia. *Atmosphere* 13, 1880. <https://doi.org/10.3390/atmos13111880>
- Mujakić, I., Cabello-Yeves, P.J., Villena-Aleman, C., Piwosz, K., Rodriguez-Valera, F., Picazo, A., Camacho, A., Koblížek, M., 2023. Multi-environment ecogenomics analysis of the cosmopolitan phylum *Gemmatimonadota*. *Microbiol. Spectr.* 11, e01112-23. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01112-23>
- Murali, A., Bhargava, A., Wright, E.S., 2018. IDTAXA: a novel approach for accurate taxonomic classification of microbiome sequences. *Microbiome* 6, 140. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0521-5>
- Mwangi, F.M., Rüdiger, H., Sikora, R.A., Mutitu, E., 2002. Does HCN from *Pseudomonas fluorescens* isolate T58 contribute in biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*?
- Narayanan, Z., Glick, B.R., 2022. Secondary metabolites produced by plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microorganisms* 10, 2008. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10102008>
- Natsagdorj, O., 2019. Biochemical characteristics and plant tissue localization of plant growth-promoting bacteria isolated from sugar beet (*Beta vulgaris* L.) (PhD Thesis). <https://doi.org/10.15113/00014887>
- Nautiyal, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 170, 265–270. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x>
- Nnaji, N.D., Anyanwu, C.U., Miri, T., Onyeaka, H., Nnaji, N.D., Anyanwu, C.U., Miri, T., Onyeaka, H., 2024. Mechanisms of heavy metal tolerance in bacteria: A Review. *Sustainability* 16. <https://doi.org/10.3390/su162411124>
- Nouioui, I., Carro, L., García-López, M., Meier-Kolthoff, J.P., Woyke, T., Kyrpides, N.C., Pukall, R., Klenk, H.-P., Goodfellow, M., Göker, M., 2018. Genome-based taxonomic classification of the phylum *Actinobacteria*. *Front. Microbiol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02007>
- Nøhr-Meldgaard, K., Struve, C., Ingmer, H., Agersø, Y., 2022. Intrinsic *tet(L)* sub-class in *Bacillus velezensis* and *Bacillus amyloliquefaciens* is associated with a reduced susceptibility toward tetracycline. *Front. Microbiol.* 13, 966016. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.966016>
- Okazaki, K., Iino, T., Kuroda, Y., Taguchi, K., Takahashi, H., Ohwada, T., Tsurumaru, H., Okubo, T., Minamisawa, K., Ikeda, S., 2014. An assessment of the diversity of culturable bacteria from main root of sugar beet. *Microbes Environ.* 29, 220–223. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME13182>
- Panpatte, D.G., 2020. *Providencia vermicola* AAU PR1- A new bioinoculant for agriculture with multiple utility. *Indian J. Pure Appl. Biosci.* 8, 185–194. <https://doi.org/10.18782/2582-2845.8160>
- Panwar, M., Tewari, R., Nayyar, H., 2016. Native halo-tolerant plant growth promoting rhizobacteria *Enterococcus* and *Pantoea* sp. improve seed yield of mungbean (*Vigna radiata* L.) under soil salinity by reducing sodium uptake and stress injury. *Physiol. Mol. Biol. Plants* 22, 445–459. <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0376-9>
- Patel, P., Gajjar, H., Joshi, B., Krishnamurthy, R., Amaresan, N., 2022. Inoculation of salt-tolerant *Acinetobacter* sp (RSC9) improves the sugarcane (*Saccharum* sp. hybrids) growth under salinity stress condition. *Sugar Tech* 24, 494–501. <https://doi.org/10.1007/s12355-021-01043-w>
- Pavoine, S., Dufour, A.-B., Chessel, D., 2004. From dissimilarities among species to dissimilarities among communities: a double principal coordinate analysis. *J. Theor. Biol.* 228, 523–537. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2004.02.014>
- Pawlowski, A.C., Stogios, P.J., Koteva, K., Skarina, T., Evdokimova, E., Savchenko, A., Wright, G.D., 2018. The evolution of substrate discrimination in macrolide antibiotic resistance enzymes. *Nat. Commun.* 9, 112. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02680-0>

- Pérez-Miranda, S., Cabirol, N., George-Téllez, R., Zamudio-Rivera, L.S., Fernández, F.J., 2007. O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. *J. Microbiol. Methods* 70, 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2007.03.023>
- Petrović, M., Janakiev, T., Grbić, M.L., Unković, N., Stević, T., Vukićević, S., Dimkić, I., 2024. Insights into endophytic and rhizospheric bacteria of five sugar beet hybrids in terms of their diversity, plant-growth promoting, and biocontrol properties. *Microb. Ecol.* 87, 19. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02329-0>
- Petrović, M., Bez, C., Janakiev, T., Kruščić, K., Bertani, I., Ćurčić, Ž., Duduk, N., Duduk, B., Venturi, V., Dimkić, I., 2026. Development of bioformulations for sugar beet growth promotion and resilience using tailored microbial consortia, *Microbiol. Res.* 310, , 128540. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2026.128540>.
- Phelan, R.W., Barret, M., Cotter, P.D., O'Connor, P.M., Chen, R., Morrissey, J.P., Dobson, A.D.W., O'Gara, F., Barbosa, T.M., Phelan, R.W., Barret, M., Cotter, P.D., O'Connor, P.M., Chen, R., Morrissey, J.P., Dobson, A.D.W., O'Gara, F., Barbosa, T.M., 2013. Subtilomycin: A new lantibiotic from *Bacillus subtilis* strain MMA7 isolated from the marine sponge *Haliclona simulans*. *Mar. Drugs* 11, 1878–1898. <https://doi.org/10.3390/md11061878>
- Quiza, L., Tremblay, J., Pagé, A.P., Greer, C.W., Pozniak, C.J., Li, R., Haug, B., Hemmingsen, S.M., St-Arnaud, M., Yergeau, E., 2023. The effect of wheat genotype on the microbiome is more evident in roots and varies through time. *ISME Commun.* 3, 32. <https://doi.org/10.1038/s43705-023-00238-4>
- Rahman, S., Surovy, M.Z., Vosteen, I., Rostás, M., 2026. Metabolic trade-offs in sugar beet under drought and beet leaf miner infestation: implications for herbivore success. <https://doi.org/10.64898/2026.03.01.708914>
- Ramyabharathi, S., Raguchander, T., 2014. Mode of action of *Bacillus subtilis* EPCO16 against tomato *Fusarium* wilt. *Biochem. Cell. Arch.* 14, 47-50.
- Reetha, A.K., Pavani, S.L., Mohan, S., 2014. Hydrogen cyanide production ability by bacterial antagonist and their antibiotics inhibition potential on *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3, 172-178.
- Rojas-Tapias, D.F., Bonilla, R., Dussán, J., 2014. Effect of inoculation and co-inoculation of *Acinetobacter* sp. RG30 and *Pseudomonas putida* GN04 on growth, fitness, and copper accumulation of maize (*Zea mays*). *Water. Air. Soil Pollut.* 225, 2232. <https://doi.org/10.1007/s11270-014-2232-2>
- Romero-Rodríguez, A., Ruiz-Villafán, B., Martínez-de la Peña, C.F., Sánchez, S., 2023. Targeting the impossible: A review of new strategies against endospores. *Antibiotics* 12, 248. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020248>
- Saadaoui, M., Faize, M., Rifai, A., Tayeb, K., Youssef, N.O.B., Kharrat, M., Roeckel-Drevet, P., Chaar, H., Venisse, J.-S., 2024. Evaluation of Tunisian wheat endophytes as plant growth promoting bacteria and biological control agents against *Fusarium culmorum*. *PLOS ONE* 19, e0300791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300791>
- Sacristán-Pérez-Minayo, G., López-Robles, D.J., Rad, C., Miranda-Barroso, L., 2020. Microbial inoculation for productivity improvements and potential biological control in sugar beet crops. *Front. Plant Sci.* 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.604898>
- Sagredo-Beltrán, J., De La Cruz-Rodríguez, Y., Alvarado-Rodríguez, M., Vega-Arreguín, J., Rodríguez-Guerra, R., Alvarado-Gutiérrez, A., Fraire-Velázquez, S., 2018. Genome sequence of *Bacillus halotolerans* strain MS50-18A with antifungal activity against phytopathogens, isolated from saline soil in San Luis Potosí, Mexico. *Genome Announc.* 6, 10.1128/genomea.00135-18. <https://doi.org/10.1128/genomea.00135-18>
- Saldierna Guzmán, J.P., Reyes-Prieto, M., Hart, S.C., 2021. Characterization of *Erwinia gerundensis* A4, an almond-derived plant growth-promoting endophyte. *Front. Microbiol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.687971>
- Salman, Ö., Bayram, F.R., Boyraz, N., Koçak, R., 2022. Determination of the antagonistic effects of some rhizospheric bacteria against *Macrophomina phaseolina* under *in vitro* conditions.

- Turk. J. Agric. - Food Sci. Technol. 9, 2474–2479. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9isp.2474-2479.4882>
- Santoyo, G., 2022. How plants recruit their microbiome? New insights into beneficial interactions. *J. Adv. Res.* 40, 45–58. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.11.020>
- Saroj, P., P, M., Narasimhulu, K., 2018. Characterization of thermophilic fungi producing extracellular lignocellulolytic enzymes for lignocellulosic hydrolysis under solid-state fermentation. *Bioresour. Bioprocess.* 5, 31. <https://doi.org/10.1186/s40643-018-0216-6>
- Sayers, S., Li, L., Ong, E., Deng, S., Fu, G., Lin, Y., Yang, B., Zhang, S., Fa, Z., Zhao, B., Xiang, Z., Li, Y., Zhao, X.-M., Olszewski, M.A., Chen, L., He, Y., 2019. Victors: a web-based knowledge base of virulence factors in human and animal pathogens. *Nucleic Acids Res.* 47, D693–D700. <https://doi.org/10.1093/nar/gky999>
- Seemann, T., 2025. Abricate, Github <https://github.com/tseemann/abricate>
- Seemann, T., 2016. Shovill Github. <https://github.com/tseemann/shovill>
- Seemann, T., 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics* 30, 2068–2069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu153>
- Segata, N., Börnigen, D., Morgan, X.C., Huttenhower, C., 2013. PhyloPhlAn is a new method for improved phylogenetic and taxonomic placement of microbes. *Nat. Commun.* 4, 2304. <https://doi.org/10.1038/ncomms3304>
- Sehrawat, A., Sindhu, S.S., Glick, B.R., 2022. Hydrogen cyanide production by soil bacteria: Biological control of pests and promotion of plant growth in sustainable agriculture. *Pedosphere* 32, 15-38. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(21\)60058-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(21)60058-9)
- Sessitsch, A., Brader, G., Pfaffenbichler, N., Gusenbauer, D., Mitter, B., 2018. The contribution of plant microbiota to economy growth. *Microb. Biotechnol.* 11, 801–805. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13290>
- Sharma, S., Gang, S., Schumacher, J., Buck, M., Saraf, M., 2021. Genomic appraisal of *Klebsiella* PGPB isolated from soil to enhance the growth of barley. *Genes Genomics* 43, 869–883. <https://doi.org/10.1007/s13258-021-01099-8>
- Shchyogolev, S.Yu., Burygin, G.L., Dykman, L.A., Matora, L.Yu., 2024. Phylogenetic and pangenomic analyses of members of the family *Micrococcaceae* related to a plant-growth-promoting rhizobacterium isolated from the rhizosphere of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Vavilov J. Genet. Breed.* 28, 308–316. <https://doi.org/10.18699/vjgb-24-35>
- Shelburne, C.E., An, F.Y., Dholpe, V., Ramamoorthy, A., Lopatin, D.E., Lantz, M.S., 2007. The spectrum of antimicrobial activity of the bacteriocin subtilosin A. *J. Antimicrob. Chemother.* 59, 297–300. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl495>
- Shimoi, S., Inoue, K., Kitagawa, H., Yamasaki, M., Tsushima, S., Park, P., Ikeda, K., 2010. Biological control for rice blast disease by employing detachment action with gelatinolytic bacteria. *Biol. Control* 55, 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.07.008>
- Silambarasan, S., Vangnai, A.S., 2016. Biodegradation of 4-nitroaniline by plant-growth promoting *Acinetobacter* sp. AVL B2 and toxicological analysis of its biodegradation metabolites. *J. Hazard. Mater.* 302, 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.10.010>
- Silva, S.G.A., Costa, M.M., Cardoso, A.M.S., Nascimento, L.V., Barroso, K.A., Nunes, G.H.S., Pfenning, L.H., Ambrósio, M.M.Q., 2023. *Fusarium falciforme* and *Fusarium suttonianum* cause root rot of melon in Brazil. *Plant Pathol.* 72, 721–730. <https://doi.org/10.1111/ppa.13701>
- Simão, F.A., Waterhouse, R.M., Ioannidis, P., Kriventseva, E.V., Zdobnov, E.M., 2015. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs. *Bioinformatics* 31, 3210–3212. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv351>
- Slama, H.B., Triki, M.A., Bouket, A.C., Mefteh, F.B., Alenezi, F.N., Luptakova, L., Cherif-Silini, H., Vallat, A., Oszako, T., Gharsallah, N., Belbahri, L., Slama, H.B., Triki, M.A., Bouket, A.C., Mefteh, F.B., Alenezi, F.N., Luptakova, L., Cherif-Silini, H., Vallat, A., Oszako, T., Gharsallah, N., Belbahri, L., 2019. Screening of the high-rhizosphere competent *Limoniastrum monopetalum* culturable endophyte microbiota allows the recovery of

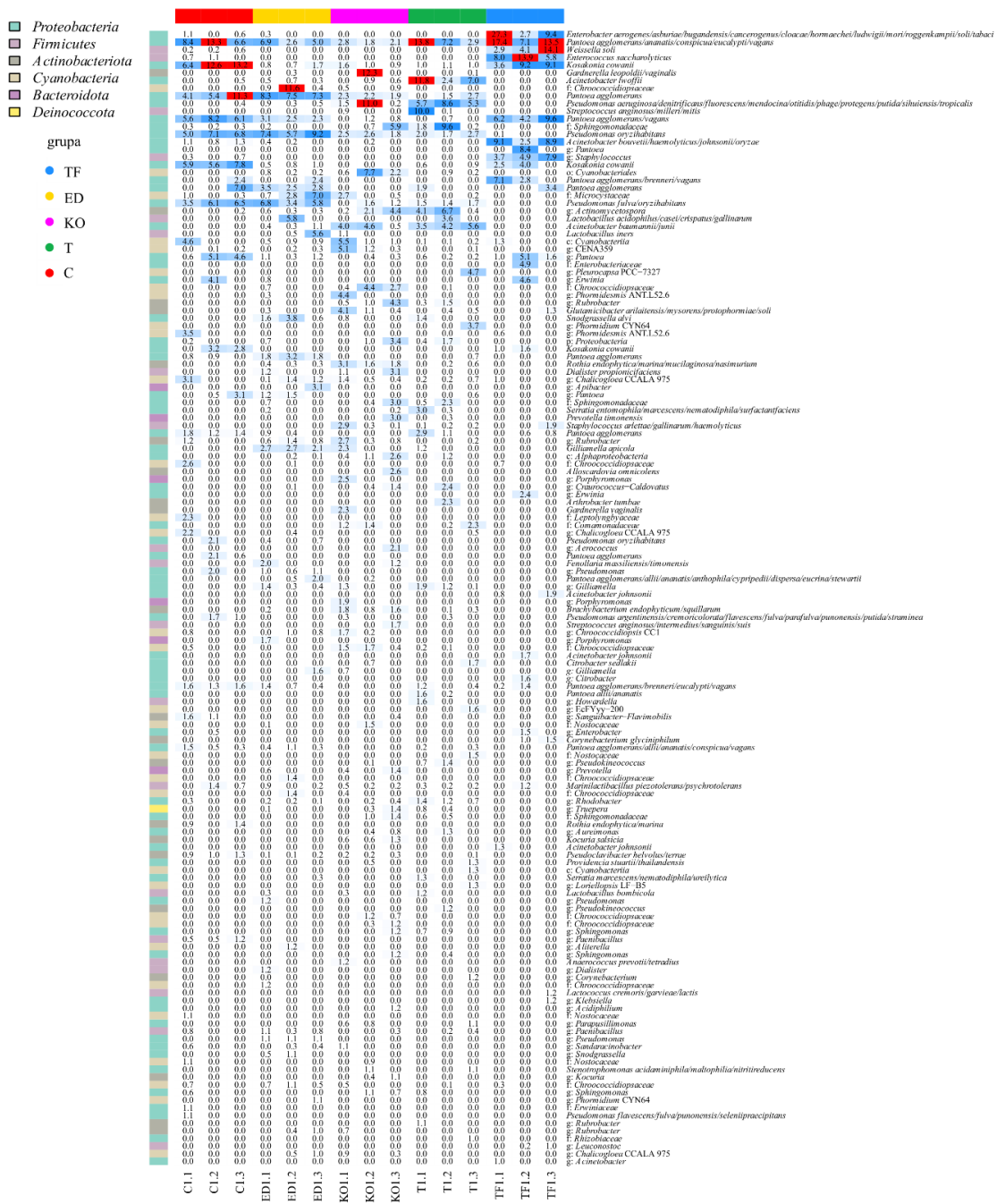
- multifaceted and versatile biocontrol agents. *Microorganisms* 7. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7080249>
- Smeltzer, M.S., Hart, M.E., Iandolo, J.J., 1992. Quantitative spectrophotometric assay for staphylococcal lipase. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2815–2819. <https://doi.org/10.1128/aem.58.9.2815-2819.1992>
- Singh, A., Yadav, V.K., Chundawat, R.S., Soltane, R., Awwad, N.S., Ibrahim, H.A., Yadav, K.K., Vicas, S.I., 2023. Enhancing plant growth promoting rhizobacterial activities through consortium exposure: A review. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 11, 1099999. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1099999>
- Son, S.H., Khan, Z., Kim, S.G., Kim, Y.H., 2009. Plant growth-promoting rhizobacteria, *Paenibacillus polymyxa* and *Paenibacillus lentimorbus* suppress disease complex caused by root-knot nematode and *Fusarium* wilt fungus. *J. Appl. Microbiol.* 107, 524–532. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04238.x>
- Soutar, C.D., Stavrinides, J., 2022. Phylogenomic analysis of the *Erwiniaceae* supports reclassification of *Kalamiella piersonii* to *Pantoea piersonii* comb. nov. and *Erwinia gerundensis* to the new genus *Duffyyella* gen. nov. as *Duffyyella gerundensis* comb. nov. *Mol. Genet. Genomics* 297, 213–225. <https://doi.org/10.1007/s00438-021-01829-3>
- Stephens, K., Bentley, W.E., 2020. Synthetic biology for manipulating quorum sensing in microbial consortia. *Trends Microbiol.* 28, 633–643. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.03.009>
- Suchithkumar, C., Reddy, S., Divyavani, P., Divya, S., Sravya, M., Mani, M., Manoharan, G., 2024. Modern challenges in agriculture. *AIP Conf. Proc.* 2971, 040051. <https://doi.org/10.1063/5.0195744>
- Sun, W., Shahrajabian, M.H., Soleymani, A., 2024. The roles of plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR)-based biostimulants for agricultural production systems. *Plants* 13, 613. <https://doi.org/10.3390/plants13050613>
- Sun, Y., Song, Q., Wang, Z., Gao, Y., Wei, L., Wang, Y., Chen, R., Geng, G., 2025. Effects of *Bacillus* on continuous cropping of sugar beets and their rhizosphere microbial community. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-7088314/v1>
- Suyotha, W., Yano, S., Itoh, T., Fujimoto, H., Hibi, T., Tachiki, T., Wakayama, M., 2014. Characterization of α -1,3-glucanase isozyme from *Paenibacillus glycanilyticus* FH11 in a new subgroup of family 87 α -1,3-glucanase. *J. Biosci. Bioeng.* 118, 378–385. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.03.008>
- Šunjka, D., Pucarević, M., Lazić, S., Stojić, N., Milošević, L., El Bilali, H., Bošković, D., Vuković, S., Mitrić, S., Berjan, S., Šušnjar, A., Ećimović, J., 2024. Monitoring of herbicide residues in agricultural soils in Vojvodina Province (Northern Serbia). *Land* 13, 1347. <https://doi.org/10.3390/land13091347>
- Tedersoo, L., Anslan, S., Bahram, M., Põlme, S., Riit, T., Liiv, I., Kõljalg, U., Kisand, V., Nilsson, H., Hildebrand, F., Bork, P., Abarenkov, K., 2015. Shotgun metagenomes and multiple primer pair-barcode combinations of amplicons reveal biases in metabarcoding analyses of fungi. *Mycology* 10, 1–43. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.10.4852>
- Takada, H., Mandell, Z.F., Yakhnin, H., Glazyrina, A., Chiba, S., Kurata, T., Wu, K.J.Y., Tresco, B.I.C., Myers, A.G., Aktinson, G.C., Babitzke, P., Haurlyuk, V., 2022. Expression of *Bacillus subtilis* ABCF antibiotic resistance factor VmlR is regulated by RNA polymerase pausing, transcription attenuation, translation attenuation and (p)ppGpp. *Nucleic Acids Res.* 50, 6174–6189. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac497>
- Tayyab, M., Wakeel, A., Mubarak, M.U., Artyszak, A., Ali, S., Hakki, E.E., Mahmood, K., Song, B., Ishfaq, M., 2023. Sugar beet cultivation in the tropics and subtropics: Challenges and opportunities. *Agronomy* 13. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051213>
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997. The CLUSTAL X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25, 4876–4882. <https://doi.org/10.1093/nar/25.24.4876>

- Tomić, T.K., Atanasković, I., Nikolić, I., Joković, N., Stević, T., Stanković, S., Berić, T., Lozo, J., 2023. Culture-dependent and metabarcoding characterization of the sugar beet (*Beta vulgaris* L.) microbiome for high-yield isolation of bacteria with plant growth-promoting traits. *Microorganisms* 11. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061538>
- Tsalgatidou, P.C., Thomludi, E.-E., Baira, E., Papadimitriou, K., Skagia, A., Venieraki, A., Katinakis, P., Tsalgatidou, P.C., Thomludi, E.-E., Baira, E., Papadimitriou, K., Skagia, A., Venieraki, A., Katinakis, P., 2022. Integrated genomic and metabolomic analysis illuminates key secreted metabolites produced by the novel endophyte *Bacillus halotolerans* Cal.1.30 involved in diverse biological control activities. *Microorganisms* 10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020399>
- Tsialtas, J.T., Maslaris, N., 2009. Selective Absorption of K over Na in sugar beet cultivars and its relationship with yield and quality in two contrasting environments of central Greece. *J. Agron. Crop Sci.* 195, 384–392. <https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2009.00379.x>
- van Passel, M.W.J., Kant, R., Palva, A., Copeland, A., Lucas, S., Lapidus, A., Glavina del Rio, T., Pitluck, S., Goltsman, E., Clum, A., Sun, H., Schmutz, J., Larimer, F.W., Land, M.L., Hauser, L., Kyrpides, N., Mikhailova, N., Richardson, P.P., Janssen, P.H., de Vos, W.M., Smidt, H., 2011. Genome sequence of the verrucomicrobium *Opitutus terrae* PB90-1, an abundant inhabitant of rice paddy soil ecosystems. *J. Bacteriol.* 193, 2367–2368. <https://doi.org/10.1128/jb.00228-11>
- Vandenkoornhuysse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., Dufresne, A., 2015. The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytol.* 206, 1196–1206. <https://doi.org/10.1111/nph.13312>
- Vieira, S., Huber, K.J., Geppert, A., Wolf, J., Neumann-Schaal, M., Müsken, M., Overmann, J., 2023. *Baekduia alba* sp. nov., a novel representative of the order *Solirubrobacterales* isolated from temperate grassland soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 73, 005918. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005918>
- Vurukonda, S.S.K.P., Giovanardi, D., Stefani, E., 2018. Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *Int. J. Mol. Sci.* 19, 952. <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>
- Wakeel, A., Steffens, D., Schubert, S., 2010. Potassium substitution by sodium in sugar beet (*Beta vulgaris*) nutrition on K-fixing soils - Wakeel - 2010 - Journal of Plant Nutrition and Soil Science - Wiley Online Library URL <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jpln.200900270> (accessed 8.10.25).
- Walker, B.J., Abeel, T., Shea, T., Priest, M., Abouelliel, A., Sakthikumar, S., Cuomo, C.A., Zeng, Q., Wortman, J., Young, S.K., Earl, A.M., 2014. Pilon: An integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PLOS ONE* 9, e112963. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112963>
- Wang, Y., Dall’Agnol, R.F., Bertani, I., Bez, C., Venturi, V., 2024. Identification of synthetic consortia from a set of plant-beneficial bacteria. *Microb. Biotechnol.* 17, e14330. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14330>
- Wang, N., Wang, M., Jiang, Z., Zhang, W., You, Z., Zhao, X., Yao, J., Gong, C., Bertaccini, A., Li, J., Wang, N., Wang, M., Jiang, Z., Zhang, W., You, Z., Zhao, X., Yao, J., Gong, C., Bertaccini, A., Li, J., 2025a. The impact of Jujube witches’ broom phytoplasma on the community structure of endophytes in Jujube. *Microorganisms* 13. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13061371>
- Wang, Y., Duan, Y., Chen, N., Ding, W., Liu, Y., Xing, S., 2025b. Integrated physiological, transcriptomic, and metabolomic analyses of *Chrysanthemum* ‘Boju’ under excessive indole-3-acetic acid stress. *Front. Plant Sci.* 16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1531585>
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4. <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wiegand, S., Jogler, M., Jogler, C., 2018. On the maverick *Planctomycetes*. *FEMS Microbiol. Rev.* 42, 739–760. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy029>

- Willms, I.M., Bolz, S.H., Yuan, J., Krafft, L., Schneider, D., Schöning, I., Schruppf, M., Nacke, H., 2021. The ubiquitous soil verrucomicrobial clade “*Candidatus Udaeobacter*” shows preferences for acidic pH. *Environ. Microbiol. Rep.* 13, 878–883. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.13006>
- Wolfgang, A., Temme, N., Tilcher, R., Berg, G., 2023. Understanding the sugar beet holobiont for sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1151052>
- Woodman, M.E., 2008. Direct PCR of intact bacteria (Colony PCR). *Curr. Protoc. Microbiol.* 9, A.3D.1-A.3D.6. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca03ds9>
- Wróbel, M., Śliwakowski, W., Kowalczyk, P., Kramkowski, K., Dobrzyński, J., Wróbel, M., Śliwakowski, W., Kowalczyk, P., Kramkowski, K., Dobrzyński, J., 2023. Bioremediation of heavy metals by the genus *Bacillus*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 20. <https://doi.org/10.3390/ijerph20064964>
- Wu, X., Fan, Y., Wang, R., Zhao, Q., Ali, Q., Wu, H., Gu, Q., Borriss, R., Xie, Y., Gao, X., 2022. *Bacillus halotolerans* KKD1 induces physiological, metabolic and molecular reprogramming in wheat under saline condition. *Front. Plant Sci.* 13, 978066. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.978066>
- Wünsche, J., Brüggemann, H., Gansbiller, M., Schmid, J., 2023. Acetan-like heteropolysaccharide production by various *Kozakia baliensis* strains: Characterization and further insights. *Int. J. Biol. Macromol.* 253, 127097. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127097>
- Xu, X., Xu, M., Zhao, Q., Xia, Y., Chen, C., Shen, Z., 2018. Complete genome sequence of Cd(II)-resistant *Arthrobacter* sp. PGP41, a plant growth-promoting bacterium with potential in microbe-assisted phytoremediation. *Curr. Microbiol.* 75, 1231–1239. <https://doi.org/10.1007/s00284-018-1515-z>
- Yang, 2020. yiluheihe/microbiomeMarker.
- Yang, Han, Cui, S., Wei, Y., Li, H., Hu, J., Yang, K., Wu, Y., Zhao, Z., Li, J., Wang, Y., Yang, Hetong, 2024. Antagonistic effects of *Talaromyces muroii* TM28 against *Fusarium* crown rot of wheat caused by *Fusarium pseudograminearum*. *Front. Microbiol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1292885>
- Yang, J., Kloepper, J.W., Ryu, C.-M., 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>
- Yimer, A.H., Tarnawa, A., 2025. Advancing nutrient management strategies for sustainable crop productivity in a changing climate: A systematic review. *The Sci. World J.* 2025, 7101060. <https://doi.org/10.1155/tswj/7101060>
- Yuan, J., Zhao, J., Wen, T., Zhao, M., Li, R., Goossens, P., Huang, Q., Bai, Y., Vivanco, J.M., Kowalchuk, G.A., Berendsen, R.L., Shen, Q., 2018. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection. *Microbiome* 6, 156. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0537-x>
- Zachow, C., Müller, H., Tilcher, R., Berg, G., 2014. Differences between the rhizosphere microbiome of *Beta vulgaris* ssp. *maritima*—ancestor of all beet crops—and modern sugar beets. *Front. Microbiol.* 5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00415>
- Zhou, S.Y., Liu, B., Zheng, D.D., Chen, L.H., Yang, J. 2025. VFDB 2025: an integrated resource for exploring anti-virulence compounds. *Nucleic Acids Res.* 53(D1):D871-D877.
- Zhu, L., Guo, J., Sun, Y., Wang, S., Zhou, C., 2021. Acetic acid-producing endophyte *Lysinibacillus fusiformis* orchestrates jasmonic acid signaling and contributes to repression of cadmium uptake in tomato plants. *Front. Plant Sci.* 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.670216>
- Zlosnik, J.E.A., Hird, T.J., Fraenkel, M.C., Moreira, L.M., Henry, D.A., Speert, D.P., 2008. Differential mucoid exopolysaccharide production by members of the *Burkholderia cepacia* complex. *J. Clin. Microbiol.* 46, 1470–1473. <https://doi.org/10.1128/JCM.02273-07>

8. PRILOZI

Prilog 1. Relativne zastupljenosti bakterijskih ASV povezanih sa semenom pet hibrida šećerne repe: Tajfun (TF), Eduarda (ED), Koala (KO), Tibor (T) i *Cercospora*-otporni (C).



Prilog 2. Identifikacija kultivabilnih bakterija hibrida šećerne repe na osnovu sekvenciranja gena za 16S rRNK

Izolat	Vrsta	Maksimalni skor	Ukupan skor	Procentat preklapanja	Procentat identifikacije
Eduarda hibrid					
Rizosfera					
ED1-1	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 567	1 567	100%	99,31%
ED1-2	<i>Cytobacillus ciccensis</i>	1 624	1 624	100%	99,77%
ED1-3	<i>Bacillus badius</i>	1 605	1 605	100%	99,89%
ED1-4	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	1 611	1 611	100%	100%
Koren					
ED2-1	<i>Paenibacillus taichungensis</i>	1 596	1 596	100%	99,43%
ED2-2	<i>Bacillus velezensis</i>	1 616	1 616	100%	99,89%
ED2-4	<i>Knoellia locipacati</i>	1 498	1 498	100%	98,7%
ED2-6	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 434	1 434	100%	99,62%
ED2-7	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 399	1 399	100%	99,48%
ED2-8	<i>Microbacterium thalassium</i>	1 500	1 500	100%	98,59%
ED2-10	<i>Mycetocola manganooxydans</i>	1 493	1 493	100%	99,75%
Seme					
ED3-1	<i>Staphylococcus succinus</i> subsp. <i>succinus</i>	1 615	1 615	100%	100%
ED3-2	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1 528	1 528	100%	98,95%
ED3-3	<i>Bacillus mobilis</i>	1 644	1 644	100%	100%
ED3-4	<i>Kosakonia cowanii</i>	1 557	1 557	100%	99,76%
ED3-10	<i>Providencia vermicola</i>	1 567	1 567	100%	99,42%
ED3-13	<i>Acinetobacter lactucae</i>	1 594	1 594	100%	100%
ED3-21	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1 533	1 533	100%	98,84%
ED3-42	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1 533	1 533	100%	98,84%
ED3-43	<i>Microbacterium testaceum</i>	1 544	1 544	100%	99,76%
ED3-46	<i>Acinetobacter lactucae</i>	1 594	1 594	100%	100%
ED3-48	<i>Providencia sneebia</i>	1 533	1 533	100%	98,73%
ED3-48/1	<i>Klebsiella michiganensis</i>	1 607	1 607	100%	99,54%
ED3-74	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 607	1 607	100%	99,89%
ED3-74/1	<i>Erwinia persicina</i>	1 585	1 585	100%	100%
ED3-75	<i>Glutamicibacter mishrai</i>	1 507	1 507	100%	99,88%
ED3-76	<i>Sanguibacter keddieii</i>	1 552	1 552	100%	99,76%
ED3-77	<i>Micrococcus luteus</i>	1 543	1 543	100%	99,64%
ED3-78	<i>Erwinia tasmaniensis</i>	1 548	1 548	100%	98,96%
ED3-79	<i>Erwinia tasmaniensis</i>	1 548	1 548	100%	98,96%
ED3-81	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 539	1 539	100%	99,53%
ED3-82	<i>Erwinia persicina</i>	1 585	1 585	100%	100%
ED3-83	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 550	1 550	100%	99,88%
ED3-84	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1 533	1 533	100%	98,84%
ED3-85	<i>Alkalihalobacillus rhizosphaerae</i>	1 408	1 408	100%	99,11%
ED3-86	<i>Frigoribacterium faeni</i>	1 400	1 400	100%	99,35%
ED3-89	<i>Bacillus subtilis</i>	1 635	1 635	100%	99,89%
Tibor hibrid					
Rizosfera					

T1-1	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 580	1 580	100%	99,42%
T1-2	<i>Priestia aryabhatai</i>	1 616	1 616	100%	100,00%
T1-3	<i>Bacillus wiedmannii/proteolyticus/fungorum</i>	1 646	1 646	100%	99,89%
T1-4	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 580	1 580	100%	99,42%
T1-5	<i>Bacillus altitudinis/aerophilus/stratosphericus</i>	1 607	1 607	100%	100%
T1-6	<i>Bacillus altitudinis/aerophilus/stratosphericus</i>	1 607	1 607	100%	100%
T1-6/1	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 628	1 628	100%	100%
Koren					
T2-1	<i>Bacillus halotolerans</i>	1 615	1 615	100%	100%
T2-2	<i>Paenibacillus azotifigens</i>	1 491	1 491	100%	97,59%
T2-6	<i>Neobacillus niacini</i>	1 557	1 557	100%	98,85%
T2-8	<i>Neorhizobium huautlense</i>	1 471	1 471	100%	99,5%
T2-9	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 550	1 550	100%	99,76%
T2-14	<i>Kocuria rosea</i>	1 552	1 552	100%	99,76%
T2-15	<i>Paenibacillus catalpae/lupini</i>	1 581	1 581	100%	99,54%
T2-16	<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>	1 546	1 546	100%	99,88%
T2-18	<i>Rathayibacter tritici</i>	1 539	1 539	100%	99,64%
T2-19	<i>Microbacterium testaceum</i>	1 493	1 493	100%	98,81%
T2-20	<i>Paenibacillus lautus</i>	1 596	1 596	100%	99,77%
T2-21	<i>Rhodococcus cerastii</i>	1 249	1 249	100%	99,85%
T2-22	<i>Micrococcus luteus</i>	1 555	1 555	100%	99,65%
T2-23	<i>Bacillus velezensis</i>	1 620	1 620	100%	99,89%
T2-25	<i>Arthrobacter oryzae</i>	1 537	1 537	100%	99,53%
T2-26	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 561	1 561	100%	100%
T2-28	<i>Metabacillus indicus</i>	1 506	1 506	100%	97,93%
T2-32	<i>Massilia timonae</i>	1 583	1 583	100%	99,88%
Seme					
T3-3	<i>Bacillus sonorensis</i>	1 602	1 602	100%	100%
T3-4	<i>Bacillus subtilis</i>	1 615	1 615	100%	100%
T3-5	<i>Bacillus sonorensis</i>	1 602	1 602	100%	100%
T3-6	<i>Bacillus sonorensis</i>	1 602	1 602	100%	100%
T3-6/1	<i>Acinetobacter lactucae</i>	1 594	1 594	100%	100%
Tajfun hibrid					
Rizosfera					
TF1-1	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 616	1 616	100%	100%
TF1-2	<i>Bacillus mobilis</i>	1 615	1 615	100%	100%
TF1-3	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	1 605	1 605	100%	100%
TF1-4	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 585	1 585	100%	99,43%
Koren					
TF2-1	<i>Bacillus subtilis</i>	1 620	1 620	100%	100%
TF2-6	<i>Micrococcus luteus/aloeverae</i>	1 482	1 482	100%	98,34%
Seme					
TF3-6	<i>Bacillus subtilis</i>	1 615	1 615	100%	100%
TF3-7/1	<i>Bacillus subtilis</i>	1 615	1 615	100%	100%
TF3-16	<i>Bacillus licheniformis</i>	1 602	1 602	100%	99,77%
TF3-20	<i>Microbacterium paludicola</i>	1 517	1 517	100%	99,05%
TF3-27	<i>Paenibacillus lautus</i>	1 604	1 604	100%	99,89%

TF3-29	<i>Weizmannia ginsengihumi</i>	1 613	1 613	100%	100%
TF3-32	<i>Bacillus subtilis</i>	1 615	1 615	100%	100%
TF3-33	<i>Brevundimonas nasdae/vesicularis</i>	1 452	1 452	100%	99,38%
TF3-82	<i>Bacillus oleivorans</i>	1 511	1 511	100%	99,05%
Koala hibrid					
Rizosfera					
KO1-1	<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	1 615	1 615	100%	100%
KO1-2	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	1 604	1 604	100%	100%
KO1-3	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 574	1 574	100%	99,42%
KO1-3/2	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	1 604	1 604	100%	100%
KO1-4	<i>Bacillus wiedmannii/proteolyticus/fungorum</i>	1 615	1 615	100%	100%
KO1-5	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 574	1 574	100%	99,42%
KO1-7	<i>Brevibacillus reuszeri</i>	1 580	1 580	100%	99,42%
Koren					
KO2-1	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 559	1 559	100%	100%
KO2-2	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 548	1 548	100%	99,76%
KO2-3	<i>Micrococcus terreus</i>	1 561	1 561	100%	99,88%
KO2-4	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 559	1 559	100%	100%
KO2-6	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 607	1 607	100%	100%
Seme					
KO3-2	<i>Kosakonia cowanii</i>	1 430	1 430	100%	99,87%
KO3-3	<i>Bacillus haynesii</i>	1 598	1 598	100%	99,54%
KO3-4	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 559	1 559	100%	100%
KO3-9	<i>Mixta theicola</i>	1 384	1 384	100%	98,23%
KO3-10	<i>Alkalihalobacillus gibsonii</i>	1 587	1 587	100%	99,31%
KO3-11/1	<i>Bacillus subtilis</i>	1 620	1 620	100%	100%
KO3-12	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 607	1 607	100%	99,89%
KO3-14	<i>Enterococcus gallinarum</i>	1 628	1 628	100%	99,89%
KO3-17	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1 539	1 539	100%	99,18%
KO3-18	<i>Bacillus subtilis</i>	1 620	1 620	100%	100%
KO3-19	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1 474	1 474	100%	98,79%
KO3-20	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 539	1 539	100%	99,53%
KO3-26	<i>Bacillus subtilis</i>	1 620	1 620	100%	100%
KO3-28	<i>Pantoea agglomerans/Curtobacterium plantarum</i>	1 483	1 483	100%	99,27%
KO3-28/1	<i>Pantoea agglomerans</i>	1 541	1 541	100%	99,07%
KO3-30	<i>Pantoea allii</i>	1 504	1 504	100%	97,93%
KO3-32	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1 533	1 533	100%	99,07%
KO3-36	<i>Okibacterium fritillariae</i>	1 550	1 550	100%	99,65%
KO3-38	<i>Bacillus haynesii</i>	1 592	1 592	100%	99,43%
KO3-39	<i>Sanguibacter inulinus</i>	1 537	1 537	100%	99,76%
KO3-44	<i>Mixta theicola</i>	1 384	1 384	100%	98,23%
KO3-46	<i>Microbacterium arborescens/imperiale</i>	1 476	1 476	100%	98,91%
KO3-47	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 539	1 539	100%	99,53%
KO3-48	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 607	1 607	99%	100%
KO3-48/1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 613	1 613	100%	100%
KO3-49	<i>Microbacterium saccharophilum</i>	1 474	1 474	100%	98,79%
KO3-51	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 506	1 506	100%	98,82%

KO3-80	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 544	1 544	100%	99,64%
Cercospora-otporni hibrid					
Rizosfera					
C1-1	<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	1 618	1 618	100%	100%
C1-2	<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	1 555	1 555	100%	100%
C1-3	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 574	1 574	100%	99,31%
C1-5	<i>Brevibacillus borstelensis</i>	1 591	1 591	100%	99,66%
Koren					
C2-1	<i>Bacillus pseudomycooides</i>	1 607	1 607	100%	100%
C2-5	<i>Micrococcus luteus</i>	1 548	1 548	100%	99,65%
C2-6	<i>Micrococcus luteus</i>	1 548	1 548	100%	99,65%
C2-7	<i>Massilia timonae</i>	1 581	1 581	100%	99,88%
C2-7/1	<i>Massilia timonae</i>	1 581	1 581	100%	99,88%
Seme					
C3-13	<i>Corynebacterium doosanense</i>	1 533	1 533	100%	99,76%
C3-16/2	<i>Bacillus mojavensis</i>	1 622	1 622	100%	99,89%
C3-16/2,1	<i>Bacillus halotolerans</i>	1 635	1 635	100%	100%
C3-16/2,3	<i>Bacillus halotolerans</i>	1 635	1 635	100%	100%
C3-17	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 541	1 541	100%	99,53%
C3-18	<i>Pseudoclavibacter helvolus</i>	1 539	1 539	100%	99,76%
C3-19	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1 594	1 594	100%	99,88%
C3-36	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	1 618	1 618	100%	100%
C3-40	<i>Bacillus subtilis</i>	1 615	1 615	100%	100%
C3-44	<i>Pantoea agglomerans/Curtobacterium plantarum</i>	1 487	1 487	100%	99,27%
C3-47	<i>Bacillus altitudinis/aerophilus/stratosphericus</i>	1 613	1 613	100%	100%
C3-50	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 616	1 616	100%	100%
C3-50/1	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 607	1 607	100%	100%
C3-53	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 580	1 580	100%	99,42%
C3-56	<i>Bacillus wiedmannii/proteolyticus/fungorum</i>	1 644	1 644	100%	100%
C3-59	<i>Bacillus subtilis</i>	1 592	1 592	100%	100%
C3-61	<i>Bacillus mobilis</i>	1 622	1 622	100%	100%
C3-62	<i>Bacillus subtilis</i>	1 592	1 592	100%	100%
C3-63	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 609	1 609	100%	100%
C3-66	<i>Bacillus pumilus/zhangzhouensis/safensis</i>	1 602	1 602	100%	100%
C3-67	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 580	1 580	100%	99,42%
C3-70	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 580	1 580	100%	99,42%
C3-72	<i>Bacillus subtilis</i>	1 591	1 591	100%	100%
C3-73	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 613	1 613	100%	100%
C3-76	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 613	1 613	100%	100%

Prilog 3. Identifikacija kultivabilnih bakterija sorti pšenice na osnovu sekvenciranja gena za 16S rRNK

Izolat	Vrsta	Maksimalni skor	Ukupan skor	Procenat preklapanja	Procenat identifikacije
Centaurion sorta					
Rizosfera					
MP5-1	<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	1 613	1 613	100%	99.89%
MP5-2	<i>Brevibacillus borstelensis</i>	1 561	1 561	100%	99.88%
Koren					
MP6-2	<i>Microbacterium foliorum</i>	1 504	1 504	100%	99.05%
MP6-5	<i>Serratia oryzae</i>	1 555	1 555	100%	98.74%
MP6-14	<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	1 454	1 454	100%	99.13%
MP6-19	<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	1 506	1 506	100%	98.59%
MP6-20	<i>Niallia nealsonii/circulans</i>	1 544	1 544	100%	98.96%
MP6-22	<i>Pantoea agglomerans</i>	1 550	1 550	100%	99.30%
MP6-23	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	1 507	1 507	100%	99.05%
MP6-26/1	<i>Bacillus proteolyticus/wiedmannii/sanguinis/fungorum</i>	1 624	1 624	100%	100%
MP6-29	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1 539	1 539	100%	100%
MP6-30/1	<i>Peribacillus simplex</i>	1 596	1 596	100%	100%
MP6-33	<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i>	1 543	1 543	100%	99.88%
MP6-36	<i>Serratia oryzae</i>	1 526	1 526	100%	98.72%
MP6-37	<i>Rhodococcus fascians</i>	1 555	1 555	100%	100%
MP6-37/1	<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	1 546	1 546	100%	100%
MP6-38	<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	1 541	1 541	100%	99.88%
MP6-39	<i>Curtobacterium herbarum</i>	1 574	1 574	100%	99.88%
MP6-43	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	1 493	1 493	100%	100%
MP6-47	<i>Peribacillus simplex</i>	1 596	1 596	100%	100%
MP6-47/1	<i>Peribacillus simplex</i>	1 596	1 596	100%	100%
MP6-49	<i>Microbacterium thalassium</i>	1 480	1 480	100%	98.57%
MP6-55	<i>Pseudorhodoferax soli</i>	1 570	1 570	100%	99.77%
MP6-60	<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	1 339	1 339	100%	98.68%
MP6-85	<i>Bacillus licheniformis</i>	1 604	1 604	100%	99.89%
MP6-86	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 605	1 605	100%	100%
MP6-87	<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	1 583	1 583	100%	100%
Genus sorta					
Rizosfera					
MP7-1	<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	1 604	1 604	100%	100%
MP7-2	<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	1 618	1 618	100%	100%
MP7-3	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 602	1 602	100%	100%
MP7-5	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 602	1 602	100%	100%
Koren					
MP8-1	<i>Peribacillus simplex</i>	1 602	1 602	100%	99.89%
MP8-2	<i>Olivibacter soli</i>	1 520	1 520	100%	99.17%
MP8-3	<i>Bacillus mycoides</i>	1 618	1 618	100%	100%
MP8-4	<i>Variovorax paradoxus</i>	1 563	1 563	100%	100%
MP8-6	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	1 463	1 463	100%	100%
MP8-7	<i>Variovorax paradoxus</i>	1 563	1 563	100%	100%

MP8-9	<i>Pantoea agglomerans/allii</i>	1 541	1 541	100%	99.07%
MP8-10	<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	1 469	1 469	100%	100%
MP8-11/1	<i>Peribacillus simplex</i>	1 585	1 585	100%	99.65%
MP8-12	<i>Pantoea allii</i>	1 554	1 554	100%	99.08%
MP8-16	<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	1 469	1 469	100%	100%
MP8-17	<i>Priestia aryabhatai</i>	1 506	1 506	100%	99.88%
MP8-18	<i>Peribacillus frigiditolerans</i>	1 607	1 607	100%	100%
MP8-20	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	1 609	1 609	100%	100%
MP8-23	<i>Phyllobacterium ifriqiyense</i>	1 445	1 445	100%	100%
MP8-24	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 411	1 411	100%	99.74%
MP8-25	<i>Brevundimonas nasdae</i>	1 325	1 325	100%	98.92%
MP8-26	<i>Microbacterium maritipicum</i>	1 546	1 546	100%	100%

Modern sorta

Rizosfera					
MP9-1	<i>Priestia aryabhatai</i>	1 629	1 629	100%	100%
MP9-2/1	<i>Priestia endophytica</i>	1 574	1 574	100%	100%
MP9-3	<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	1 609	1 609	100%	100%
MP9-4	<i>Metabacillus idriensis</i>	1 458	1 458	100%	98.33%
MP9-5	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 559	1 559	100%	99.42%
MP9-6	<i>Cytobacillus ciccensis</i>	1 598	1 598	100%	99.77%
MP9-7	<i>Lysinibacillus macroides</i>	1 559	1 559	100%	99.42%
MP9-8	<i>Bacillus halotolerans</i>	1 616	1 616	100%	100%
MP9-9	<i>Paenibacillus lautus</i>	1 561	1 561	100%	99.30%
Koren					
MP10-1	<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	1 592	1 592	100%	100%
MP10-4	<i>Micrococcus luteus</i>	1 548	1 548	100%	99.88%
MP10-7	<i>Bacillus velezensis</i>	1 605	1 605	100%	99.89%
MP10-9	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	1 208	1 208	100%	100%
MP10-10	<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	1 592	1 592	100%	100%
MP10-10/1	<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus/altitudinis</i>	1 592	1 592	100%	100%
MP10-15	<i>Variovorax paradoxus</i>	1 550	1 550	100%	99.53%
MP10-16	<i>Bacillus velezensis</i>	1 605	1 605	100%	99.89%
MP10-20	<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	1 572	1 572	100%	99.65%
MP10-21	<i>Bacillus velezensis</i>	1 605	1 605	100%	99.89%
MP10-28	<i>Bacillus mojavenensis</i>	1 615	1 615	100%	100%
MP10-30	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	1 613	1 613	100%	100%
MP10-31	<i>Curtobacterium plantarum</i>	1 483	1 483	100%	100%
MP10-32	<i>Pseudomonas koreensis</i>	1 578	1 578	100%	100%
MP10-34	<i>Pseudomonas lini</i>	1 580	1 580	100%	99.88%
MP10-37	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	1 495	1 495	100%	100%
MP10-38	<i>Curtobacterium pusillum</i>	1 557	1 557	100%	99.53%
MP10-39	<i>Variovorax paradoxus</i>	1 544	1 544	100%	100%
MP10-43	<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	1 578	1 578	100%	100%
MP10-44	<i>Microbacterium maritipicum</i>	1 570	1 570	100%	100%
MP10-45	<i>Agrobacterium rubi/Rhizobium skieniewicense</i>	1 454	1 454	100%	99.50%
MP10-49	<i>Lysobacter antibioticus</i>	1 589	1 589	100%	99.77%
MP10-51	<i>Flavobacterium saccharophilum</i>	1 450	1 450	100%	98.42%

MP10-54	<i>Brevundimonas nasdae</i>	1 339	1 339	100%	99.32%
MP10-55	<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i>	1 561	1 561	100%	99.53%
MP10-58	<i>Microbacterium maritopicum</i>	1 535	1 535	100%	99.29%
MP10-60	<i>Pseudomonas lutea</i>	1 604	1 604	100%	100%
MP10-64	<i>Rhizobium soli</i>	1 461	1 461	100%	100%
MP10-65	<i>Promicromonospora callitridis</i>	1 493	1 493	100%	99.27%
MP10-66	<i>Sphingomonas aurantiaca</i>	1 445	1 445	100%	98.77%
MP10-67	<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>	1 554	1 554	100%	100%

Prilog 4. PGP karakteristike inicijalnih 156 izolata iz šećerne repe.

Vrsta	Izolat	Rast na DF sa (NH ₄) ₂ SO ₄	Rast na DF bez (NH ₄) ₂ SO ₄	PO ₄ ³⁻	Produkcija EPS-a	Rojenje	Plivanje
<i>Lysinibacillus macroides</i>	ED1-1	++	++	—	—	—	+++
<i>Cytobacillus ciccensis</i>	ED1-2	++	+	—	—	—	+++
<i>Bacillus badius</i>	ED1-3	++	+	—	—	—	+++
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	ED1-4	++	+	—	—	+	+++
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	ED2-1	++	+	—	—	—	+++
<i>Bacillus velezensis</i>	ED2-2	++	+	—	—	+++	+++
<i>Knoellia locipacati</i>	ED2-4	+	—	—	—	—	—
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	+	+	+	—	+	++
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-7	+	++	+	—	—	—
<i>Microbacterium thalassium</i>	ED2-8	++	+	—	—	—	—
<i>Mycetocola manganoxydans</i>	ED2-10	+	—	—	—	—	—
<i>Staphylococcus succinus</i> subsp. <i>succinus</i>	ED3-1	++	+	+	—	—	+++
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-2	+++	++	++	+	+++	+
<i>Bacillus mobilis</i>	ED3-3	+	+	—	—	+++	+
<i>Kosakonia cowanii</i>	ED3-4	++	+	++	+++ ^d	++	+++
<i>Providencia vermicola</i>	ED3-10	++	+	+	—	+	+++
<i>Acinetobacter lactucae</i>	ED3-13	++	+	++	—	—	—
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-21	++	+	++	—	—	++
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-42	+	+	++	—	—	—
<i>Microbacterium testaceum</i>	ED3-43	+	+	—	—	—	—
<i>Acinetobacter lactucae</i>	ED3-46	++	+	++	—	—	—
<i>Providencia sneebia</i>	ED3-48	++	+	++	+	+	—
<i>Klebsiella michiganensis</i>	ED3-48/1	++	+	++	+	—	—
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	ED3-74	++	+	—	—	+++	+++
<i>Erwinia persicina</i>	ED3-74/1	++	+	++	++	+++	+++
<i>Glutamicibacter mishrai</i>	ED3-75	++	+	—	—	—	—
<i>Sanguibacter keddieii</i>	ED3-76	++	+	—	—	—	—
<i>Micrococcus luteus</i>	ED3-77	+	++	—	—	—	—
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-78	+	++	+	+++ ^d	+++	+++
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-79	+	++	+	+++ ^d	+++	+++
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED3-81	+	+	—	—	—	+
<i>Erwinia persicina</i>	ED3-82	++	+	+++	+++	+++	+++
<i>Micrococcus aloeverae</i>	ED3-83	+	+	—	—	—	—
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-84	++	+	++	—	—	+++
<i>Alkalihalobacillus rhizosphaerae</i>	ED3-85	++	+	—	—	—	—
<i>Frigoribacterium faeni</i>	ED3-86	+	—	—	—	—	—
<i>Bacillus subtilis</i>	ED3-89	+	++	+	—	+++	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	T1-1	+	+	—	—	—	+++
<i>Priestia aryabhatai</i>	T1-2	++	+	+	+	+	—
<i>Bacillus wiedmannii/proteolyticus</i> / <i>fungorum</i>	T1-3	++	++	—	+	—	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	T1-4	++	++	—	—	—	+++
<i>Bacillus altitudinis/aerophilus</i> / <i>stratosphericus</i>	T1-5	++	++	—	+	+++	+++

<i>Bacillus altitudinis/aerophilus</i> <i>/stratosphericus</i>	T1-6	++	+	+	-	-	+++
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	T1-6/1	++	+	-	-	-	+++
<i>Bacillus halotolerans</i>	T2-1	++	+	+	-	+++	+++
<i>Paenibacillus azotifigens</i>	T2-2	++	+	-	-	-	-
<i>Neobacillus niacini</i>	T2-6	+	+	-	-	-	-
<i>Neorhizobium huautlense</i>	T2-8	+	+	-	+	-	+
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-9	++	++	-	-	-	-
<i>Kocuria rosea</i>	T2-14	++	+	-	-	-	-
<i>Paenibacillus catalpae/lupini</i>	T2-15	++	+	-	-	-	+
<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>	T2-16	+	+	-	+	-	-
<i>Rathayibacter tritici</i>	T2-18	+	+	-	-	-	-
<i>Microbacterium testaceum</i>	T2-19	+	+	-	+	-	-
<i>Paenibacillus lautus</i>	T2-20	+	-	-	-	-	+
<i>Rhodococcus cerastii</i>	T2-21	++	+	+	+	+	-
<i>Micrococcus luteus</i>	T2-22	++	+	-	-	+	+
<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	++	+	-	-	+++	+++
<i>Arthrobacter oryzae</i>	T2-25	++	+	-	-	-	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-26	++	+	-	-	+	+
<i>Metabacillus indicus</i>	T2-28	++	++	-	-	-	+
<i>Massilia timonae</i>	T2-32	+	++	-	-	-	+++
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-3	++	+	+	-	-	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	T3-4	++	+	+	-	+++	+++
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-5	++	+	+	-	+++	+++
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-6	++	+	+	-	+++	+++
<i>Acinetobacter lactucae</i>	T3-6/1	++	+	++	-	-	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	TF1-1	+	+	-	-	+	+++
<i>Bacillus mobilis</i>	TF1-2	++	-	-	+	+	+++
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	TF1-3	++	+	-	-	-	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	TF1-4	++	+	-	-	-	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF2-1	++	++	+	+	+++	+++
<i>Micrococcus luteus/aloeverae</i>	TF2-6	+	+	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-6	+	++	+	+	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-7/1	++	+	+	+	+++	+++
<i>Bacillus licheniformis</i>	TF3-16	++	++	+	-	++	+++
<i>Microbacterium paludicola</i>	TF3-20	+	+	-	-	-	+
<i>Paenibacillus lautus</i>	TF3-27	++	-	-	-	-	+++
<i>Weizmannia ginsengihumi</i>	TF3-29	+	+	+	+	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-32	+++	++	-	-	+++	+++
<i>Brevundimonas nasdae/vesicularis</i>	TF3-33	-	-	-	-	-	+
<i>Bacillus oleivorans</i>	TF3-82	+	+	-	-	-	-
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	KO1-1	+	+	+	-	+	+++
<i>Rossellomorea marisflavi</i>	KO1-2	+	+	-	-	+	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	KO1-3	+	+	-	-	-	+++
<i>Rossellomorea marisflavi</i>	KO1-3/2	+	-	-	-	-	+++
<i>Bacillus</i> <i>wiedmannii/proteolyticus/fungorum</i>	KO1-4	+	+	-	-	++	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	KO1-5	+	+	-	-	-	+++

<i>Brevibacillus reuszeri</i>	KO1-7	+	—	—	—	—	+++
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO2-1	+	+	—	—	—	—
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO2-2	+	+	—	—	++	+++
<i>Micrococcus terreus</i>	KO2-3	++	++	—	—	—	—
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO2-4	+	+	—	—	—	—
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KO2-6	++	—	+	—	—	—
<i>Kosakonia cowanii</i>	KO3-2	+	+	++	+++ ^d	++	+++
<i>Bacillus haynesii</i>	KO3-3	++	+	—	—	+++	+++
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO3-4	+	+	—	—	+	—
<i>Mixta theicola</i>	KO3-9	++	+++	+	+++	+++	+
<i>Alkalihalobacillus gibsonii</i>	KO3-10	+	—	+	—	++	+
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-11/1	++	++	+	+	+++	+
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	KO3-12	+	+	—	—	+	+
<i>Enterococcus gallinarum</i>	KO3-14	+	—	+	+++ ^d	+	++
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	KO3-17	++	+	++	—	—	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	+	++	+	+	+++	+++
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	++	++	++	+	+++	+++
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-20	++	++	—	+	—	+
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-26	+++	+	+	—	+++	+++
<i>Pantoea agglomerans</i> <i>/Curtobacterium plantarum</i>	KO3-28	+	++	++	+++	+	++
<i>Pantoea agglomerans</i>	KO3-28/1	+	+	++	+++	+	++
<i>Pantoea allii</i>	KO3-30	+	+	+	+++	+	—
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	KO3-32	++	+	+	+	—	—
<i>Okibacterium fritillariae</i>	KO3-36	+	—	—	—	—	—
<i>Bacillus haynesii</i>	KO3-38	++	+	+	—	+++	+++
<i>Sanguibacter inulinus</i>	KO3-39	+	—	—	—	—	++
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	++	+++	+	+++ ^d	+	+++
<i>Microbacterium arborescens</i> <i>/imperiale</i>	KO3-46	++	+	—	—	—	—
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-47	+	+	—	+	—	—
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	KO3-48	++	+	—	—	+++	+++
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	KO3-48/1	++	+	—	—	+++	+++
<i>Microbacterium saccharophilum</i>	KO3-49	++	+	—	—	—	—
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-51	++	++	—	+	—	+
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-80	++	++	—	+	—	+
<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	C1-1	+	+	—	—	—	+++
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	C1-2	+	+	—	+	—	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C1-3	+	+	—	—	—	+++
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	C1-5	++	—	—	—	—	—
<i>Bacillus pseudomycooides</i>	C2-1	+	—	—	—	+	+++
<i>Micrococcus luteus</i>	C2-5	++	+	—	—	—	—
<i>Micrococcus luteus</i>	C2-6	+	++	—	—	—	—
<i>Massilia timonae</i>	C2-7	+	+	—	—	—	++
<i>Massilia timonae</i>	C2-7/1	++	++	—	—	—	+++
<i>Corynebacterium doosanense</i>	C3-13	+	+	—	—	++	—
<i>Bacillus mojaviensis</i>	C3-16/2	++	+	+	+	+++	+++
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	++	++	+	—	+++	+++
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.3	+	++	+	—	+++	+++

<i>Curtobacterium pusillum</i>	C3-17	+	+	—	+	—	—
<i>Pseudoclavibacter helvolus</i>	C3-18	+	+	—	—	—	—
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	+++	+	+	—	+++	+++
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	++	++	—	+	—	++
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-40	+	+	+	—	—	+++
<i>Pantoea agglomerans</i> <i>/Curtobacterium plantarum</i>	C3-44	+++	+++	+	+++	—	+++
<i>Bacillus altitudinis/aerophilus</i> <i>/stratosphericus</i>	C3-47	++	++	+	+	+++	+++
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50	+	+	+	++	+	+++
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50/1	+	+	—	—	+++	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-53	++	+	+	—	+++	+++
<i>Bacillus wiedmannii /proteolyticus</i> <i>/fungorum</i>	C3-56	++	+	—	+	—	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-59	++	++	+	—	++	+++
<i>Bacillus mobilis</i>	C3-61	+	—	—	—	—	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-62	++	+	—	+	—	+++
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	C3-63	+	+	—	—	+++	+++
<i>Bacillus pumilus /zhangzhouensis</i> <i>/safensis</i>	C3-66	++	—	—	++	+++	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-67	+	—	—	—	++	—
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-70	+	—	—	—	—	+++
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-72	++	+	+	+	+++	+++
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	C3-73	+	—	—	—	—	+++
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	C3-76	+	+	—	—	+	+++

— bez aktivnosti; + slaba aktivnost; ++ dobra aktivnost; +++ odlična aktivnost; +++^d izuzetna aktivnost; PO₄³⁻-solubilizacija fosfata

Prilog 5. Produkcija hidrolitičkih enzima inicijalnih 156 izolata iz šećerne repe.

Vrsta	Izolat	Ami	Pro	Ksi	Man	Cel	Žel	Pek
		EI	EI	EI	EI	EI	EI	EI
<i>Lysinibacillus macroides</i>	ED1-1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cytobacillus ciccensis</i>	ED1-2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus badius</i>	ED1-3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	ED1-4	-	-	-	-	-	-	-
<i>Paenibacillus taichungensis</i>	ED2-1	2,50	-	1,07	-	1,33	1,14	1,33
<i>Bacillus velezensis</i>	ED2-2	1,25	1,31	-	1,69	1,23	1,86	1,53
<i>Knoellia locipacati</i>	ED2-4	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-6	-	-	-	-	-	1,83	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED2-7	-	-	-	-	-	1,77	-
<i>Microbacterium thalassium</i>	ED2-8	1,40	-	-	-	-	-	-
<i>Mycetocola manganooxydans</i>	ED2-10	1,25	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus succinus</i> subsp. <i>succinus</i>	ED3-1	-	-	-	-	-	1,63	-
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-2	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus mobilis</i>	ED3-3	1,71	-	-	-	1,10	1,90	-
<i>Kosakonia cowanii</i>	ED3-4	-	-	-	-	-	-	-
<i>Providencia vermicola</i>	ED3-10	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter lactucae</i>	ED3-13	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-21	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-42	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microbacterium testaceum</i>	ED3-43	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter lactucae</i>	ED3-46	-	-	-	-	-	-	-
<i>Providencia sneebia</i>	ED3-48	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella michiganensis</i>	ED3-48/1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	ED3-74	1,17	-	-	1,64	1,60	1,93	-
<i>Erwinia persicina</i>	ED3-74/1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Glutamicibacter mishrai</i>	ED3-75	1,83	2,00	-	1,15	-	1,86	-
<i>Sanguibacter keddieii</i>	ED3-76	1,50	-	-	1,29	-	1,88	-
<i>Micrococcus luteus</i>	ED3-77	-	-	-	-	-	1,13	-
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-78	-	-	-	-	-	-	-
<i>Erwinia tasmaniensis</i>	ED3-79	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	ED3-81	-	-	-	-	-	1,20	-
<i>Erwinia persicina</i>	ED3-82	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	ED3-83	-	-	-	1,43	-	-	-
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	ED3-84	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alkalihalobacillus rhizosphaerae</i>	ED3-85	-	-	-	-	-	-	-
<i>Frigoribacterium faeni</i>	ED3-86	-	-	-	-	1,09	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	ED3-89	-	-	-	1,11	1,57	1,50	1,17
<i>Lysinibacillus macroides</i>	T1-1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	T1-2	-	-	-	-	-	1,88	-
<i>Bacillus wiedmannii</i> <i>/proteolyticus/fungorum</i>	T1-3	-	-	-	-	-	2,28	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	T1-4	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus altitudinis/aerophilus</i> <i>/stratosphericus</i>	T1-5	-	-	-	-	-	1,13	-

<i>Bacillus alitudinis/aerophilus</i> <i>/stratosphericus</i>	T1-6	-	-	-	-	-	1,63	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	T1-6/1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus halotolerans</i>	T2-1	1,67	1,19	-	1,76	2,22	1,81	-
<i>Paenibacillus azotifigens</i>	T2-2	1,60	-	-	-	1,70	-	-
<i>Neobacillus niacini</i>	T2-6	-	-	-	-	-	-	-
<i>Neorhizobium huautlense</i>	T2-8	-	-	-	-	1,20	-	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-9	-	-	-	1,42	-	-	-
<i>Kocuria rosea</i>	T2-14	1,44	-	-	-	-	-	-
<i>Paenibacillus catalpae/lupini</i>	T2-15	1,25	-	1,20	1,36	-	-	-
<i>Rhodococcus corynebacterioides</i>	T2-16	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rathayibacter tritici</i>	T2-18	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microbacterium testaceum</i>	T2-19	-	-	-	-	-	1,33	-
<i>Paenibacillus lautus</i>	T2-20	1,30	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodococcus cerastii</i>	T2-21	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	T2-22	-	-	-	-	-	1,13	-
<i>Bacillus velezensis</i>	T2-23	1,35	1,22	-	1,83	1,50	1,72	1,70
<i>Arthrobacter oryzae</i>	T2-25	1,30	-	1,45	1,41	-	1,67	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	T2-26	-	-	-	-	-	1,67	-
<i>Metabacillus indicus</i>	T2-28	1,33	-	-	-	-	-	-
<i>Massilia timonae</i>	T2-32	2,35	1,09	1,91	1,50	-	1,83	-
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-3	1,30	-	-	1,38	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	T3-4	1,33	1,21	-	1,82	1,77	1,48	2,01
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-5	1,31	-	1,25	1,42	2,00	1,16	-
<i>Bacillus sonorensis</i>	T3-6	1,21	-	-	1,70	1,86	1,34	-
<i>Acinetobacter lactucae</i>	T3-6/1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	TF1-1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus mobilis</i>	TF1-2	1,57	-	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	TF1-3	-	1,47	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	TF1-4	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	TF2-1	1,13	1,12	-	-	-	1,60	-
<i>Micrococcus luteus/aloeverae</i>	TF2-6	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-6	1,68	1,14	2,27	-	-	1,50	2,29
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-7/1	1,09	-	2,00	1,41	-	1,83	1,93
<i>Bacillus licheniformis</i>	TF3-16	1,35	-	-	1,24	-	1,29	-
<i>Microbacterium paludicola</i>	TF3-20	-	-	-	-	-	1,22	-
<i>Paenibacillus lautus</i>	TF3-27	1,33	-	-	-	-	-	-
<i>Weizmannia ginsengihumi</i>	TF3-29	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	TF3-32	1,36	1,13	-	-	2,23	1,88	-
<i>Brevundimonas nasdae</i> <i>/vesicularis</i>	TF3-33	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus oleivorans</i>	TF3-82	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	KO1-1	1,64	-	-	-	1,29	2,11	-
<i>Rossellomorea marisflavi</i>	KO1-2	-	-	-	-	-	1,69	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	KO1-3	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rossellomorea marisflavi</i>	KO1-3/2	-	-	-	1,13	-	1,77	-
<i>Bacillus wiedmannii</i> <i>/proteolyticus/fungorum</i>	KO1-4	1,17	-	-	1,06	-	1,81	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	KO1-5	1,10	-	-	-	-	-	-

<i>Brevibacillus reuszeri</i>	KO1-7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO2-1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO2-2	-	-	-	-	-	1,17	-	-
<i>Micrococcus terreus</i>	KO2-3	-	-	-	-	-	1,17	-	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO2-4	-	2,00	-	1,48	-	1,58	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KO2-6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Kosakonia cowanii</i>	KO3-2	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus haynesii</i>	KO3-3	-	-	-	1,43	1,56	-	-	1,05
<i>Micrococcus aloeverae</i>	KO3-4	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mixta theicola</i>	KO3-9	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alkalihalobacillus gibsonii</i>	KO3-10	-	-	-	-	-	-	-	1,50
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-11/1	1,23	-	-	-	1,16	1,32	2,42	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	KO3-12	-	1,08	-	-	-	1,83	1,17	-
<i>Enterococcus gallinarum</i>	KO3-14	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	KO3-17	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-18	1,10	-	-	-	1,83	1,44	2,43	-
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	KO3-19	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-20	-	-	-	-	-	1,86	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	KO3-26	1,62	-	-	-	1,14	1,72	2,08	-
<i>Pantoea agglomerans</i> <i>/Curtobacterium plantarum</i>	KO3-28	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pantoea agglomerans</i>	KO3-28/1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pantoea allii</i>	KO3-30	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>	KO3-32	-	-	-	-	-	-	-	1,09
<i>Okibacterium fritillariae</i>	KO3-36	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus haynesii</i>	KO3-38	1,40	1,14	-	-	-	1,27	-	-
<i>Sanguibacter inulinus</i>	KO3-39	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mixta theicola</i>	KO3-44	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microbacterium</i> <i>arborescens/imperiale</i>	KO3-46	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-47	-	-	-	-	-	1,83	-	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	KO3-48	-	-	-	-	-	1,73	1,17	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	KO3-48/1	-	-	-	-	-	1,73	1,17	-
<i>Microbacterium saccharophilum</i>	KO3-49	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-51	-	-	-	-	-	1,86	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	KO3-80	-	-	-	-	-	1,86	-	-
<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	C1-1	1,75	1,13	-	-	-	1,65	-	-
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	C1-2	-	-	-	-	-	1,67	-	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C1-3	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	C1-5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus pseudomycooides</i>	C2-1	2,83	1,05	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	C2-5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	C2-6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Massilia timonae</i>	C2-7	2,92	-	-	-	-	1,44	-	-
<i>Massilia timonae</i>	C2-7/1	2,83	-	-	-	-	1,36	-	-
<i>Corynebacterium doosanense</i>	C3-13	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus mojavensis</i>	C3-16/2	-	-	-	-	1,17	-	-	2,50
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.1	1,24	1,79	-	1,48	1,79	1,31	2,00	-
<i>Bacillus halotolerans</i>	C3-16/2.3	1,33	1,89	-	1,64	1,67	1,77	1,88	-

<i>Curtobacterium pusillum</i>	C3-17	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudoclavibacter helvolus</i>	C3-18	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	C3-19	-	1,24	-	1,67	1,56	1,58	1,56
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	C3-36	1,60	-	1,60	1,21	2,00	1,41	1,33
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-40	-	-	-	-	-	1,63	-
<i>Pantoea agglomerans</i> <i>/Curtobacterium plantarum</i>	C3-44	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus altitudinis/aerophilus</i> <i>/stratosphericus</i>	C3-47	-	1,11	-	-	-	1,75	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50	-	1,21	-	-	-	1,73	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	C3-50/1	-	1,08	1,17	-	-	1,88	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-53	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus wiedmannii /proteolyticus</i> <i>/fungorum</i>	C3-56	1,50	-	-	-	-	2,21	-
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-59	1,40	1,15	-	-	-	1,40	-
<i>Bacillus mobilis</i>	C3-61	1,74	1,38	-	-	-	1,70	-
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-62	-	-	-	1,38	-	1,50	1,81
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	C3-63	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus pumilus/zhangzhouensis</i> <i>/safensis</i>	C3-66	-	-	-	-	-	1,50	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-67	-	1,34	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	C3-70	1,62	1,50	-	-	-	1,34	-
<i>Bacillus subtilis</i>	C3-72	1,47	1,61	-	-	1,70	1,51	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	C3-73	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	C3-76	-	-	-	-	-	-	-

Ami - Amilaza; Pro - Proteinaza; Lip - Lipaza; Ksi - Ksilanaza; Man - Mananaza; Cel - Celulaza; Žel - Želatinaza; Pek - Pektinaza; EI - enzimatski indeks, - nema aktivnosti, EI >1 dobra aktivnost, EI=1-2 veoma dobra aktivnost, EI>2 odlična aktivnost

Prilog 6. PGP karakteristike inicijalnih 71 izolata iz pšenice.

Vrsta	Izolat	Rast na DF sa (NH ₄) ₂ SO ₄	Rast na DF bez (NH ₄) ₂ SO ₄	PO ₄ ³⁻	Produkcija EPS-a	Rojenje	Plivanje
Centurion sorta							
<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	MP5-1	++	++	-	-	+	+++
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	MP5-2	+	+	-	-	+	+++
<i>Microbacterium foliorum</i>	MP6-2	+	+	-	+	-	++
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-5	+++	++	++	+++	-	+++
<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	MP6-14	+	++	-	+	+++	+++
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	+	+	-	+	+	+++
<i>Niallia nealsonii/circulans</i>	MP6-20	++	++	-	+	-	+++
<i>Bacillus proteolyticus/wiedmannii</i> <i>/sanguinis/fungorum</i>	MP6-26/1	++	+	-	-	-	+++
<i>Micrococcus aloeverae</i>	MP6-29	++	+	-	-	+	+
<i>Peribacillus simplex</i>	MP6-30/1	++	++	-	-	+	++
<i>Curtobacterium</i> <i>citreum/oceanosedimentum</i>	MP6-33	+	+	-	+	-	++
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-36	++	++	+++	+++	++	+++
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-37/1	+	+	++	+	+++	+++
<i>Curtobacterium herbarum</i>	MP6-39	+	+	-	+	-	+
<i>Peribacillus simplex</i>	MP6-47	++	+	-	-	+	-
<i>Microbacterium thalassium</i>	MP6-49	+	++	-	-	-	+
<i>Pseudorhodoferax soli</i>	MP6-55	+	+	-	+	++	+++
<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	MP6-60	++	++	+	+	++	-
<i>Bacillus licheniformis</i>	MP6-85	+++	++	+	+	+++	+++
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP6-86	+	++	-	+	+++	+++
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-87	+	+	++	+	+++	+++
Genius sorta							
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	MP7-1	++	++	-	-	++	+++
<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	MP7-2	++	++	-	-	++	+++
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP7-3	+	+	-	+	-	+++
<i>Peribacillus simplex</i>	MP8-1	+	++	-	-	+	+++
<i>Olivibacter soli</i>	MP8-2	+	+	+	-	+++	+++
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP8-4	+	+	+	+++	+	+++
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP8-7	+	+	+	-	+	+++
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-10	+	+	-	+	-	-
<i>Peribacillus simplex</i>	MP8-11/1	+	++	-	-	+	-
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-16	+	-	+	+	-	++
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP8-17	++	++	+	+	++	-
<i>Peribacillus frigiditolerans</i>	MP8-18	++	++	-	-	-	+++
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	MP8-20	+	+	-	-	++	+++
<i>Phyllobacterium ifriqiyense</i>	MP8-23	+	+	+	++	-	++
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP8-24	+	+	+	+	-	++
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP8-25	+	+	-	+	-	++
<i>Microbacterium maritipicum</i>	MP8-26	+	+	-	-	-	++
Modern sorta							
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP9-1	++	+	+	+	++	-

<i>Priestia endophytica</i>	MP9-2/1	++	++	+	+	++	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP9-3	++	+	-	+	++	+++
<i>Lysinibacillus macroides</i>	MP9-5	+	+	-	-	+	+++
<i>Cytobacillus ciccensis</i>	MP9-6	+	+	-	-	+	+++
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	++	+	+	-	+++	+++
<i>Paenibacillus lautus</i>	MP9-9	++	++	-	-	+	++
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus</i> <i>/altitudinis</i>	MP10-1	+	+	-	+	+++	+++
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	++	+	+	-	+++	+++
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus</i> <i>/altitudinis</i>	MP10-10	++	++	-	-	+++	+++
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-15	++	++	-	+++ ^d	-	-
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-16	+	++	-	-	+++	+++
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	++	+	-	+	+	+
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-21	+	+	-	-	+++	+++
<i>Bacillus mojaviensis</i>	MP10-28	+++	++	+	-	+++	+++
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	++	+	+	++	+++	+++
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	++	+++	+++	+++	+	+++
<i>Pseudomonas koreensis</i>	MP10-32	++	++	+	++	+++	+++
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	+++	++	+	+++ ^d	++	++
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP10-38	++	++	-	+	-	++
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-39	++	++	+	+++ ^d	-	++
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP10-43	+	-	+	+	+++	+++
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-44	+	+	-	+	-	+++
<i>Lysobacter antibioticus</i>	MP10-49	-	-	-	+	-	-
<i>Flavobacterium saccharophilum</i>	MP10-51	-	-	-	-	-	-
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP10-54	+	++	-	-	-	+
<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i>	MP10-55	++	+	-	-	-	+++
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-58	+	+	-	-	-	+
<i>Pseudomonas lutea</i>	MP10-60	-	-	+	++	+	+++
<i>Rhizobium soli</i>	MP10-64	++	++	+	+	-	+
<i>Promicromonospora callitridis</i>	MP10-65	++	++	-	-	-	+
<i>Sphingomonas aurantiaca</i>	MP10-66	+	+	-	-	-	+
<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>	MP10-67	+	+	-	+	-	++

— bez aktivnosti; + slaba aktivnost; ++ dobra aktivnost; +++ odlična aktivnost; +++^d izuzetna aktivnost; PO₄³⁻-solubilizacija fosfata

Prilog 7. Produkcija hidrolitičkih enzima inicijalnih 71 izolata iz pšenice.

Vrsta	Izolat	Ami	Pro	Lip	Ksi	Man	Cel	Žel	Pek
		EI	EI	EI	EI	EI	EI	EI	EI
Centurion sorta									
<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	MP5-1	1,78	1,24	-	-	-	-	1,55	-
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	MP5-2	-	-	-	-	1,00	-	1,25	-
<i>Microbacterium foliorum</i>	MP6-2	1,83	-	-	-	-	-	-	-
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-5	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Novosphingobium panipatense/soli</i>	MP6-14	-	-	-	-	1,00	-	1,00	-
<i>Chryseobacterium lathyri/elymi</i>	MP6-19	2,15	2,02	-	-	-	-	-	2,15
<i>Niallia nealsonii/circulans</i>	MP6-20	2,45	1,08	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus proteolyticus/wiedmannii/sanguinis/fungorum</i>	MP6-26/1	2,52	1,39	-	-	-	-	1,59	-
<i>Micrococcus aloeverae</i>	MP6-29	-	-	1,13	-	1,50	-	-	-
<i>Peribacillus simplex</i>	MP6-30/1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium citreum/oceanosedimentum</i>	MP6-33	8,50	1,08	-	-	1,42	-	-	1,08
<i>Serratia oryzae</i>	MP6-36	7,65	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-37/1	-	1,60	1,36	1,14	-	1,18	-	-
<i>Curtobacterium herbarum</i>	MP6-39	-	-	1,08	-	-	-	-	-
<i>Peribacillus simplex</i>	MP6-47	-	-	1,07	-	-	-	-	-
<i>Microbacterium thalassium</i>	MP6-49	1,25	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudorhodoferax soli</i>	MP6-55	-	-	-	-	1,00	-	1,00	-
<i>Arthrobacter gyeryongensis/bambusae</i>	MP6-60	1,67	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i>	MP6-85	1,11	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP6-86	3,96	1,16	-	-	1,27	1,34	1,25	-
<i>Pseudomonas trivialis/poae</i>	MP6-87	7,85	1,46	-	-	-	1,35	-	-
Genius sorta									
<i>Bacillus pacificus/paranthracis</i>	MP7-1	1,69	1,19	-	-	-	1,00	1,35	-
<i>Bacillus toyonensis/thuringiensis</i>	MP7-2	1,51	1,12	-	-	-	-	1,86	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP7-3	1,33	-	1,23	-	-	-	-	-
<i>Peribacillus simplex</i>	MP8-1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Olivibacter soli</i>	MP8-2	-	1,69	-	-	-	-	1,90	1,33
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP8-4	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP8-7	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-10	-	-	1,24	-	-	-	-	-
<i>Peribacillus simplex</i>	MP8-11/1	-	1,30	-	-	-	1,20	-	1,43
<i>Sphingopyxis fribergensis</i>	MP8-16	-	-	1,28	-	-	-	-	-
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP8-17	1,44	-	-	-	-	-	-	-
<i>Peribacillus frigoritolerans</i>	MP8-18	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	MP8-20	-	1,26	1,07	-	-	-	-	-
<i>Phyllobacterium ifriqiyense</i>	MP8-23	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP8-24	-	1,17	1,15	-	-	-	-	-
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP8-25	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microbacterium maritipicum</i>	MP8-26	-	-	-	-	-	-	1,71	-

Modern sorta									
<i>Priestia aryabhatai</i>	MP9-1	1,54	0,25	1,11	-	-	-	-	-
<i>Priestia endophytica</i>	MP9-2/1	4,62	1,46	1,23	1,66	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus pakistanensis</i>	MP9-3	-	1,00	1,50	-	-	-	-	-
<i>Lysinibacillus macroides</i>	MP9-5	-	-	1,48	-	-	-	-	-
<i>Cytobacillus ciccensis</i>	MP9-6	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus halotolerans</i>	MP9-8	4,38	1,67	-	-	1,76	2,14	-	1,40
<i>Paenibacillus lautus</i>	MP9-9	2,10	1,00	-	-	-	1,55	-	2,75
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus /altitudinis</i>	MP10-1	1,54	1,21	1,10	-	-	-	1,31	-
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-7	1,75	1,42	-	-	1,64	1,45	1,30	-
<i>Bacillus aerophilus/stratosphericus /altitudinis</i>	MP10-10	-	-	1,12	-	-	-	-	-
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-15	4,00	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-16	1,73	-	-	-	2,17	1,71	1,71	-
<i>Paenibacillus glycanilyticus</i>	MP10-20	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus velezensis</i>	MP10-21	1,77	-	-	-	2,30	1,86	-	-
<i>Bacillus mojavensis</i>	MP10-28	1,73	1,17	-	-	1,91	2,42	1,90	2,08
<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	MP10-30	-	-	1,22	-	1,43	1,62	-	1,40
<i>Curtobacterium plantarum</i>	MP10-31	2,90	-	-	-	-	-	1,80	-
<i>Pseudomonas koreensis</i>	MP10-32	1,48	-	1,56	-	-	-	1,38	-
<i>Pseudomonas lini</i>	MP10-34	-	-	1,29	-	-	-	-	-
<i>Curtobacterium pusillum</i>	MP10-38	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Variovorax paradoxus</i>	MP10-39	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas trivialis /poae</i>	MP10-43	1,38	-	1,22	-	-	-	1,25	-
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-44	1,40	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lysobacter antibioticus</i>	MP10-49	-	1,20	1,31	-	1,25	-	-	-
<i>Flavobacterium saccharophilum</i>	MP10-51	-	-	-	-	1,00	-	1,00	-
<i>Brevundimonas nasdae</i>	MP10-54	1,63	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i>	MP10-55	-	-	-	-	-	-	1,36	-
<i>Microbacterium maritypicum</i>	MP10-58	-	-	-	-	-	-	1,23	-
<i>Pseudomonas lutea</i>	MP10-60	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizobium soli</i>	MP10-64	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Promicromonospora callitridis</i>	MP10-65	1,30	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sphingomonas aurantiaca</i>	MP10-66	-	-	1,35	-	-	-	1,00	-
<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>	MP10-67	1,50	-	-	-	1,00	-	-	-

Ami - Amilaza; Pro - Proteinaza; Lip - Lipaza; Ksi - Ksilanaza; Man - Mananaza; Cel - Celulaza; Žel - Želatinaza; Pek - Pektinaza; EI - enzimatski indeks, - nema aktivnosti, EI >1 dobra aktivnost, EI=1-2 veoma dobra aktivnost, EI>2 odlična aktivnost

Prilog 8. Rezultati izolata iz šećerne repe u ko-kulturi.

		Prva replika					Druga replika					Treća replika				
		Pekt.	Lipaze	Sider.	PO ₄ ³⁻	IAA	Pekt.	Lipaze	Sider.	PO ₄ ³⁻	IAA	Pekt.	Lipaze	Sider.	PO ₄ ³⁻	IAA
		EI	EI	EI	EI	µg/mL	EI	EI	EI	EI	µg/mL	EI	EI	EI	EI	µg/mL
1	C3-16/2.1_C3-19	0,00	0,00	0,00	0,00	1,21	1,33	1,08	1,60	0,00	4,63	0,00	0,00	1,33	0,00	2,83
2	C3-16/2.1_C3-36	1,80	1,79	0,00	0,00	0,73	1,58	1,83	0,00	0,00	3,27	0,00	0,00	0,00	2,60	
3	C3-16/2.1_C3-50	0,00	0,00	0,00	0,00	1,17	0,00	1,80	0,67	0,00	3,61	0,00	1,60	0,59	2,53	
4	C3-16/2.1_C3-53	1,76	1,50	0,00	0,00	9,14	1,71	0,00	1,50	0,00	5,99	1,50	0,00	0,00	8,09	
5	C3-16/2.1_ED2-1	1,79	0,00	1,38	0,00	0,97	1,70	0,00	1,50	0,00	3,95	1,21	1,10	1,38	2,77	
6	C3-16/2.1_ED2-6	1,50	0,00	1,53	1,25	1,17	1,67	0,00	1,78	1,40	3,61	0,00	1,10	1,38	2,73	
7	C3-16/2.1_ED3-10	1,50	0,00	0,00	0,00	81,07	1,42	0,00	0,00	0,00	73,44	1,17	0,00	1,43	92,80	
8	C3-16/2.1_ED3-75	1,33	0,00	1,25	0,00	38,36	1,36	0,00	0,00	0,00	6,33	1,14	1,09	0,60	13,95	
9	C3-16/2.1_ED3-79	0,00	0,00	1,25	1,85	11,95	1,73	1,11	1,71	0,00	4,63	0,00	0,00	0,00	23,68	
10	C3-16/2.1_KO1-1	2,00	0,00	1,42	0,00	4,02	1,54	0,55	1,69	0,00	3,27	1,55	1,08	0,00	3,41	
11	C3-16/2.1_KO3-18	1,83	1,11	1,55	0,00	1,72	1,77	0,00	1,72	0,00	4,29	1,67	1,09	1,36	4,80	
12	C3-16/2.1_KO3-19	1,58	0,00	0,00	1,33	0,83	1,83	1,09	1,47	1,35	3,27	1,33	1,08	1,21	1,95	
13	C3-16/2.1_KO3-44	1,76	0,00	1,29	1,35	57,58	2,35	1,18	1,75	0,00	13,44	1,29	1,10	1,38	2,36	
14	C3-16/2.1_T1-2	1,57	1,09	1,20	0,00	1,78	2,20	0,00	1,72	0,00	3,61	1,50	1,10	1,32	2,33	
15	C3-16/2.1_T2-23	1,68	0,00	1,29	0,00	1,85	1,80	1,11	1,71	0,00	3,61	0,00	0,00	1,33	3,38	
16	C3-16/2.1_T2-25	1,67	1,19	1,50	0,00	1,24	2,00	1,50	1,54	0,00	4,29	1,37	1,10	1,18	3,38	
17	C3-16/2.1_T2-26	1,62	1,37	1,38	0,00	1,61	1,83	1,55	1,46	0,00	3,61	1,43	0,00	1,30	2,87	
18	C3-16/2.1_T3-5	1,67	0,00	0,00	0,00	1,41	1,58	0,00	0,00	0,00	4,29	1,33	0,00	0,00	2,87	
19	C3-19_C3-36	1,33	0,00	1,34	0,00	2,29	1,35	0,00	1,55	0,00	4,97	0,00	0,00	0,62	3,41	
20	C3-19_C3-50	0,00	0,00	1,25	0,00	2,29	0,00	0,00	2,00	0,00	4,63	0,00	0,00	1,33	3,34	
21	C3-19_C3-53	0,00	0,00	1,50	0,00	17,95	0,00	0,00	1,59	0,00	8,02	0,00	0,00	0,00	6,60	
22	C3-19_ED2-1	0,00	0,00	1,50	0,00	2,33	0,00	0,00	1,80	0,00	4,63	0,00	0,00	1,35	2,77	
23	C3-19_ED2-6	0,00	0,00	1,40	0,00	2,49	0,00	0,00	1,81	0,00	3,95	0,00	0,00	1,24	27,11	
24	C3-19_ED3-10	0,00	0,00	0,00	0,00	97,44	0,00	0,00	0,00	0,00	98,53	0,00	0,00	0,00	88,60	
25	C3-19_ED3-75	0,00	0,00	1,44	0,00	2,39	0,00	0,00	1,94	0,00	3,61	0,00	0,00	1,27	3,00	
26	C3-19_ED3-79	0,00	0,00	1,25	0,00	3,95	0,00	0,00	1,64	0,00	5,65	0,00	0,00	1,25	19,21	
27	C3-19_KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	3,07	0,00	0,00	1,95	0,00	3,95	0,00	0,00	1,44	3,65	
28	C3-19_KO3-18	0,00	0,00	0,00	0,00	2,80	0,00	0,81	1,71	0,00	3,95	0,00	0,00	1,16	3,04	
29	C3-19_KO3-19	1,17	0,00	1,57	0,00	3,55	0,00	0,00	1,78	0,00	4,97	0,00	0,00	1,21	4,02	
30	C3-19_KO3-44	0,00	0,00	1,57	0,00	18,09	0,00	0,00	1,90	0,00	7,34	0,00	0,00	1,24	6,90	

31	C3-19_T1-2	0,00	0,00	1,64	0,00	2,22	0,00	0,00	2,14	0,00	3,27	0,00	0,00	1,29	0,00	3,48
32	C3-19_T2-23	1,07	0,00	1,64	0,00	2,05	0,00	0,00	1,58	0,00	3,95	0,00	0,00	1,10	0,00	3,31
33	C3-19_T2-25	0,00	0,00	1,33	0,00	2,33	0,00	0,00	1,67	0,00	3,61	0,00	0,00	1,34	0,00	3,24
34	C3-19_T2-26	0,00	0,00	1,57	0,00	6,26	0,00	0,00	1,77	0,00	27,00	0,00	0,00	1,38	0,00	3,38
35	C3-19_T3-5	0,00	0,00	1,51	0,00	2,70	0,00	0,00	1,20	0,00	3,95	0,00	0,00	1,43	0,00	3,21
36	C3-36_C3-50	0,00	1,17	0,00	0,00	2,90	0,00	0,00	0,00	0,00	3,27	0,00	0,00	0,00	0,00	4,36
37	C3-36_C3-53	1,18	0,00	0,00	0,00	10,19	0,00	0,00	0,00	0,00	11,75	0,00	0,00	0,00	0,00	3,95
38	C3-36_ED2-1	0,00	0,00	0,00	0,00	2,90	1,21	0,00	0,00	0,00	3,95	0,00	0,00	0,00	0,00	3,38
39	C3-36_ED2-6	1,14	0,00	0,00	0,00	2,46	1,58	0,00	0,00	0,00	6,66	0,00	0,00	0,00	0,00	3,58
40	C3-36_ED3-10	0,00	0,00	0,00	0,00	96,09	0,00	0,00	0,00	0,00	94,46	0,00	0,00	0,00	0,00	79,48
41	C3-36_ED3-75	1,17	0,00	0,00	0,00	24,46	1,25	0,00	0,00	0,00	7,68	0,00	0,00	0,00	0,00	12,36
42	C3-36_ED3-79	0,00	0,00	0,00	1,55	5,88	1,25	0,00	0,00	0,00	5,31	0,00	0,00	0,00	0,00	3,31
43	C3-36_KO1-1	1,47	0,00	0,00	0,00	3,58	1,17	0,00	0,00	0,00	4,97	0,00	0,00	0,00	0,00	5,27
44	C3-36_KO3-18	1,67	1,38	1,20	0,00	3,21	1,33	0,00	0,71	0,00	3,95	0,00	0,00	0,00	0,00	3,65
45	C3-36_KO3-19	1,20	1,08	0,00	1,40	5,27	1,42	0,00	0,00	0,00	5,65	0,00	0,00	0,00	0,00	4,26
46	C3-36_KO3-44	1,47	0,00	0,00	1,23	16,39	1,33	0,00	0,00	0,00	55,48	0,00	0,00	0,00	0,00	3,38
47	C3-36_T1-2	1,17	0,00	0,00	0,00	2,46	1,33	0,00	0,00	0,00	4,63	0,00	0,00	0,00	0,00	3,65
48	C3-36_T2-23	1,29	1,06	1,71	0,00	2,63	1,50	0,00	1,35	0,00	4,29	0,00	0,00	0,00	0,00	3,04
49	C3-36_T2-25	1,17	0,00	0,00	0,00	2,46	1,33	0,00	0,00	0,00	4,29	0,00	0,00	0,00	0,00	3,99
50	C3-36_T2-26	1,27	0,00	0,00	0,00	1,61	0,00	0,00	0,00	0,00	4,97	0,00	0,00	0,00	0,00	3,31
51	C3-36_T3-5	1,40	0,00	0,00	0,00	5,04	1,33	0,00	0,00	0,00	3,95	0,00	0,00	0,00	0,00	4,97
52	C3-50_C3-53	0,00	1,50	0,00	0,00	6,39	0,00	1,33	0,00	0,00	7,68	0,00	1,23	0,00	0,00	6,05
53	C3-50_ED2-1	0,00	1,50	1,32	1,25	2,43	0,00	1,20	1,11	0,00	4,29	0,00	1,33	0,00	0,00	2,73
54	C3-50_ED2-6	0,00	1,50	0,00	0,00	2,80	0,00	1,18	1,35	0,00	4,29	0,00	1,33	0,59	0,00	3,14
55	C3-50_ED3-10	0,00	1,43	0,00	0,00	94,73	0,00	1,27	1,33	0,00	86,33	0,00	1,11	0,00	0,00	98,19
56	C3-50_ED3-75	0,00	1,50	1,17	0,00	40,46	0,00	1,23	1,22	0,00	4,29	0,00	0,00	0,00	0,00	2,43
57	C3-50_ED3-79	0,00	1,75	0,00	1,23	3,17	0,00	1,45	1,24	1,68	20,90	0,00	1,33	0,00	0,00	31,14
58	C3-50_KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	3,72	0,00	0,00	0,00	0,00	4,29	0,00	1,33	0,00	0,00	2,60
59	C3-50_KO3-18	0,00	1,56	0,00	0,00	3,21	1,73	0,00	1,47	0,00	4,29	1,83	1,15	1,44	0,00	3,85
60	C3-50_KO3-19	0,00	1,67	0,00	1,30	1,55	0,00	1,75	1,23	0,00	3,61	0,00	1,33	0,61	0,00	1,00
61	C3-50_KO3-44	0,00	1,42	0,63	0,00	51,82	0,00	1,18	1,25	1,40	13,11	0,00	1,29	0,00	0,00	47,21
62	C3-50_T1-2	0,00	1,50	1,12	0,00	3,00	0,00	1,40	1,22	0,00	4,97	0,00	1,33	0,00	0,00	5,55
63	C3-50_T2-23	1,57	0,00	1,94	0,00	2,39	1,75	0,00	1,91	0,00	4,97	0,00	0,00	1,34	0,00	2,70
64	C3-50_T2-25	0,00	2,10	0,00	0,00	3,00	0,00	1,09	1,26	0,00	5,31	0,00	1,33	0,00	0,00	2,46
65	C3-50_T2-26	0,00	1,67	1,16	0,00	3,17	0,00	1,20	1,11	0,00	4,63	0,00	1,28	0,64	0,00	1,68

66	C3-50_T3-5	0,00	2,50	1,20	0,00	3,11	0,00	1,83	0,00	0,00	4,63	0,00	1,61	0,00	0,00	2,80
67	C3-53_ED2-1	0,00	1,67	0,00	0,00	8,29	0,00	1,40	0,00	0,00	6,66	0,00	1,17	0,00	0,00	7,31
68	C3-53_ED2-6	0,00	1,67	0,00	0,63	10,19	0,00	1,45	0,00	0,00	8,36	0,00	1,14	0,00	0,00	9,34
69	C3-53_ED3-10	0,00	1,42	0,00	1,17	95,65	0,00	1,34	0,00	0,00	72,09	0,00	1,33	0,00	0,00	93,34
70	C3-53_ED3-75	0,00	1,15	0,00	0,00	30,43	0,00	1,17	0,00	0,00	6,33	0,00	1,14	0,00	0,00	4,22
71	C3-53_ED3-79	0,00	0,00	0,00	0,00	5,92	0,00	0,00	0,00	1,34	22,26	0,00	0,00	0,00	0,00	35,44
72	C3-53_KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	3,88	0,00	0,00	0,00	0,00	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,92
73	C3-53_KO3-18	1,43	1,50	0,00	0,00	8,73	1,67	1,17	0,00	0,00	7,68	1,43	1,14	0,00	0,00	8,97
74	C3-53_KO3-19	0,00	1,83	0,00	1,20	5,48	0,00	1,40	0,00	1,40	6,33	0,00	1,14	0,00	1,40	5,17
75	C3-53_KO3-44	0,00	1,50	0,00	1,14	31,55	0,00	1,47	0,00	0,00	16,83	0,00	1,14	0,00	0,00	31,14
76	C3-53_T1-2	0,00	1,27	0,00	0,00	10,02	0,00	1,33	0,00	0,00	6,33	0,00	1,14	0,00	0,00	7,68
77	C3-53_T2-23	1,57	0,00	2,06	0,00	2,77	1,43	0,00	1,29	0,00	4,63	0,00	0,00	1,47	0,00	2,56
78	C3-53_T2-25	0,00	1,67	0,00	0,00	12,56	0,00	1,40	0,00	0,00	12,09	0,00	1,15	0,00	0,00	11,34
79	C3-53_T2-26	0,00	1,67	0,00	0,00	5,34	0,00	1,47	0,00	0,00	12,77	0,00	1,15	0,00	0,00	13,00
80	C3-53_T3-5	0,00	2,17	0,00	0,00	9,34	0,00	1,60	0,00	0,00	8,36	0,00	1,15	0,00	0,00	9,55
81	ED2-1_ED2-6	0,00	1,20	0,00	1,33	3,88	0,00	1,20	0,00	1,25	5,65	0,00	0,00	0,00	0,00	4,12
82	ED2-1_ED3-10	0,00	1,28	0,00	1,20	96,39	0,00	1,14	0,00	1,10	96,16	0,00	1,14	0,00	0,00	86,09
83	ED2-1_ED3-75	0,00	1,13	0,00	0,00	41,00	0,00	1,33	0,00	0,00	7,00	0,00	1,13	0,00	0,00	9,44
84	ED2-1_ED3-79	0,00	0,00	1,43	0,00	11,27	0,00	0,00	0,00	1,37	39,55	0,00	0,00	0,00	0,00	44,12
85	ED2-1_KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	2,46	0,00	0,00	0,00	0,00	6,66	0,00	0,00	0,00	0,00	5,82
86	ED2-1_KO3-18	2,24	1,38	1,36	0,00	2,16	2,00	0,00	2,25	0,00	4,97	1,83	1,16	1,24	0,00	4,39
87	ED2-1_KO3-19	0,00	1,60	0,00	1,45	1,21	0,00	1,40	0,00	1,55	3,27	0,00	1,14	0,00	0,00	1,21
88	ED2-1_KO3-44	0,00	1,31	0,00	0,00	65,85	1,08	1,33	0,00	0,00	60,56	0,00	1,14	0,00	0,00	27,21
89	ED2-1_T1-2	1,25	1,29	0,00	0,00	9,68	1,42	1,14	0,00	1,30	11,07	0,00	0,00	0,00	0,00	7,41
90	ED2-1_T2-23	1,36	0,00	1,37	0,00	2,60	1,64	0,00	1,67	0,00	5,31	0,00	0,00	1,58	0,00	2,80
91	ED2-1_T2-25	0,00	1,20	0,00	0,00	3,31	0,00	0,00	0,00	0,00	5,65	0,00	1,20	0,00	0,00	3,95
92	ED2-1_T2-26	0,00	1,20	0,00	0,00	2,02	0,00	1,23	0,00	0,00	4,97	0,00	1,20	0,00	0,00	3,75
93	ED2-1_T3-5	0,00	1,67	0,00	0,00	4,90	1,17	0,00	0,00	0,00	4,63	0,00	1,17	0,00	0,00	3,99
94	ED2-6_ED3-10	0,00	0,00	0,00	1,25	93,21	0,00	0,00	0,00	1,38	98,53	0,00	0,00	0,00	0,00	96,12
95	ED2-6_ED3-75	0,00	1,14	0,00	0,00	35,55	0,00	1,25	0,00	1,33	9,72	0,00	1,17	0,00	0,00	10,66
96	ED2-6_ED3-79	0,00	0,00	0,00	0,00	2,73	0,00	0,00	0,00	0,00	43,27	0,00	0,00	0,00	0,00	43,41
97	ED2-6_KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	4,12	0,00	0,00	0,00	0,00	5,31	0,00	0,00	0,00	0,00	3,24
98	ED2-6_KO3-18	1,71	1,25	1,32	0,00	1,65	2,17	1,07	1,80	0,00	5,99	1,36	0,00	1,47	0,00	4,16
99	ED2-6_KO3-19	0,00	1,92	0,00	1,15	0,97	0,00	2,00	0,00	0,00	1,58	0,00	1,37	0,00	0,00	0,33
100	ED2-6_KO3-44	0,00	0,00	0,00	1,53	53,65	0,00	0,00	0,00	1,34	52,77	0,00	0,00	0,00	1,23	56,29

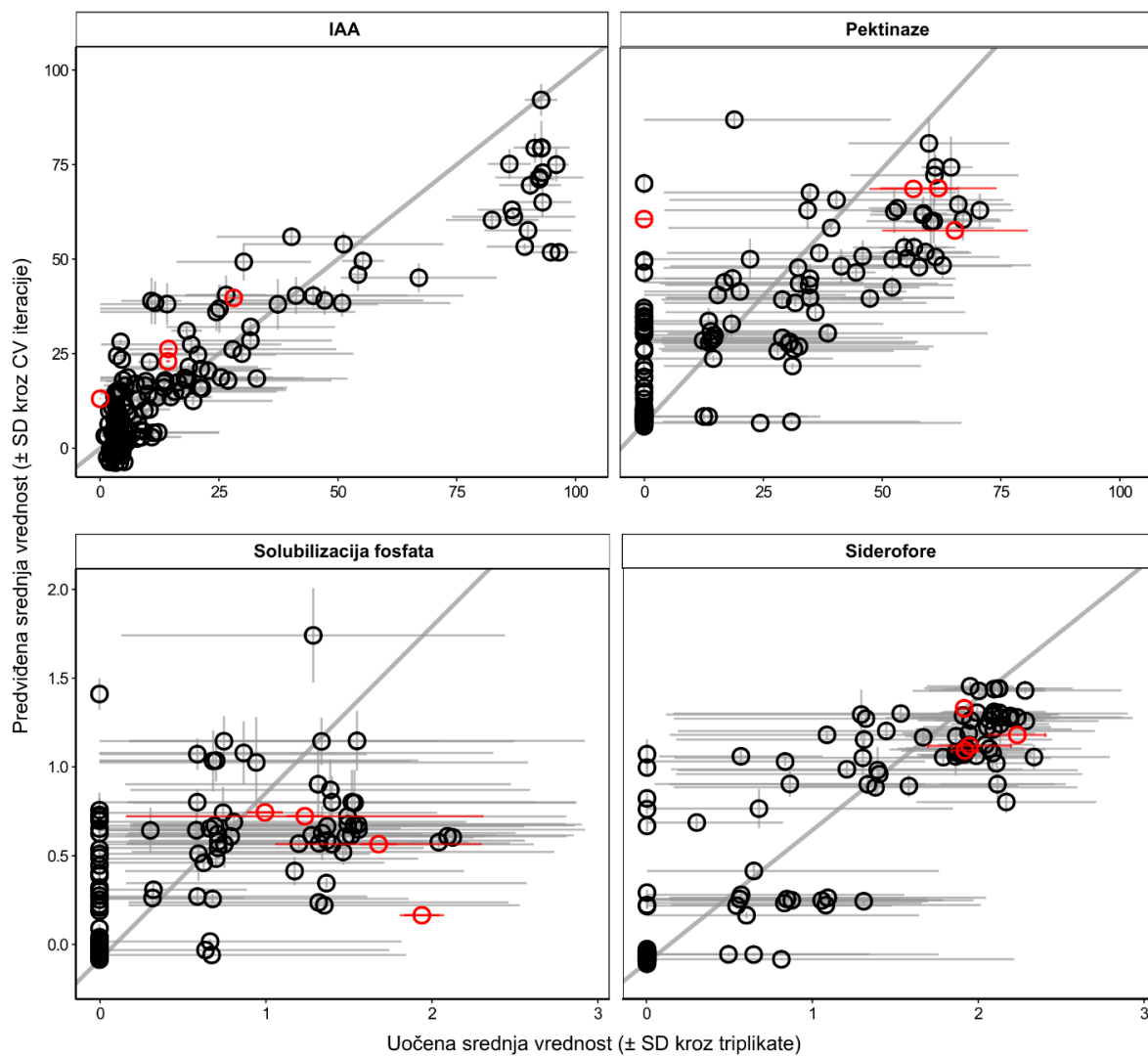
101	ED2-6_T1-2	0,00	1,13	0,00	0,64	3,34	0,00	0,00	0,00	0,00	11,75	0,00	0,00	0,00	0,00	6,70
102	ED2-6_T2-23	1,43	0,00	1,15	0,00	1,31	1,57	0,00	1,71	0,00	5,65	0,00	0,00	1,37	0,00	3,61
103	ED2-6_T2-25	0,00	1,17	0,00	0,00	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	5,31	0,00	0,00	0,00	0,00	11,55
104	ED2-6_T2-26	0,00	1,08	0,00	0,00	1,48	0,00	0,00	0,00	0,00	3,95	0,00	0,00	0,00	0,00	4,39
105	ED2-6_T3-5	0,00	1,06	0,00	1,15	1,58	0,00	0,00	0,00	0,00	5,31	0,00	0,00	0,00	0,00	3,75
106	ED3-10_ED3-75	0,00	1,17	0,00	0,60	81,04	0,00	0,00	0,00	0,00	94,80	0,00	0,00	0,00	0,00	84,02
107	ED3-10_ED3-79	2,10	0,00	0,00	1,46	92,49	0,00	0,00	0,00	1,06	90,73	0,00	0,00	0,00	0,00	96,05
108	ED3-10_KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	80,09	0,00	0,00	0,00	0,00	94,46	0,00	0,00	0,00	0,00	93,41
109	ED3-10_KO3-18	0,00	1,20	0,00	0,00	95,31	1,92	1,11	0,00	0,00	89,04	0,00	1,08	0,00	0,00	92,94
110	ED3-10_KO3-19	0,00	1,92	0,00	1,45	96,36	0,00	0,00	0,00	1,29	99,55	0,00	1,42	0,00	0,00	93,68
111	ED3-10_KO3-44	0,00	0,00	0,00	1,26	95,78	0,00	1,33	0,00	1,36	89,04	0,00	0,00	0,00	0,00	93,51
112	ED3-10_T1-2	0,00	1,17	0,00	0,00	93,99	0,00	0,00	0,00	0,00	94,46	0,00	0,00	0,00	0,00	82,97
113	ED3-10_T2-23	0,00	0,00	0,00	0,00	82,77	0,00	0,00	0,00	0,00	101,24	0,00	0,00	0,67	0,00	93,24
114	ED3-10_T2-25	0,00	0,00	0,00	0,00	91,27	0,00	0,00	0,00	0,00	94,12	0,00	0,00	0,00	0,00	88,94
115	ED3-10_T2-26	0,00	0,00	0,00	0,00	93,88	0,00	0,00	0,00	0,00	90,73	0,00	0,00	0,00	0,00	93,85
116	ED3-10_T3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	91,17	0,00	0,00	0,00	1,47	84,63	0,00	0,00	0,00	0,00	82,49
117	ED3-75_ED3-79	0,00	0,00	0,00	1,70	16,49	0,00	1,20	0,00	0,00	21,92	0,00	1,27	0,00	0,00	16,19
118	ED3-75_KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	21,82	0,00	0,00	0,00	0,00	5,31	0,00	0,00	0,00	0,00	3,17
119	ED3-75_KO3-18	1,61	1,23	1,20	0,00	41,11	1,35	1,33	1,83	0,00	5,31	0,00	1,11	1,26	0,00	16,63
120	ED3-75_KO3-19	0,00	1,29	0,00	1,33	0,80	0,00	1,20	0,00	0,00	13,44	0,00	1,18	0,00	1,60	10,05
121	ED3-75_KO3-44	0,00	1,17	0,00	1,39	44,87	0,00	0,00	0,00	1,35	29,04	0,00	1,08	0,00	0,00	16,70
122	ED3-75_T1-2	0,00	1,08	0,00	0,00	9,24	0,00	0,00	0,00	0,00	16,83	0,00	0,00	0,00	0,00	23,00
123	ED3-75_T2-23	1,43	0,00	1,25	0,00	42,53	1,67	0,00	1,18	0,00	5,31	0,00	0,00	1,28	0,00	3,82
124	ED3-75_T2-25	0,00	1,33	0,00	0,00	39,51	0,00	1,20	0,00	0,00	11,75	0,00	1,14	0,00	0,00	10,46
125	ED3-75_T2-26	0,00	1,33	0,00	0,00	7,65	0,00	1,20	0,00	0,00	11,75	0,00	0,00	0,00	0,00	11,92
126	ED3-75_T3-5	0,00	1,27	0,00	0,00	40,97	0,00	0,00	0,00	0,00	13,44	0,00	0,00	0,00	0,00	9,95
127	ED3-79_KO1-1	0,00	0,00	0,00	1,29	3,95	0,00	0,00	1,09	1,63	23,27	0,00	0,00	0,00	0,00	13,11
128	ED3-79_KO3-18	0,00	0,00	1,19	1,46	15,38	1,60	1,25	1,53	0,00	37,17	0,00	0,00	1,25	0,00	23,58
129	ED3-79_KO3-19	0,00	2,08	0,00	1,53	9,82	0,00	1,55	0,00	1,47	5,31	0,00	1,50	0,00	0,00	0,70
130	ED3-79_KO3-44	0,00	0,00	0,00	1,33	22,05	0,00	0,00	0,00	1,70	49,38	0,00	0,00	0,00	0,00	49,34
131	ED3-79_T1-2	0,00	0,00	0,00	1,35	19,92	0,00	0,00	0,00	1,37	33,11	0,00	0,00	0,00	0,00	15,21
132	ED3-79_T2-23	0,00	0,00	1,30	1,18	2,49	0,00	0,00	0,00	1,49	33,78	0,00	0,00	1,11	0,00	44,46
133	ED3-79_T2-25	0,00	0,00	0,00	1,69	11,88	0,00	0,00	0,00	1,28	43,27	0,00	0,00	0,00	0,00	39,65
134	ED3-79_T2-26	0,00	0,00	0,00	1,43	2,80	0,00	0,00	0,00	1,15	37,85	0,00	0,00	0,00	0,00	42,97
135	ED3-79_T3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	10,87	0,00	0,00	0,00	1,47	44,29	0,00	0,00	0,00	0,00	43,68

136	KO1-1_KO3-18	1,92	1,35	1,63	0,00	3,48	2,20	1,25	1,50	0,00	5,65	1,57	1,10	1,13	0,00	4,26
137	KO1-1_KO3-19	0,00	0,00	0,00	0,00	3,31	0,00	0,00	0,00	1,30	6,33	0,00	0,00	0,00	1,67	3,99
138	KO1-1_KO3-44	0,00	0,00	0,00	0,00	14,12	0,00	0,00	0,00	1,40	10,73	0,00	0,00	0,00	0,00	9,82
139	KO1-1_T1-2	0,00	0,00	0,00	0,00	4,94	0,00	0,00	0,00	0,00	4,63	0,00	0,00	0,00	0,00	4,39
140	KO1-1_T2-23	1,40	0,00	1,55	0,00	2,90	1,58	0,00	1,42	0,00	4,29	0,00	0,00	1,35	0,00	3,78
141	KO1-1_T2-25	0,00	0,00	0,00	0,00	2,80	0,00	0,00	1,80	0,00	5,65	0,00	0,00	0,00	0,00	3,11
142	KO1-1_T2-26	0,00	0,00	0,00	0,00	2,33	0,00	0,00	0,00	0,00	5,31	0,00	0,00	0,00	0,00	3,14
143	KO1-1_T3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	4,90	0,00	0,00	0,00	0,00	5,65	0,00	0,00	0,00	0,00	4,05
144	KO3-18_KO3-19	1,83	1,20	1,71	1,17	1,14	1,55	1,11	0,00	1,18	5,65	1,67	1,11	1,50	0,00	1,78
145	KO3-18_KO3-44	1,83	1,38	1,65	0,00	64,19	1,80	1,20	1,45	0,00	8,36	1,55	1,12	1,32	1,38	61,92
146	KO3-18_T1-2	2,08	1,38	1,70	0,00	3,14	2,02	1,13	1,66	0,00	5,65	1,67	0,00	1,29	0,00	6,12
147	KO3-18_T2-23	0,00	1,13	1,75	0,00	3,11	1,63	0,00	1,65	0,00	4,29	0,00	0,00	1,33	0,00	4,60
148	KO3-18_T2-25	2,00	1,50	1,68	0,00	4,29	1,80	1,25	1,88	0,00	5,31	1,75	1,09	1,18	0,00	4,33
149	KO3-18_T2-26	2,08	1,50	1,83	0,00	4,94	2,00	1,17	1,58	0,00	3,95	1,17	1,18	1,25	0,00	4,56
150	KO3-18_T3-5	2,08	1,69	1,54	0,00	3,92	1,90	0,00	1,83	0,00	4,63	1,17	1,11	1,32	0,00	2,19
151	KO3-19_KO3-44	0,00	2,00	0,00	0,00	1,27	0,00	1,33	0,00	1,15	39,88	0,00	1,33	0,00	0,00	1,07
152	KO3-19_T1-2	0,00	1,25	0,00	0,00	1,58	0,00	0,00	0,00	1,48	2,60	0,00	1,03	0,00	1,57	2,02
153	KO3-19_T2-23	0,00	0,00	1,75	0,00	2,53	1,45	0,00	1,43	0,00	3,27	0,00	0,00	1,35	0,00	3,82
154	KO3-19_T2-25	0,00	1,83	0,00	0,00	2,02	0,00	1,50	0,00	0,00	2,26	1,26	1,60	0,00	1,58	1,04
155	KO3-19_T2-26	0,00	1,60	0,00	1,40	3,11	0,00	1,45	0,00	0,00	0,56	0,00	1,60	0,00	1,65	0,63
156	KO3-19_T3-5	0,00	1,50	0,00	1,30	1,44	0,00	0,00	0,00	1,40	1,92	0,00	1,14	0,00	1,46	1,07
157	KO3-44_T1-2	0,00	1,29	0,00	1,34	50,16	0,00	1,18	0,00	1,15	58,87	0,00	0,00	0,00	0,00	14,60
158	KO3-44_T2-23	0,00	0,00	1,50	0,00	64,97	0,00	0,00	2,18	0,00	24,29	0,00	0,00	1,28	0,00	52,36
159	KO3-44_T2-25	0,00	0,00	0,00	1,48	50,46	0,00	0,00	0,00	1,39	59,21	1,23	0,00	0,00	0,00	56,16
160	KO3-44_T2-26	0,00	0,00	0,00	1,41	61,95	0,00	0,00	0,00	1,27	53,78	0,00	0,00	0,00	0,00	85,41
161	KO3-44_T3-5	0,00	0,00	0,00	1,36	65,44	0,00	0,00	0,00	0,00	24,63	0,00	0,00	0,00	0,00	62,60
162	T1-2_T2-23	1,62	0,00	1,61	0,00	3,31	1,18	0,00	1,61	1,32	5,65	0,00	0,00	1,50	0,00	3,38
163	T1-2_T2-25	0,00	0,00	0,00	0,00	12,60	0,00	0,00	0,00	0,00	3,95	0,00	0,00	0,00	0,00	6,90
164	T1-2_T2-26	0,00	0,00	0,00	0,00	3,04	0,00	0,00	0,00	0,00	3,61	0,00	0,00	0,00	0,00	10,66
165	T1-2_T3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	4,87	0,00	0,00	0,00	0,00	5,99	0,00	1,13	0,00	0,00	4,97
166	T2-23_T2-25	1,43	0,00	1,86	0,00	3,72	1,38	0,00	1,90	0,00	2,94	1,14	0,00	1,32	0,00	3,51
167	T2-23_T2-26	1,48	0,00	1,75	0,00	3,61	1,67	0,00	1,70	0,00	3,61	1,33	0,00	1,42	0,00	3,44
168	T2-23_T3-5	1,43	0,00	1,55	0,00	3,75	1,73	0,00	1,34	0,00	4,63	1,33	0,00	0,00	0,00	3,00
169	T2-25_T2-26	0,00	0,00	0,00	0,00	3,11	0,00	0,00	0,00	0,00	3,61	1,58	0,00	0,00	0,00	46,77
170	T2-25_T3-5	0,00	0,00	0,00	0,00	5,41	0,00	0,00	0,00	0,00	5,31	0,00	0,00	0,00	0,00	5,34

171	T2-26_T3-5	0,00	1,13	0,00	0,00	3,11	0,00	0,00	0,00	0,00	3,61	0,00	0,00	0,00	0,00	5,95
172	C3-16/2.1	0,00	0,00	1,39	0,00	2,90	1,70	0,00	1,69	0,00	3,95	1,15	0,00	1,11	0,00	2,97
173	C3-19	0,00	0,00	1,61	0,00	4,12	0,00	0,00	1,90	0,00	4,29	0,00	0,00	1,39	0,00	3,17
174	C3-36	0,00	0,00	0,00	0,00	3,95	1,20	0,00	0,00	0,00	3,27	0,00	0,00	0,00	0,00	3,92
175	C3-50	0,00	1,58	0,00	0,00	4,02	0,00	1,60	0,00	0,00	3,61	0,00	1,33	0,65	0,00	7,00
176	C3-53	0,00	1,67	0,00	0,00	15,17	0,00	3,00	0,00	0,00	3,61	0,00	1,27	0,00	0,00	11,92
177	ED2-1	0,00	1,20	0,00	0,00	4,05	0,00	1,40	0,00	0,00	4,63	0,00	1,25	0,00	0,00	92,66
178	ED2-6	0,00	1,17	0,00	0,00	3,88	0,00	1,18	0,00	0,00	3,61	0,00	0,00	0,00	1,37	44,83
179	ED3-10	0,00	0,00	0,00	1,20	93,48	0,00	0,00	0,00	1,20	95,48	0,00	0,00	0,00	1,15	64,63
180	ED3-75	0,00	1,25	0,00	0,00	37,72	0,00	1,18	0,00	0,00	11,75	0,00	1,17	0,00	0,00	30,87
181	ED3-79	0,00	0,00	0,00	1,45	12,05	0,00	0,00	0,00	1,45	41,58	0,00	0,00	0,00	1,36	33,92
182	KO1-1	0,00	0,00	0,00	0,00	5,34	0,00	0,00	0,00	0,00	5,65	0,00	0,00	0,00	0,00	7,55
183	KO3-18	1,68	1,67	1,40	0,00	7,11	1,80	1,08	1,74	0,00	5,31	1,58	1,11	1,45	0,00	4,53
184	KO3-19	0,00	2,30	0,00	1,92	2,73	0,00	2,60	0,00	0,00	2,26	0,00	1,68	0,00	0,00	1,82
185	KO3-44	0,00	0,00	0,00	0,00	60,09	0,00	0,00	0,00	1,29	57,17	0,00	0,00	0,00	1,32	53,04
186	T1-2	0,00	1,13	0,00	0,00	12,94	0,00	1,11	0,00	0,00	3,95	0,00	0,00	0,00	0,00	10,12
187	T2-23	1,22	0,00	1,49	0,00	3,61	1,67	1,24	1,38	0,00	4,29	0,00	0,00	1,39	0,00	3,24
188	T2-25	0,00	0,00	0,00	0,00	38,56	1,35	1,40	0,00	0,00	3,95	1,65	0,00	0,00	0,00	31,48
189	T2-26	0,00	0,00	0,00	0,00	3,72	0,00	1,25	0,00	0,00	3,95	0,00	0,00	0,00	0,00	45,38
190	T3-5	3,21	0,00	0,00	0,00	5,99	0,00	1,38	0,00	0,00	4,63	0,00	0,00	0,00	0,00	2,63

Pekt.- Pektinaze; Sider.-Siderofore; PO₄³⁻- Solubilizacija fosfata; EI - enzimatski indeks, - nema aktivnosti, EI >1 dobra aktivnost, EI=1-2 veoma dobra aktivnost, EI>2 odlična aktivnost

Prilog 9. Kvalitet predikcija za odabrane funkcije izolata iz šećerne repe



Prilog 10. Rezultati dobijeni u ko-kulturi odabranih izolata iz pšenice.

Izolati	Prva replika			Druga replika			Treća replika		
	PO ₄ ³⁻	Sider.	IAA	PO ₄ ³⁻	Sider.	IAA	PO ₄ ³⁻	Sider.	IAA
	EI	EI	µg/mL	EI	EI	µg/mL	EI	EI	µg/mL
MP6-33_MP6-36	2,15	0,00	120,12	2,75	0,00	157,30	2,33	0,00	154,48
MP6-33_MP6-37/1	1,29	1,88	0,00	0,88	1,63	0,00	0,00	1,88	2,19
MP6-33_MP8-17	1,36	1,25	0,00	2,04	0,00	0,00	1,17	1,18	0,00
MP6-33_MP9-8	0,00	1,84	0,00	1,42	1,51	0,00	0,00	1,69	0,00
MP6-33_MP10-1	1,33	0,00	0,00	1,50	1,17	0,00	0,90	0,00	0,08
MP6-33_MP10-7	0,00	1,63	0,08	1,25	1,83	0,00	0,00	1,32	0,00
MP6-33_MP10-20	1,20	1,36	3,82	1,75	1,44	10,83	0,00	0,00	12,37
MP6-33_MP10-28	0,00	1,81	0,00	1,29	1,63	6,73	0,00	1,63	6,73
MP6-33_MP10-31	2,76	0,00	27,88	2,43	0,00	83,47	2,63	0,00	54,84
MP6-33_MP10-32	1,40	1,20	2,63	1,93	0,00	0,48	1,50	0,00	17,52
MP6-33_MP10-34	1,50	2,50	4,13	1,50	0,69	0,00	1,69	1,54	0,39
MP6-33_MP10-38	1,75	1,25	1,05	1,50	0,00	1,62	1,50	0,78	12,50
MP6-33_MP10-44	1,40	0,00	1,14	1,78	0,00	2,37	1,50	0,00	1,49
MP6-33_MP10-64	1,25	0,00	4,40	1,75	0,00	9,59	1,50	0,00	6,03
MP6-36_MP6-37/1	3,20	2,38	61,93	2,46	1,38	56,60	3,65	1,94	59,24
MP6-36_MP8-17	3,00	1,81	43,78	2,17	0,00	126,47	3,00	0,00	71,84
MP6-36_MP9-8	3,45	1,63	48,10	2,75	1,75	75,45	3,25	1,38	64,44
MP6-36_MP10-1	2,80	1,63	41,27	3,70	0,00	180,17	2,85	0,00	122,90
MP6-36_MP10-7	0,00	1,81	98,76	1,43	1,25	123,30	0,00	1,50	63,52
MP6-36_MP10-20	2,90	1,38	59,11	3,65	0,00	118,63	3,20	0,00	141,67
MP6-36_MP10-28	2,90	1,88	37,13	2,37	1,38	90,74	2,75	1,41	174,48
MP6-36_MP10-31	2,78	0,00	31,27	2,42	0,00	135,50	3,50	0,00	172,46
MP6-36_MP10-32	2,40	0,00	39,55	2,22	1,63	154,70	2,25	0,00	98,19
MP6-36_MP10-34	3,40	1,38	58,71	2,37	1,43	144,88	2,28	1,47	158,76
MP6-36_MP10-38	2,57	0,00	59,64	2,67	0,70	189,29	2,55	0,00	169,02
MP6-36_MP10-44	2,80	1,25	56,95	3,36	0,00	111,71	3,20	0,00	134,18
MP6-36_MP10-64	2,89	1,25	63,16	3,45	0,00	148,36	3,65	0,00	132,41
MP6-37/1_MP8-17	1,58	1,88	0,21	1,50	0,00	7,13	1,33	1,75	0,00
MP6-37/1_MP9-8	0,00	1,50	0,92	0,00	0,00	0,00	0,00	1,53	0,00
MP6-37/1_MP10-1	1,40	1,75	0,26	1,75	1,56	3,38	1,45	1,42	2,59
MP6-37/1_MP10-7	0,00	1,59	0,00	1,46	1,64	0,00	0,00	1,88	0,00
MP6-37/1_MP10-20	1,75	1,72	1,80	1,75	1,33	0,00	1,88	1,88	0,00
MP6-37/1_MP10-28	0,00	1,45	1,27	0,00	0,00	0,83	0,00	1,65	0,08
MP6-37/1_MP10-31	2,67	1,25	36,16	2,00	0,00	121,44	2,25	1,25	79,07
MP6-37/1_MP10-32	1,60	1,14	1,18	1,99	1,50	21,40	1,38	0,00	11,97
MP6-37/1_MP10-34	1,50	2,31	5,98	1,75	1,63	0,00	1,38	0,00	11,58
MP6-37/1_MP10-38	1,50	2,69	0,00	1,50	2,06	4,18	1,50	0,00	1,14
MP6-37/1_MP10-44	1,75	2,06	1,44	1,75	2,00	2,81	2,00	1,38	0,00
MP6-37/1_MP10-64	2,00	1,88	5,15	1,75	1,62	9,20	1,50	1,69	9,99
MP8-17_MP9-8	0,00	1,59	0,00	0,00	1,71	1,00	0,00	1,50	0,00
MP8-17_MP10-1	1,29	1,25	0,00	1,43	1,38	2,81	1,31	1,38	0,00
MP8-17_MP10-7	0,00	1,48	0,00	0,00	2,25	0,00	0,00	1,78	0,00
MP8-17_MP10-20	1,58	0,00	1,44	1,25	1,50	0,00	1,30	1,10	1,05
MP8-17_MP10-28	0,00	1,56	0,12	0,00	1,89	0,00	0,00	1,54	13,43
MP8-17_MP10-31	2,12	0,00	20,21	2,46	1,19	59,81	3,25	0,00	86,07

MP8-17_MP10-32	1,40	1,21	2,77	2,29	0,00	4,48	1,33	0,00	6,03
MP8-17_MP10-34	1,33	1,75	4,00	1,43	1,44	0,00	4,10	1,28	0,00
MP8-17_MP10-38	1,40	0,00	26,95	1,75	1,18	3,60	1,40	1,18	10,65
MP8-17_MP10-44	1,40	0,00	0,00	2,50	1,20	5,23	1,17	1,16	9,46
MP8-17_MP10-64	1,29	0,00	14,75	1,50	1,36	39,55	1,33	0,00	11,31
MP9-8_MP10-1	0,00	1,50	0,26	0,00	1,81	9,46	0,00	1,29	0,00
MP9-8_MP10-7	0,00	1,60	0,00	0,00	1,41	0,00	0,00	1,62	0,00
MP9-8_MP10-20	0,00	1,11	1,18	0,00	1,68	0,00	0,00	1,42	0,00
MP9-8_MP10-28	0,00	1,63	0,00	0,00	1,81	0,00	0,00	1,45	0,00
MP9-8_MP10-31	3,30	1,44	24,09	2,14	1,50	50,70	2,82	1,42	51,00
MP9-8_MP10-32	0,00	2,13	2,33	0,00	1,44	3,38	0,00	0,00	7,44
MP9-8_MP10-34	0,00	2,44	5,98	0,00	1,42	9,81	0,00	1,42	12,41
MP9-8_MP10-38	0,00	1,79	0,08	1,25	1,77	0,00	0,00	1,27	0,00
MP9-8_MP10-44	0,00	1,67	0,17	0,00	1,88	0,00	0,00	1,32	0,00
MP9-8_MP10-64	0,00	1,69	0,74	0,00	1,71	0,00	0,00	1,50	0,00
MP10-1_MP10-7	0,00	1,88	0,00	0,00	1,77	0,00	0,00	1,96	0,00
MP10-1_MP10-20	1,40	1,25	1,18	1,40	1,38	0,00	3,25	1,17	18,71
MP10-1_MP10-28	0,00	1,69	0,00	0,00	1,83	0,00	0,00	1,91	0,00
MP10-1_MP10-31	3,33	1,45	28,23	2,83	0,00	30,61	2,86	0,70	34,44
MP10-1_MP10-32	1,40	2,44	3,34	1,75	1,75	2,11	1,35	1,25	4,97
MP10-1_MP10-34	1,40	2,11	6,60	1,75	1,38	26,20	1,50	1,34	21,67
MP10-1_MP10-38	1,20	1,31	0,00	1,50	1,38	0,00	1,38	0,00	0,00
MP10-1_MP10-44	1,40	1,24	0,00	1,75	1,09	0,00	1,35	1,19	0,00
MP10-1_MP10-64	1,50	1,31	1,09	1,75	1,25	0,00	1,50	1,13	0,00
MP10-7_MP10-20	0,00	1,53	0,00	1,40	1,21	0,00	0,00	1,31	0,00
MP10-7_MP10-28	0,00	1,83	0,00	0,00	1,63	0,00	0,00	1,51	0,00
MP10-7_MP10-31	0,00	1,81	35,85	1,83	1,70	5,76	0,00	1,51	6,29
MP10-7_MP10-32	0,00	1,56	5,81	1,29	1,27	5,32	0,00	1,27	6,38
MP10-7_MP10-34	0,00	1,55	8,01	1,50	1,25	9,90	0,00	1,88	8,63
MP10-7_MP10-38	0,00	1,63	0,00	1,13	1,55	0,00	0,00	1,78	0,00
MP10-7_MP10-44	0,00	1,85	0,00	1,25	1,47	0,00	0,00	1,97	0,00
MP10-7_MP10-64	0,00	1,68	0,00	1,29	1,77	0,21	0,00	1,54	0,00
MP10-20_MP10-28	0,00	1,50	0,56	0,00	1,75	0,00	0,00	1,44	0,00
MP10-20_MP10-31	2,57	0,00	32,24	2,43	0,00	129,77	1,96	0,00	119,29
MP10-20_MP10-32	1,60	1,17	0,61	1,55	0,00	16,33	1,45	0,81	1,44
MP10-20_MP10-34	1,50	2,77	10,30	1,20	1,96	4,09	1,25	1,70	9,24
MP10-20_MP10-38	1,50	0,00	5,59	1,25	0,63	1,71	1,38	0,00	8,23
MP10-20_MP10-44	1,50	0,00	3,91	1,00	1,25	5,19	1,33	0,00	24,75
MP10-20_MP10-64	1,50	0,00	5,67	1,50	1,38	8,76	0,00	0,00	6,16
MP10-28_MP10-31	2,41	1,39	85,85	2,25	1,50	48,14	2,39	0,00	48,54
MP10-28_MP10-32	0,00	0,00	2,46	1,43	1,50	16,73	0,00	1,33	9,33
MP10-28_MP10-34	0,00	0,00	4,48	1,38	3,13	8,80	0,00	1,29	3,47
MP10-28_MP10-38	0,00	1,50	0,12	0,00	1,56	0,00	0,00	1,67	0,00
MP10-28_MP10-44	0,00	1,45	0,30	0,00	1,56	0,00	0,00	2,00	0,00
MP10-28_MP10-64	0,00	1,55	1,22	0,00	1,50	3,60	0,00	1,75	10,74
MP10-31_MP10-32	2,46	0,00	13,30	2,17	0,00	78,93	2,84	0,00	84,75
MP10-31_MP10-34	2,11	0,00	46,91	2,42	0,00	70,21	2,23	1,25	122,77
MP10-31_MP10-38	1,74	0,00	50,87	1,69	0,00	66,73	2,00	0,00	108,80
MP10-31_MP10-44	2,08	0,00	35,19	2,29	0,00	120,12	2,13	0,00	77,52
MP10-31_MP10-64	1,86	0,00	54,22	2,50	0,00	106,69	2,46	0,00	91,00

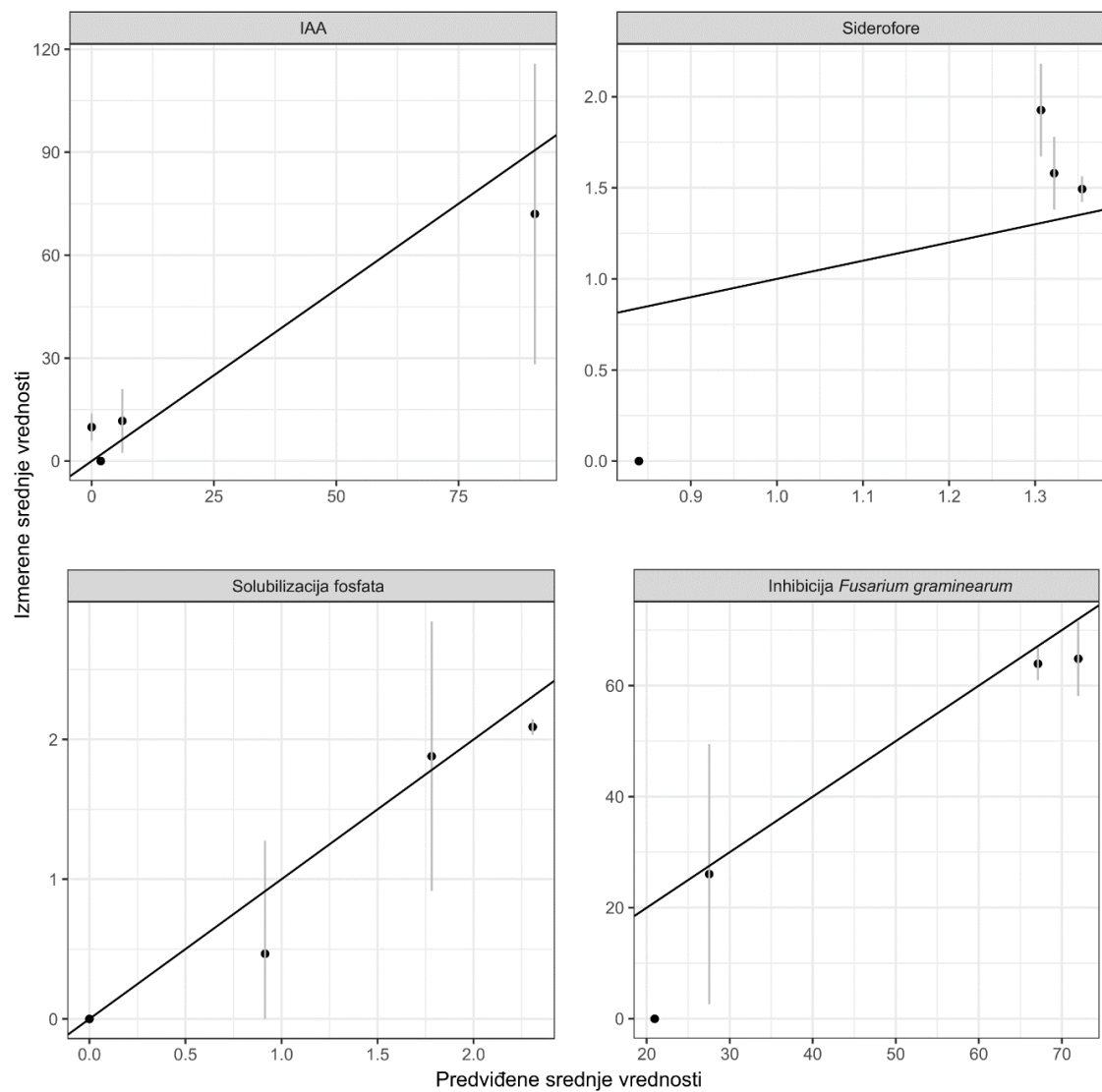
MP10-32_MP10-34	1,86	1,12	1,71	1,75	1,53	9,81	1,75	1,53	6,86
MP10-32_MP10-38	1,40	1,17	1,18	1,75	1,63	7,04	1,75	1,63	11,18
MP10-32_MP10-44	1,75	1,13	1,27	2,00	1,63	16,38	1,60	0,00	2,72
MP10-32_MP10-64	1,88	1,13	1,49	2,00	0,71	15,89	3,00	0,00	28,54
MP10-34_MP10-38	1,40	2,16	25,41	1,75	0,00	54,40	1,50	0,00	33,74
MP10-34_MP10-44	1,75	1,04	27,61	1,88	1,58	26,69	1,75	1,37	38,93
MP10-34_MP10-64	1,75	1,25	4,70	1,75	0,00	12,46	1,75	1,42	28,05
MP10-38_MP10-44	1,38	1,27	10,34	2,38	0,00	11,89	1,50	0,69	14,48
MP10-38_MP10-64	1,50	0,00	3,52	1,50	0,00	0,17	1,50	1,13	0,00
MP10-44_MP10-64	1,40	0,00	2,24	1,75	0,00	0,26	1,50	0,00	4,40
MP6-33	1,50	0,56	2,63	1,50	0,00	1,71	1,50	1,39	3,38
MP6-36	3,63	0,00	113,52	3,68	0,00	144,88	3,63	0,00	168,54
MP6-37/1	1,58	1,45	0,00	2,13	0,00	0,00	1,58	1,63	0,00
MP8-17	1,38	0,00	35,98	1,43	1,50	1,31	1,31	1,25	34,84
MP9-8	0,00	0,00	0,56	1,43	0,00	0,00	0,00	1,73	0,00
MP10-1	0,80	1,50	0,00	1,40	0,00	0,00	0,70	0,00	0,00
MP10-7	0,00	1,56	4,09	1,13	1,55	0,00	0,00	1,20	0,00
MP10-20	0,00	0,00	3,21	1,75	0,00	41,49	0,00	1,25	22,19
MP10-28	0,00	3,14	0,00	0,00	2,00	0,00	0,00	1,67	0,00
MP10-31	2,60	0,00	28,80	2,32	0,00	84,57	2,66	0,61	86,82
MP10-32	0,00	0,00	2,81	2,63	0,00	8,54	1,75	0,56	13,03
MP10-34	1,50	2,50	2,02	1,88	1,51	13,82	1,50	2,24	49,02
MP10-38	1,38	3,75	0,00	1,50	0,00	0,12	0,00	1,13	1,67
MP10-44	0,00	0,00	0,92	2,06	0,00	3,43	0,00	0,00	1,67
MP10-64	1,50	0,00	3,52	0,00	0,00	15,50	1,33	1,25	35,19

PO₄³⁻- Solubilizacija fosfata; Sider.- Siderofore; EI - enzimatski indeks, - nema aktivnosti, EI >1 dobra aktivnost, EI=1-2 veoma dobra aktivnost, EI>2 odlična aktivnost

Prilog 11. Inhibitorna aktivnost izolata iz pšenice u ko-kulturi prema *Fusarium graminearum*.

Izolati	<i>Fusarium graminearum</i> (%)	Izolati	<i>Fusarium graminearum</i> (%)
MP6-33	0,00	MP10-7_MP10-32	68,79
MP6-36	0,00	MP10-7_MP10-34	65,76
MP6-37/1	19,39	MP10-7_MP10-38	72,12
MP8-17	19,09	MP10-7_MP10-44	70,30
MP9-8	68,18	MP10-7_MP10-64	71,82
MP10-1	30,61	MP10-7_MP6-33	65,65
MP10-7	63,64	MP10-7_MP6-36	6,06
MP10-20	0,00	MP10-7_MP6-37/1	69,39
MP10-28	67,27	MP10-7_MP8-17	71,52
MP10-31	0,00	MP10-20_MP10-1	34,85
MP10-32	13,33	MP10-20_MP10-28	67,27
MP10-34	19,80	MP10-20_MP10-31	0,00
MP10-38	0,00	MP10-20_MP10-32	0,00
MP10-44	0,00	MP10-20_MP10-34	3,84
MP10-64	0,00	MP10-20_MP10-38	0,00
MP9-8_MP10-1	66,36	MP10-20_MP10-44	0,00
MP9-8_MP10-20	68,18	MP10-20_MP10-64	7,47
MP9-8_MP10-28	67,58	MP10-20_MP6-33	0,00
MP9-8_MP10-31	60,00	MP10-20_MP6-36	0,00
MP9-8_MP10-32	63,33	MP10-20_MP6-37/1	0,00
MP9-8_MP10-34	68,18	MP10-20_MP8-17	23,94
MP9-8_MP10-38	70,00	MP10-28_MP10-1	65,46
MP9-8_MP10-44	65,76	MP10-28_MP10-31	60,91
MP9-8_MP10-64	70,00	MP10-28_MP10-32	64,54
MP9-8_MP10-7	67,27	MP10-28_MP10-34	66,67
MP9-8_MP6-33	64,65	MP10-28_MP10-38	68,18
MP9-8_MP6-36	0,00	MP10-28_MP10-44	67,88
MP9-8_MP6-37/1	66,66	MP10-28_MP10-64	66,06
MP9-8_MP8-17	70,00	MP10-28_MP6-33	65,15
MP10-7_MP10-1	70,30	MP10-28_MP6-36	0,00
MP10-7_MP10-20	75,46	MP10-28_MP6-37/1	67,27
MP10-7_MP10-28	69,70	MP10-28_MP8-17	70,61
MP10-7_MP10-31	56,06		

Prilog 12. Kvalitet predviđanja funkcija izolata iz pšenice.



Prilog 13. Relativna zastupljenost bakterijskih razdela u tretiranoj i netretiranoj rizosferi i korenu šećerne repe kroz tri vremena uzorkovanja.

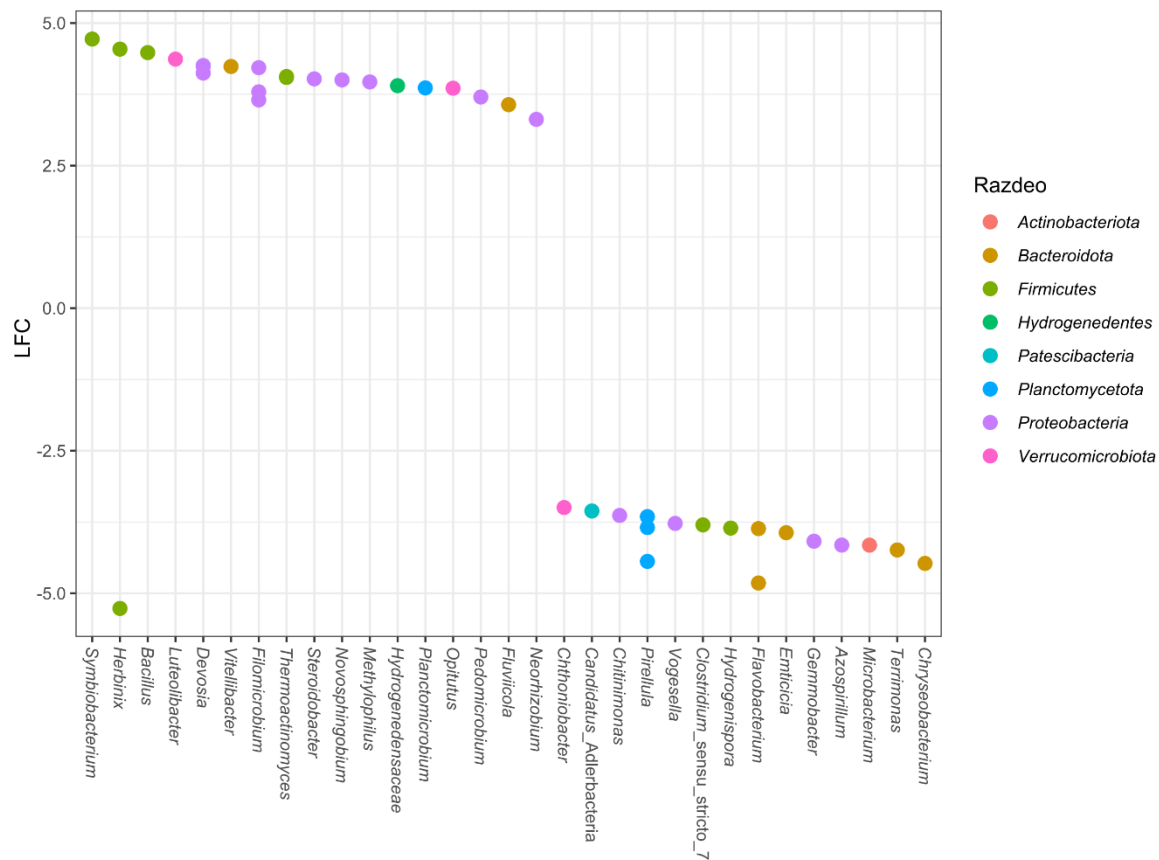
Razdeo	Vremenska tačka A				Vremenska tačka B				Vremenska tačka C				Početni inokulum
	Mix1	Mix2	Mix3	Kontrola	Mix1	Mix2	Mix3	Kontrola	Mix1	Mix2	Mix3	Kontrola	
<i>Abditibacteriota</i>	0,00	0,02	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00	0,02	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00
<i>Acidobacteriota</i>	0,75	1,07	1,06	1,67	1,20	1,30	0,82	1,09	1,12	0,68	1,47	0,53	0,00
<i>Actinobacteriota</i>	2,89	4,38	4,64	6,39	2,89	5,44	2,90	1,52	0,69	1,11	4,50	1,49	5,62
<i>Armatimonadota</i>	0,12	0,08	0,17	0,18	0,18	0,09	0,11	0,14	0,19	0,12	0,20	0,11	0,00
<i>Bacteroidota</i>	3,87	4,63	4,17	5,48	7,14	7,18	5,28	6,87	7,55	7,52	9,21	18,62	0,00
<i>Bdellovibrionota</i>	0,29	0,37	0,80	0,57	0,50	0,64	0,31	0,51	0,63	0,43	0,67	0,49	0,00
<i>Chloroflexi</i>	0,95	1,57	1,45	2,29	2,43	2,39	1,69	1,79	1,70	1,73	2,89	1,26	0,00
<i>Crenarchaeota</i>	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Cyanobacteria</i>	56,70	49,06	39,18	25,21	40,40	36,26	51,14	44,21	52,97	50,68	34,74	36,54	0,14
<i>Dadabacteria</i>	0,00	0,01	0,00	0,02	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Deinococcota</i>	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
<i>Dependentiae</i>	0,01	0,04	0,06	0,07	0,01	0,11	0,10	0,14	0,12	0,04	0,17	0,26	0,00
<i>Desulfobacterota</i>	0,00	0,02	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Elusimicrobiota</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Euryarchaeota</i>	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
FCPU426	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Fibrobacterota</i>	0,02	0,04	0,02	0,05	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,04	0,10	0,00
<i>Firmicutes</i>	5,37	8,27	10,59	13,06	3,41	7,42	2,06	3,35	2,20	2,54	2,55	0,99	84,62
<i>Gemmatimonadota</i>	0,16	0,38	0,15	0,45	0,06	0,37	0,02	0,08	0,04	0,02	0,45	0,17	0,00
<i>Halanaerobiaeota</i>	0,13	0,18	0,21	0,32	0,13	0,14	0,07	0,08	0,08	0,12	0,09	0,02	0,00
<i>Halobacterota</i>	0,01	0,05	0,05	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00
<i>Hydrogenedentes</i>	0,07	0,07	0,06	0,12	0,15	0,08	0,11	0,07	0,07	0,06	0,08	0,07	0,00
<i>Latescibacterota</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MBNT15	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Myxococcota</i>	0,74	0,87	0,61	1,13	1,04	1,98	1,24	1,33	0,51	0,81	2,24	0,62	0,00
NB1-j	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

<i>Patescibacteria</i>	1,04	1,36	1,44	2,03	3,87	3,21	2,91	5,22	3,75	4,16	4,34	13,41	0,00
<i>Planctomycetota</i>	5,51	6,80	9,83	11,56	9,88	9,05	11,26	11,32	7,42	8,85	11,23	2,90	0,00
<i>Proteobacteria</i>	17,88	17,59	22,00	25,81	21,19	19,62	15,24	16,71	15,61	16,28	18,18	18,76	9,62
RCP2-54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00
SAR324_clade (Marine_group_B)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
<i>Spirochaetota</i>	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Sumerlaeota</i>	0,03	0,01	0,00	0,01	0,06	0,04	0,03	0,00	0,02	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Verrucomicrobiota</i>	3,45	3,10	3,49	3,50	5,41	4,61	4,70	5,52	5,28	4,82	6,84	3,67	0,00
WPS-2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,00
WS2	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00

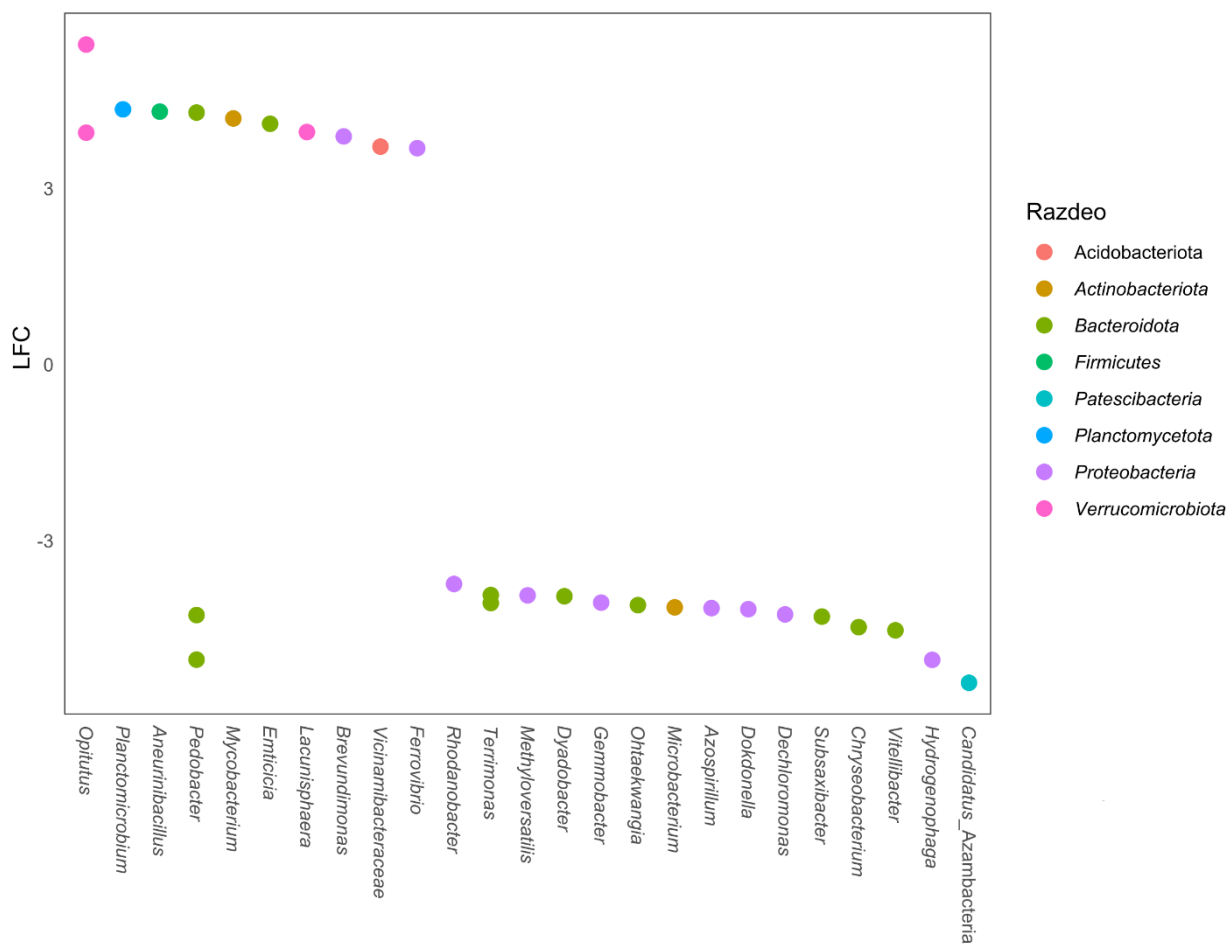
Prilog 14. Taksoni značajno obogaćeni u tretmanu Mix1 u odnosu na kontrolu.



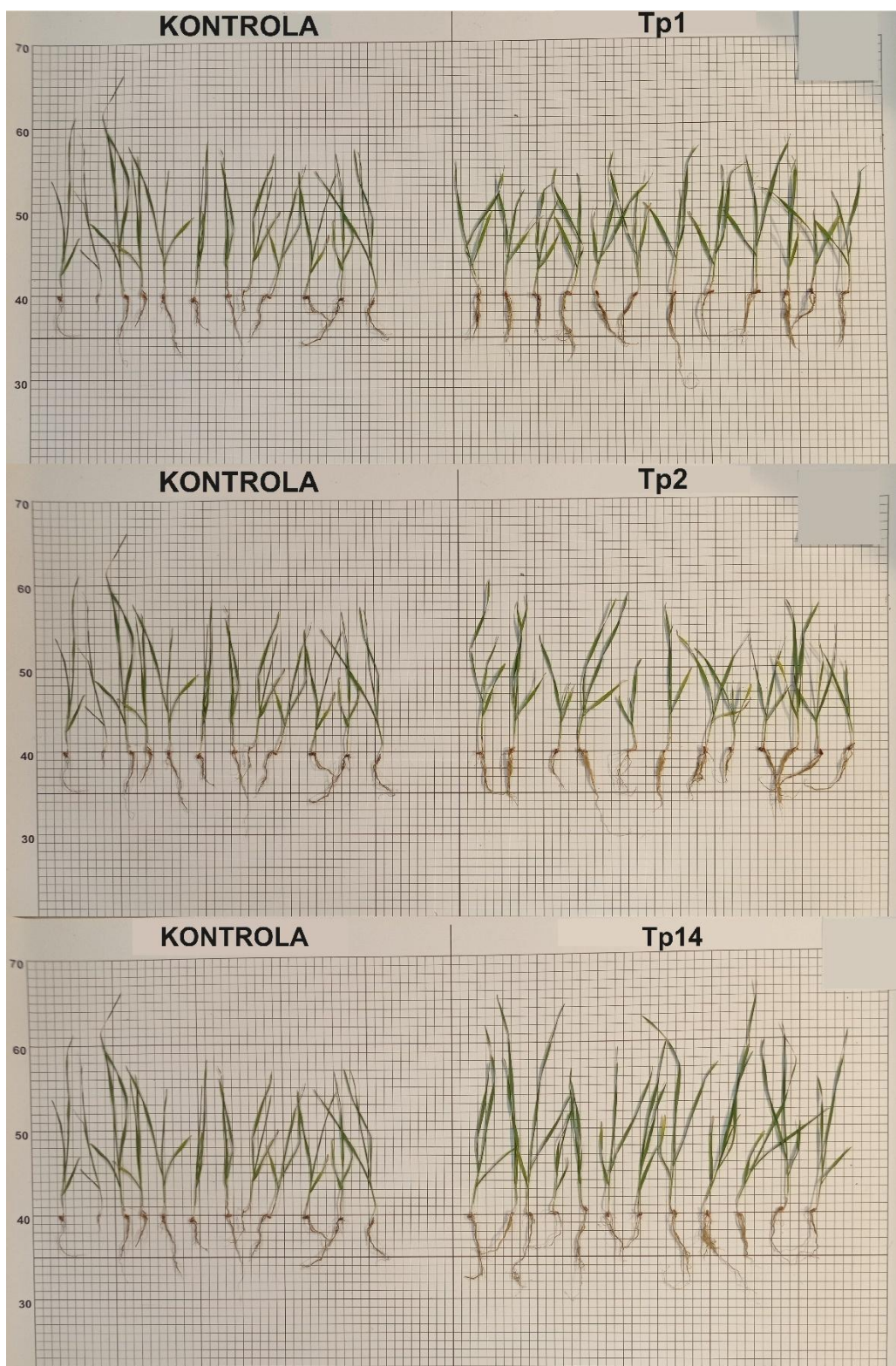
Prilog 15. Taksoni značajno obogaćeni u tretmanu Mix2 u odnosu na kontrolu.



Prilog 16. Taksoni značajno obogaćeni u tretmanu Mix3 u odnosu na kontrolu.

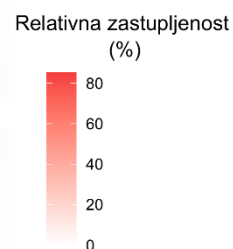


Prilog 17. Tp1, Tp2 i T14 tretmani pšenice u odnosu na kontrolu.

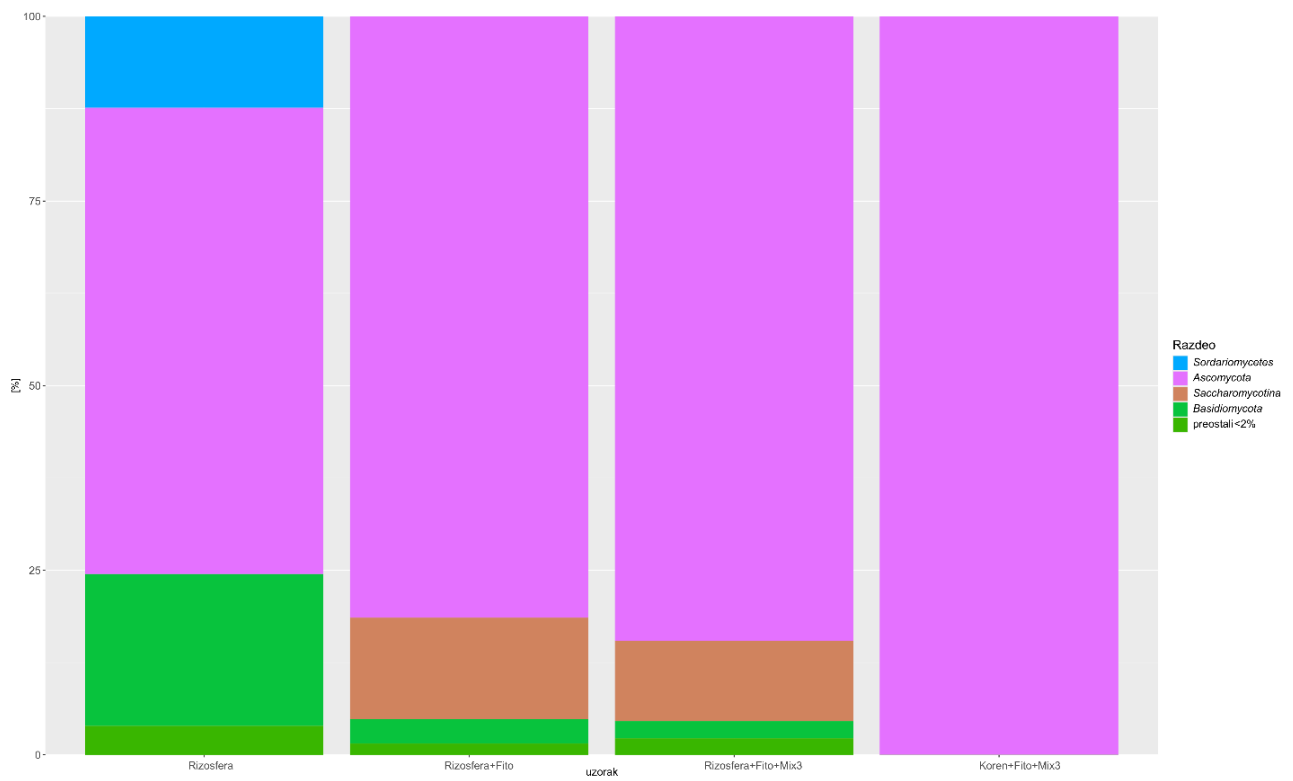


Prilog 18. Relativna zastupljenost bakterijskih taksona u rizosferi i korenu šećerne repe pri različitim tretmanima.

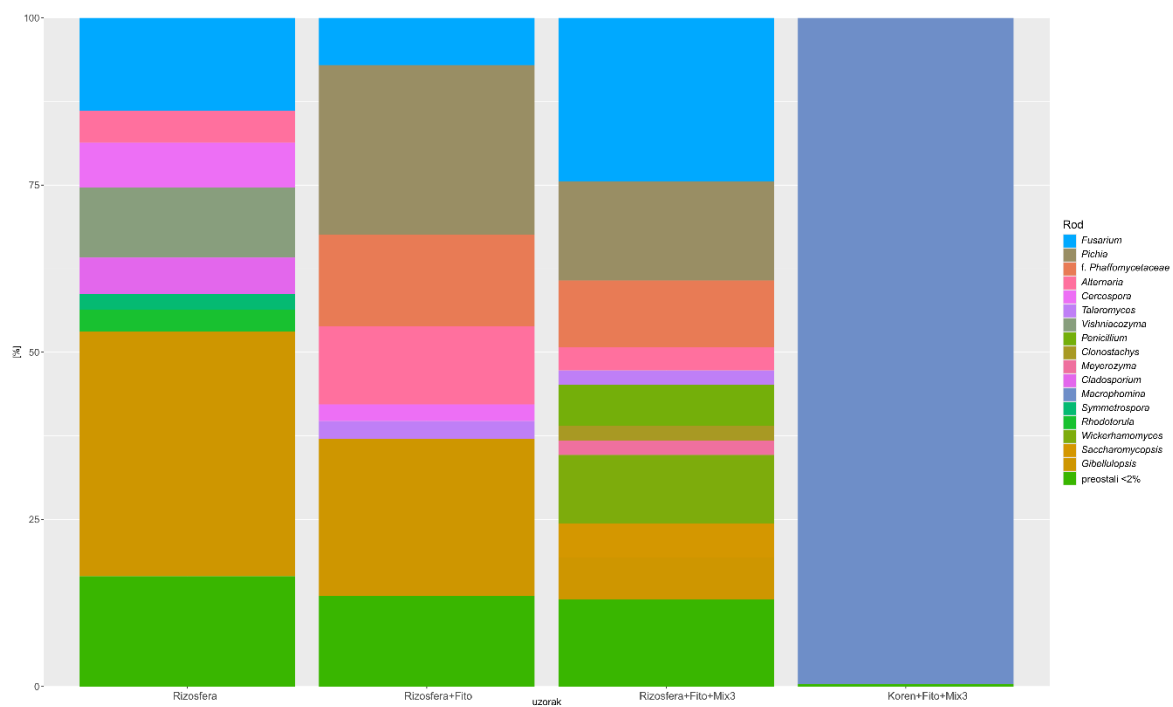
<i>Arthrobacter</i>	37.5	5.3	0.0	2.1	8.5	12.3	4.5	9.5
<i>Blastococcus</i>	0.0	2.4	0.0	0.9	5.7	6.6	6.0	4.6
JG30-KF-CM45	18.8	0.9	0.0	0.4	2.9	3.3	2.3	0.9
67-14	0.0	0.9	0.0	0.4	4.4	3.1	3.5	2.1
<i>Skermanella</i>	0.0	3.0	0.0	0.4	1.3	2.7	1.5	1.6
<i>Nocardioides</i>	0.0	0.6	0.0	0.2	2.3	2.0	2.2	2.4
<i>Sphingomonas</i>	0.0	0.8	0.0	0.0	1.6	1.3	1.9	1.6
<i>Gaiellaceae</i>	0.0	0.8	0.0	0.1	3.8	2.3	3.4	1.3
<i>Gaiella</i>	0.0	1.0	0.0	0.0	3.5	2.4	2.3	1.0
<i>Streptomyces</i>	0.0	0.9	0.0	0.0	1.0	1.1	1.4	2.7
<i>Microvirga</i>	0.0	0.7	0.0	0.3	2.1	2.5	1.3	1.1
<i>Pseudarthrobacter</i>	0.0	0.8	0.0	0.0	0.9	1.8	5.3	11.9
<i>Mycobacterium</i>	0.0	0.7	0.0	0.0	1.0	1.1	1.1	1.0
<i>Solirubrobacter</i>	0.0	0.2	0.0	0.0	2.1	1.6	1.6	1.1
<i>Geodermatophilus</i>	0.0	0.5	0.0	0.0	0.7	0.8	1.3	0.9
<i>Nitrososphaera</i>	0.0	0.5	0.0	0.0	2.5	3.0	1.9	0.8
<i>Vicinamibacteraceae</i>	0.0	0.7	0.0	0.1	3.7	1.8	1.3	0.4
<i>Niallia</i>	0.0	0.3	0.0	0.0	1.3	1.9	1.1	0.8
<i>Rubrobacter</i>	0.0	1.1	0.0	0.2	2.0	3.1	0.4	0.7
<i>Noviherbaspirillum</i>	0.0	0.7	0.0	0.2	0.3	0.9	1.5	1.7
Ellin6055	0.0	0.7	0.0	0.5	1.2	0.8	0.4	0.1
<i>Microbacterium</i>	0.0	0.6	0.0	0.0	0.6	0.8	0.3	1.3
<i>Gemmatimonadaceae</i>	0.0	0.5	0.0	0.0	0.6	0.4	1.5	0.4
<i>Nitrososphaeraceae</i>	0.0	0.3	0.0	0.0	2.1	1.1	2.1	0.6
<i>Streptomycetaceae</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	1.9	1.6	1.4	0.7
<i>Dehalococcoidales</i>	0.0	0.2	0.0	0.2	1.2	0.9	0.8	0.5
<i>Geminicoccaceae</i>	0.0	1.6	0.0	0.0	1.0	0.9	0.3	0.3
<i>lamiaceae</i>	0.0	0.4	0.0	0.0	1.0	0.7	0.6	0.2
<i>Rhodoplanes</i>	0.0	0.2	0.0	0.1	0.6	0.3	1.1	0.3
<i>Roseiflexaceae</i>	0.0	0.2	0.0	0.0	0.4	0.3	2.0	1.0
<i>Kitasatosporales</i>	0.0	0.1	0.0	0.0	1.6	0.8	0.9	0.3
<i>Cutibacterium</i>	18.8	1.7	66.7	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
<i>Gemmatimonas</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.3	1.4	0.5
<i>Rhodococcus</i>	0.0	0.1	0.0	1.6	0.1	0.1	0.0	0.2
<i>Acetobacter</i>	0.0	0.2	0.0	0.2	0.0	0.5	0.0	3.1
<i>Phyllobacterium</i>	25.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1
<i>Gluconobacter</i>	0.0	0.2	0.0	0.2	0.0	0.1	0.0	1.7
' <i>Candidatus</i> Udaeobacter'	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	1.7	0.1
<i>Kocuria</i>	0.0	0.0	0.0	2.5	0.0	0.0	0.0	0.1
<i>Kozakia</i>	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.2	0.0	10.4
<i>Sphingobium</i>	0.0	0.6	33.3	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
' <i>Candidatus</i> Phytoplasma'	0.0	51.0	0.0	85.2	0.0	0.0	0.0	0.0
Preostali <1%	0.0	18.8	0.0	3.4	35.6	34.3	39.7	30.0
	Koren	Koren+Fito	Koren+Mix3	Koren+Fito+Mix3	Rizosfera	Rizosfera+Fito	Rizosfera+Mix3	Rizosfera+Fito+Mix3



Prilog 19. Relativna zastupljenost fungalnih taksona u rizosferi i korenu šećerne repe u različitim tretmanima u polju.



Prilog 20. Relativna zastupljenost fungálnih taksona u rizosferi i korenu šećerne repe u različitim tretmanima u polju.



Prilog 21. Komparativna genomska analiza *Bacillus halotolerans* C3-16/2.1 zasnovana na prosečnoj nukleotidnoj identičnosti (ANI).

Referentni genom	ANI (%)	Broj mapiranih fragmenata	Ukupan broj fragmenata	Vrsta	Izolat
C3-16/2.1	100	40262	40302	<i>Bacillus halotolerans</i>	izolat iz naše studije
GCF_013347105.1	98.8632	38773	40302	<i>Bacillus halotolerans</i>	KKD1
GCF_030167075.1	98.6549	38155	40302	<i>Bacillus halotolerans</i>	Tehuacan S4
GCF_051166975.1	98.2841	38057	40302	<i>Bacillus halotolerans</i>	C1
GCF_051788185.1	97.8919	37313	40302	<i>Bacillus halotolerans</i>	BHXJ10
GCF_012648005.1	95.8713	36009	40302	<i>Bacillus mojavenis</i>	UCMB5075
GCF_004124315.2	88.2432	28734	40302	<i>Bacillus cabrialesii</i>	TE3
GCF_000009045.1	87.997	28343	40302	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	168
GCF_040784915.1	87.9523	28297	40302	<i>Bacillus vallismortis</i>	BL01
GCF_004116955.1	87.4838	26528	40302	<i>Bacillus vallismortis</i>	DSM 11031
GCF_000196735.1	82.3717	16620	40302	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	DSM 7
GCF_029537375.1	79.9156	14587	40302	<i>Bacillus</i> sp.	HSf4
GCF_000011645.1	79.8995	14157	40302	<i>Bacillus licheniformis</i>	DSM 13
GCA 025809375.1	79.4975	10955	40302	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	XN149
GCF_038738535.1	79.4953	11681	40302	<i>Bacillus pumilus</i>	V17C1
GCF_900186955.1	79.4068	12109	40302	<i>Bacillus pumilus</i>	NCTC10337
GCF_003431975.1	79.3662	12187	40302	<i>Bacillus pumilus</i>	145
GCF_040500475.1	79.3647	10723	40302	<i>Bacillus</i> sp.	Bosx628
GCF_024498355.1	79.359	11995	40302	<i>Bacillus pumilus</i>	NDY10
GCF_019933155.2	78.3591	14557	40302	<i>Metabacillus dongyingensis</i>	BY2G20
GCA 023823795.1	78.3389	14412	40302	<i>Bacillus</i> sp.	F19
GCA 014235785.1	78.2348	11387	40302	<i>Bacillus</i> sp.	PAMC26568
GCF_000724485.1	78.1339	10068	40302	<i>Bacillus methanolicus</i>	MGA3
GCF_022646885.1	78.1156	11945	40302	<i>Priestia koreensis</i>	FS1
GCF_000017425.1	78.0767	10982	40302	<i>Bacillus cytotoxicus</i>	NVH 39198
GCF_000832605.1	78.0714	13556	40302	<i>Bacillus mycoides</i>	ATCC 6462
GCF_000742895.1	78.0695	13219	40302	<i>Bacillus anthracis</i>	Vollum
GCF_000473245.1	78.0669	12281	40302	<i>Bacillus infantis</i>	NRRL B14911
GCF_030292155.1	78.0647	13283	40302	<i>Bacillus</i> sp.	DX3.1
GCF_001050115.1	78.0642	9477	40302	<i>Bacillus smithii</i>	DSM 4216
GCF_038971285.1	78.0521	13738	40302	<i>Bacillus paramycoides</i>	JYZSD5
GCF_022811845.1	78.0507	13619	40302	<i>Bacillus pseudomycooides</i>	N4512
GCF_018742245.1	78.0505	13010	40302	<i>Bacillus mycoides</i>	JAS823
GCF_000007825.1	78.0413	13150	40302	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579
GCF_001182785.1	78.0402	14687	40302	<i>Bacillus thuringiensis</i>	HS181
GCA 020524525.2	78.0391	10262	40302	<i>Bacillus tianshenii</i>	KcN72
GCF_000021305.1	78.0348	13687	40302	<i>Bacillus cereus</i>	G9842
GCF_001595725.1	78.0344	14761	40302	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Bt185
GCF_036670025.1	78.0341	14766	40302	<i>Niallia oryzae</i>	DSM 29761
GCF_001455345.1	78.0323	13039	40302	<i>Bacillus thuringiensis</i>	CTC
GCF_033449965.1	78.0296	11393	40302	<i>Bacillus</i> sp.	T3
GCF_018966865.1	78.026	12999	40302	<i>Bacillus</i> sp.	NP247

GCF_025917685.1	78.0239	12856	40302	<i>Bacillus cereus</i>	PT1
GCA_014960805.1	78.0178	10662	40302	<i>Cytobacillus suaedae</i>	HD4P25
GCF_019915265.1	78.0168	10258	40302	<i>Bacillus aquiflavi</i>	3H10
GCF_022095615.2	78.015	14010	40302	<i>Bacillus thuringiensis</i>	HSY204
GCF_012955605.1	78.0117	7118	40302	<i>Bacillus fonticola</i>	CS13
GCF_020524035.2	78.0067	9684	40302	<i>Bacillus carboniphilus</i>	SaN353
GCA_003667865.1	78.005	10848	40302	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	Bac144
GCF_000242895.2	78.0045	11644	40302	<i>Bacillus</i> sp.	1NLA3E
GCF_000496285.1	77.9957	12510	40302	<i>Bacillus toyonensis</i>	BCT7112
GCF_036670015.1	77.9467	10869	40302	<i>Niallia</i> sp.	XMNu256
GCF_022812285.1	77.9009	12055	40302	<i>Alkalihalobacillus</i> sp.	LMS39
GCF_020519665.1	77.8555	10790	40302	<i>Bacillus shivajii</i>	JCM 32183

Prilog 22. Rezultati antiSMASH analize za izolate *Bacillus halotolerans* C3-16/2.1 i *Bacillus velezensis* C3-19, *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18, *Pseudomonas oryzae* KO3-19, *Duffyella gerundensis* KO3-44

<i>Bacillus halotolerans</i> C3-16/2.1					
Region 1.1	*	Visok	bacilizin	*	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 1.2	skatipeptid	Visok	subtilozin A	ribosomalni:RiPP:Tiopeptid	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> ATCC 6633
Region 1.3	NRP-metalofore, NRPS, prekursor terpena	Visok	bacilibaktin	NRPS:Tip I	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> 168
Region 3.1	NRPS, betalakton	Visok	fengicin	NRPS:Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 3.2	transAT-PKS, NRPS, T3PKS, PKS-slični	Visok	bacilajen	NRPS:Tip I+PKS:Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 4.1	NRPS	Visok	surfaktin	NRPS:Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
<i>Bacillus velezensis</i> C3-19					
Region 1.1	transAT-PKS-slični	Srednji	dificidin	PKS	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 1.4	NRPS, betalakton, transAT- PKS	Visok	fengicin	NRPS:Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 1.5	transAT-PKS, NRPS, T3PKS	Visok	bacilajen	NRPS:Tip I+PKS:Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 1.6	transAT-PKS	Visok	makrolaktin H	PKS	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 2.1	prekursor terpena, NRP-metalofor, NRPS, RiPP-slični	Visok	bacilibaktin	NRPS:Tip I	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> 168
Region 2.2	*	Visok	bacilizin	*	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 4.1	NRPS	Visok	surfaktin	NRPS:Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 5.1	T3PKS, transAT-PKS	Nizak	makrolaktin H	PKS	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 9.1	transAT-PKS-slični	Nizak	dificidin	PKS	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> KO3-18					
Region 1.4	NRPS, betalactone	Visok	fengicin	NRPS: Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 2.1	prekursor terpena, NRP-metalofor, NRPS	Visok	bacilibaktin	NRPS: Tip I	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> 168
Region 2.2	CDPS	Visok	pulheriminična kiselina	*	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> 168
Region 2.3	skatipeptid	Visok	subtilozin A	ribosomalni:RiPP:Tiopeptid	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> ATCC 6633
Region 2.4	*	Visok	bacilizin	*	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 3.1	transAT-PKS, NRPS, T3PKS, PKS-slični	Visok	bacilajen	NRPS:Tip I+PKS:Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 6.1	NRPS	Nizak	surfaktin	NRPS: Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
Region 7.1	klasa lantapeptida-i	Visok	subtilomicin	ribosomalni:RiPP:Lantapeptid	<i>Bacillus subtilis</i>
Region 7.2	NRPS	Nizak	surfaktin	NRPS: Tip I	<i>Bacillus velezensis</i> FZB42
<i>Pseudomonas oryzae</i> KO3-19					
Region 1.3	arilpolien	Nizak	APE Vf	drugo	<i>Aliivibrio fischeri</i> ES114
Region 2.3	NRP-metalofore; NRPS	Visok	frederiksenibaktin	NRPS: Tip I	<i>Yersinia frederiksenii</i> ATCC 33641
Region 5.1	terpen	Visok	karotenoid	terpen	<i>Enterobacteriaceae bacterium</i> DC413
Region 6.1	NRP-metalofore; NRPS	Nizak	kupriahelin	NRPS: Tip I	<i>Cupriavidus necator</i> H16

<i>Duffyella gerundensis</i> KO3-44					
Region 1.4	homoserin lakton, arilpolien	Visok	aril polieni	*	<i>Xenorhabdus doucetiae</i>
Region 3.1	NI-siderofore	Srednji	aerobaktin	*	<i>Xenorhabdus szentirmaii</i> DSM 16338
Region 5.1	NRP-metalofore, NRPS	Visok	trihrizobaktin/ciklični trihrizobaktin/ hrizobaktin/dihrizobaktin	NRPS:Tip I	<i>Dickeya chrysanthemi</i>
Region 10.1	terpen	Visok	karotenoid	terpen	<i>Enterobacteriaceae bacterium</i> DC413

NRPS - neribozomalna peptid-sintetaza; NRP - neribozomalni peptid; PKS - poliketid-sintetaza; RiPPs - ribozomalno sintetisani i posttranslaciono modifikovani peptidi; transAT-PKS - trans-AT poliketid-sintetaze; T3PKS - poliketid-sintetaze tip III; NI-siderofore - NRPS-nezavisni siderofori lucA/lucC slični; CDPS - tRNA-zavisne ciklodipeptidne sintaze; * - klaster koji sadrži protein povezan sa sekundarnim metabolitima koji se ne uklapa ni u jednu drugu kategoriju

Prilog 23. Komparativna genomska analiza *Bacillus velezensis* C3-19 zasnovana na prosečnoj nukleotidnoj identičnosti (ANI).

Referentni genom	ANI (%)	Broj mapiranih fragmenata	Ukupan broj fragmenata	Vrsta	Izolat
C3-19	100	39873	39873	<i>Bacillus velezensis</i>	izolat iz naše studije
GCF_009663035.1	98.7672	37319	39873	<i>Bacillus velezensis</i>	AL7
GCF_001023595.1	98.2361	37502	39873	<i>Bacillus velezensis</i>	G341
GCF_019880425.1	98.2151	37136	39873	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	JP3144
GCF_046115415.1	97.6001	37219	39873	<i>Bacillus velezensis</i>	IMD4036
GCF_017742975.1	97.5865	36636	39873	<i>Bacillus velezensis</i>	AD8
GCF_000196735.1	93.6103	33407	39873	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	DSM 7
GCF_051788185.1	83.0616	17494	39873	<i>Bacillus halotolerans</i>	BHXJ10
GCF_000009045.1	82.4322	16859	39873	<i>Bacillus subtilis</i>	168
GCF_004124315.2	82.4259	16887	39873	<i>Bacillus cabrialesii</i>	TE3
GCF_040784915.1	82.4117	16968	39873	<i>Bacillus vallismortis</i>	BL01
GCF_030167075.1	82.4117	16822	39873	<i>Bacillus halotolerans</i>	Tehuacan S4
GCF_051166975.1	82.3872	16919	39873	<i>Bacillus halotolerans</i>	C1
GCF_012648005.1	82.3725	16415	39873	<i>Bacillus mojavenis</i>	UCMB5075
GCF_013347105.1	82.3678	17055	39873	<i>Bacillus halotolerans</i>	KKD1
GCF_004116955.1	82.1658	16442	39873	<i>Bacillus vallismortis</i>	DSM 11031
GCF_029537375.1	79.7393	14655	39873	<i>Bacillus</i> sp.	HSf4
GCF_000011645.1	79.7173	14284	39873	<i>Bacillus licheniformis</i>	DSM 13
GCA_025809375.1	79.3371	10251	39873	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	XN149
GCF_038738535.1	79.2911	11017	39873	<i>Bacillus pumilus</i>	V17C1
GCF_024498355.1	79.253	11236	39873	<i>Bacillus pumilus</i>	NDY10
GCF_900186955.1	79.2369	11351	39873	<i>Bacillus pumilus</i>	NCTC10337
GCF_040500475.1	79.2151	10004	39873	<i>Bacillus</i> sp.	Bosx628
GCF_003431975.1	79.2145	11366	39873	<i>Bacillus pumilus</i>	145
GCF_019933155.2	78.2454	13455	39873	<i>Metabacillus dongyingensis</i>	BY2G20
GCA_023823795.1	78.2181	13338	39873	<i>Bacillus</i> sp.	F19
GCF_000724485.1	78.1335	9335	39873	<i>Bacillus methanolicus</i>	MGA3
GCA_014235785.1	78.1123	10460	39873	<i>Bacillus</i> sp.	PAMC26568
GCF_000473245.1	78.0936	12253	39873	<i>Bacillus infantis</i>	NRRL B14911
GCF_022646885.1	78.0198	10866	39873	<i>Priestia koreensis</i>	FS1
GCF_001050115.1	78.0114	9043	39873	<i>Bacillus smithii</i>	DSM 4216
GCF_033449965.1	77.9613	10380	39873	<i>Bacillus</i> sp.	T3
GCA_020524525.2	77.9547	9237	39873	<i>Bacillus tianshenii</i>	KeN72
GCF_036670025.1	77.9452	13529	39873	<i>Niallia oryzae</i>	DSM 29761
GCF_000007825.1	77.9448	11681	39873	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579
GCF_001595725.1	77.9358	13067	39873	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Bt185
GCF_018742245.1	77.9356	11585	39873	<i>Bacillus mycoides</i>	JAS823
GCF_000017425.1	77.9342	9838	39873	<i>Bacillus cytotoxicus</i>	NVH 39198
GCF_000742895.1	77.9338	12071	39873	<i>Bacillus anthracis</i>	Vollum
GCF_022095615.2	77.9307	12686	39873	<i>Bacillus thuringiensis</i>	HSY204
GCF_020524035.2	77.9274	8602	39873	<i>Bacillus carboniphilus</i>	SaN353
GCF_000496285.1	77.9235	11225	39873	<i>Bacillus toyonensis</i>	BCT7112

GCF_022811845.1	77.9234	12150	39873	<i>Bacillus pseudomycooides</i>	N4512
GCF_001182785.1	77.9223	13126	39873	<i>Bacillus thuringiensis</i>	HS181
GCF_025917685.1	77.9214	11471	39873	<i>Bacillus cereus</i>	PT1
GCF_038971285.1	77.9192	12407	39873	<i>Bacillus paramycooides</i>	JYZSD5
GCF_030292155.1	77.917	11794	39873	<i>Bacillus</i> sp.	DX3.1
GCF_018966865.1	77.9139	11553	39873	<i>Bacillus</i> sp.	NP247
GCF_012955605.1	77.9133	6552	39873	<i>Bacillus fonticola</i>	CS13
GCF_000832605.1	77.913	12094	39873	<i>Bacillus mycooides</i>	ATCC 6462
GCF_019915265.1	77.9048	9312	39873	<i>Bacillus aquiflavi</i>	3H10
GCF_001455345.1	77.9031	11813	39873	<i>Bacillus thuringiensis</i>	CTC
GCA_014960805.1	77.9028	9496	39873	<i>Cytobacillus suaedae</i>	HD4P25
GCF_000021305.1	77.8971	12402	39873	<i>Bacillus cereus</i>	G9842
GCA_003667865.1	77.8803	9734	39873	<i>Rossellomorea marisflavi</i>	Bac144
GCF_036670015.1	77.8659	9810	39873	<i>Niattia</i> sp.	XMNu256
GCF_000242895.2	77.8294	10540	39873	<i>Bacillus</i> sp.	1NLA3E
GCF_022812285.1	77.8232	10934	39873	<i>Alkalihalobacillus</i> sp.	LMS39
GCF_020519665.1	77.7948	9704	39873	<i>Bacillus shivajii</i>	JCM 32183

Prilog 24. Komparativna genomska analiza *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* KO3-18 zasnovana na prosečnoj nukleotidnoj identičnosti (ANI).

Referentni genom	ANI (%)	Broj mapiranih fragmenata	Ukupan broj fragmenata	Vrsta	Izolat
KO3-18	100	4180	4180	<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>subtilis</i>	izolat iz naše studije
GCF_000706705.1	99.9042	3979	4180	<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>subtilis</i>	OH131.1
GCF_023612315.1	99.7736	4116	4180	<i>Bacillus subtilis</i>	pb2441
GCF_009662255.1	99.2816	4083	4180	<i>Bacillus subtilis</i>	MB8 B1
GCA_026153475.1	98.781	4002	4180	<i>Bacillus subtilis</i>	MG-1
GCF_00009045.1	98.6799	3959	4180	<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>subtilis</i>	168
GCF_004124315.2	92.2672	3706	4180	<i>Bacillus cabrialesii</i>	TE3
GCF_040784915.1	91.4057	3607	4180	<i>Bacillus vallismortis</i>	BL-01
GCF_004116955.1	90.6259	3534	4180	<i>Bacillus vallismortis</i>	DSM 11031
GCF_000196735.1	79.7072	2214	4180	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	DSM 7
GCF_029537375.1	76.4866	1863	4180	<i>Bacillus</i> sp.	HSf4
GCF_000011645.1	76.4864	1857	4180	<i>Bacillus licheniformis</i>	DSM 13
GCA_025809375.1	75.9145	1459	4180	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	XN149
GCF_038738535.1	75.8329	1559	4180	<i>Bacillus pumilus</i>	V17C11
GCF_040500475.1	75.8237	1378	4180	<i>Bacillus</i> sp.	Bos-x628
GCF_900186955.1	75.7509	1597	4180	<i>Bacillus pumilus</i>	NCTC10337
GCF_024498355.1	75.7422	1597	4180	<i>Bacillus pumilus</i>	NDY-10
GCF_003431975.1	75.6845	1640	4180	<i>Bacillus pumilus</i>	145
GCF_019933155.2	74.5302	1811	4180	<i>Metabacillus dongyingensis</i>	BY2G20
GCA_023823795.1	74.5067	1812	4180	<i>Bacillus</i> sp.	F19
GCA_014235785.1	74.3585	1462	4180	<i>Bacillus</i> sp.	PAMC26568
GCF_000724485.1	74.3372	1270	4180	<i>Bacillus methanolicus</i>	MGA3
GCF_022646885.1	74.3268	1508	4180	<i>Priestia koreensis</i>	FS-1
GCF_000473245.1	74.3004	1547	4180	<i>Bacillus infantis</i>	NRRL B-14911
GCF_033449965.1	74.2325	1450	4180	<i>Bacillus</i> sp.	T3
GCA_020524525.2	74.2137	1299	4180	<i>Bacillus tianshenii</i>	KcN7-2
GCA_003667865.1	74.2079	1422	4180	<i>Rosellomorea marisflavi</i>	Bac144
GCF_022811845.1	74.1919	1666	4180	<i>Bacillus pseudomycooides</i>	N451-2
GCF_012955605.1	74.1822	970	4180	<i>Bacillus fonticola</i>	CS13
GCA_014960805.1	74.1796	1387	4180	<i>Cytobacillus suaedae</i>	HD4P25
GCF_000017425.1	74.1702	1360	4180	<i>Bacillus cytotoxicus</i>	NVH 391-98
GCF_020524035.2	74.1635	1244	4180	<i>Bacillus carboniphilus</i>	SaN35-3
GCF_000242895.2	74.1627	1425	4180	<i>Bacillus</i> sp.	1NLA3E
GCF_018742245.1	74.1617	1624	4180	<i>Bacillus mycooides</i>	JAS823
GCF_038971285.1	74.1438	1702	4180	<i>Bacillus paramycooides</i>	JYZ-SD5
GCF_025917685.1	74.133	1597	4180	<i>Bacillus cereus</i>	PT1
GCF_000496285.1	74.1164	1581	4180	<i>Bacillus toyonensis</i>	BCT-7112
GCF_000832605.1	74.1156	1674	4180	<i>Bacillus mycooides</i>	ATCC 6462
GCF_001050115.1	74.1129	1267	4180	<i>Bacillus smithii</i>	DSM 4216
GCF_018966865.1	74.1093	1630	4180	<i>Bacillus</i> sp.	NP247
GCF_001455345.1	74.0984	1649	4180	<i>Bacillus thuringiensis</i>	CTC
GCF_000007825.1	74.0954	1676	4180	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579
GCF_000742895.1	74.0885	1699	4180	<i>Bacillus anthracis</i>	Vollum

GCF_022095615.2	74.0876	1736	4180	<i>Bacillus thuringiensis</i>	HSY204
GCF_019915265.1	74.0849	1331	4180	<i>Bacillus aquiflavi</i>	3H-10
GCF_001595725.1	74.0739	1837	4180	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Bt185
GCF_000021305.1	74.0698	1683	4180	<i>Bacillus cereus</i>	G9842
GCF_001182785.1	74.0673	1796	4180	<i>Bacillus thuringiensis</i>	HS18-1
GCF_020519665.1	74.0563	1354	4180	<i>Bacillus shivajii</i>	JCM 32183
GCF_022812285.1	74.0108	1513	4180	<i>Alkalihalobacillus</i> sp.	LMS39

Prilog 25. Komparativna genomska analiza *Pseudomonas oryzae* KO3-19 zasnovana na prosečnoj nukleotidnoj identičnosti (ANI).

Referentni genom	ANI (%)	Broj mapiranih fragmenata	Ukupan broj fragmenata	Vrsta	Izolat
KO3-19	100	1617	1618	<i>Pseudomonas oryzae</i>	izolat iz naše studije
GCF_001518815.1	98.0894	1486	1618	<i>Pseudomonas oryzae</i>	USDA-ARS-USMARC-56511
GCF_036884265.1	91.9921	1423	1618	<i>Pseudomonas benzopyrenica</i>	MLY92
GCF_000689415.1	80.3895	696	1618	<i>Pseudomonas knackmussii</i>	B13
GCF_021495345.1	80.3077	648	1618	<i>Ectopseudomonas hydrolytica</i>	DSWY.1
GCF_001457615.1	80.2136	724	1618	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC103.2
GCF_003595175.1	80.0238	598	1618	<i>Pseudomonas cavernae</i>	K2W31S-8
GCF_013200955.2	79.9743	554	1618	<i>Aquipseudomonas campi</i>	S1-A32.2
GCF_026686735.1	79.9298	607	1618	<i>Pseudomonas triclosanedens</i>	ZM23
GCF_021029445.1	79.9245	554	1618	<i>Pseudomonas wenzhouensis</i>	A20
GCF_014268885.2	79.8079	634	1618	<i>Pseudomonas xantholysinigenes</i>	RW9S1A
GCF_019139535.1	79.7694	654	1618	<i>Pseudomonas muyukensis</i>	COW39
GCF_900636545.1	79.7382	585	1618	<i>Ectopseudomonas mendocina</i>	NCTC10897
GCF_014269225.2	79.6708	589	1618	<i>Pseudomonas anuradhapurensis</i>	RD8MR3
GCF_019139675.1	79.642	629	1618	<i>Pseudomonas maumuensis</i>	COW77
GCF_000026105.1	79.6071	645	1618	<i>Pseudomonas entomophila</i>	L48
GCF_019823065.1	79.5871	698	1618	<i>Pseudomonas mosselii</i>	DSM 17497
GCF_019139895.1	79.47	663	1618	<i>Pseudomonas fakonensis</i>	COW40
GCF_003850565.1	79.4471	615	1618	<i>Pseudomonas sessilinigenes</i>	CMR12a
GCF_014268755.2	79.3774	674	1618	<i>Pseudomonas vanderleydeniana</i>	RW8P3
GCA_014268975.2	79.3253	579	1618	<i>Pseudomonas wayambapatensis</i>	RW3.1
GCF_000412675.1	79.2999	585	1618	<i>Pseudomonas putida</i>	NBRC 14164
GCF_035621475.1	79.2628	501	1618	<i>Pseudomonas paeninsulae</i>	IT1137
GCF_000761155.1	79.2615	535	1618	<i>Pseudomonas rhizosphaerae</i>	DSM 16299
GCF_003850345.1	79.2455	674	1618	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>piscium</i>	DSM 21509
GCF_013374995.1	79.1827	626	1618	<i>Pseudomonas eucalypticola</i>	NP.1
GCF_003945765.1	79.1652	679	1618	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>chlororaphis</i>	DSM 50083
GCF_000397205.1	79.1456	682	1618	<i>Pseudomonas protegens</i>	CHA0
GCF_026898135.2	79.128	551	1618	<i>Pseudomonas fortuita</i>	GMI12077
GCF_004214895.1	79.0414	565	1618	<i>Pseudomonas tructae</i>	SNU W.1
GCF_019141525.1	79.0335	550	1618	<i>Pseudomonas alvandrae</i>	SWRI17
GCF_030687295.1	78.8906	575	1618	<i>Pseudomonas beijingensis</i>	FP830
GCF_023509015.1	78.844	589	1618	<i>Pseudomonas abieticivorans</i>	PIA16
GCF_000746525.1	78.8303	519	1618	<i>Pseudomonas alkylphenolica</i>	KL28
GCF_013347965.1	78.8051	593	1618	<i>Pseudomonas bijieensis</i>	L22-9
GCF_004786035.1	78.7803	569	1618	<i>Pseudomonas viciae</i>	11.1
GCF_003352185.1	78.7314	524	1618	<i>Pseudomonas kribbensis</i>	46
GCF_014269025.2	78.7227	453	1618	<i>Pseudomonas promysalinigenes</i>	RW10.1
GCF_014863605.1	78.6253	528	1618	<i>Pseudomonas allokribbensis</i>	IzPS23
GCF_014268455.2	78.6194	518	1618	<i>Pseudomonas shahriarae</i>	SWRI.2
GCF_014863585.1	78.6178	531	1618	<i>Pseudomonas gozinkensis</i>	IzPS32d
GCF_021018765.1	78.5852	545	1618	<i>Pseudomonas fitomaticsae</i>	FIT.1

GCF_001594225.2	78.5537	534	1618	<i>Pseudomonas glycinae</i>	MS586
GCF_014268585.2	78.5189	502	1618	<i>Pseudomonas iranensis</i>	SWRI54
GCF_019139815.1	78.5128	531	1618	<i>Pseudomonas asgharzadehiana</i>	SWRI1.2
GCF_030687835.1	78.5116	517	1618	<i>Pseudomonas hefeiensis</i>	FP205
GCF_018968705.1	78.4589	467	1618	<i>Pseudomonas lijiangensis</i>	L.2
GCF_024112395.2	78.4512	564	1618	<i>Pseudomonas pergaminensis</i>	1008
GCF_014268495.2	78.4478	505	1618	<i>Pseudomonas monsensis</i>	PGSB 8459
GCF_001661075.1	78.4356	505	1618	<i>Pseudomonas silesiensis</i>	A3
GCF_018343775.1	78.4106	440	1618	<i>Pseudomonas cichorii</i>	DSM 50259
GCF_039909015.1	78.3995	543	1618	<i>Pseudomonas grandcoursensis</i>	DGS24
GCF_016925675.1	78.3836	505	1618	<i>Pseudomonas hygromyctinae</i>	SDM007
GCF_039908635.1	78.3449	459	1618	<i>Pseudomonas purpurea</i>	DGS26
GCF_014268275.3	78.3241	500	1618	<i>Pseudomonas tritici</i>	SWRI145
GCF_014268595.2	78.2672	501	1618	<i>Pseudomonas hamedanensis</i>	SWRI65
GCF_039908645.1	78.2476	445	1618	<i>Pseudomonas helvetica</i>	DGS28
GCF_024296925.1	78.2274	488	1618	<i>Pseudomonas nunensis</i>	In5
GCF_030687395.1	78.2026	479	1618	<i>Pseudomonas wuhanensis</i>	FP607
GCF_018502625.1	78.1205	483	1618	<i>Pseudomonas hormoni</i>	G20-18
GCF_030687935.1	78.1138	484	1618	<i>Pseudomonas cucumis</i>	FP1935
GCF_014268445.2	78.0287	468	1618	<i>Pseudomonas tensinigenes</i>	ZA 5.3
GCF_030053115.1	78.0116	466	1618	<i>Pseudomonas svalbardensis</i>	PMCC 200367
GCA_900475325.1	77.9475	447	1618	<i>Paucimonas lemoignei</i>	NCTC10937
GCF_001294575.1	77.6023	343	1618	<i>Pseudomonas versuta</i>	L10.10

Prilog 26. Komparativna genomska analiza *Duffyella gerundensis* KO3-44 zasnovana na prosečnoj nukleotidnoj identičnosti (ANI).

Referentni genom	ANI (%)	Broj mapiranih fragmenata	Ukupan broj fragmenata	Vrsta	Izolat
KO3-44	100	1457	1458	<i>Duffyella gerundensis</i>	izolat iz naše studije
GCF_001517405.1	98.8594	1390	1458	<i>Duffyella gerundensis</i>	E_g_EM595
GCF_017815635.1	98.8581	1362	1458	<i>Duffyella gerundensis</i>	A4
GCF_002953195.1	80.3218	816	1458	<i>Mixta gaviniae</i>	DSM 22758
GCF_002953215.1	80.2222	766	1458	<i>Mixta calida</i>	DSM 22759
GCF_022647325.1	80.052	776	1458	<i>Pantoea deleyi</i>	LMG24200
GCF_004792415.1	80.0484	786	1458	<i>Pantoea vagans</i>	LMG 24199
GCF_007833795.1	80.0017	775	1458	<i>Pantoea soli</i>	DSM 32899
GCF_019880205.1	79.9399	756	1458	<i>Pantoea alfalfae</i>	CQ10
GCF_002101395.1	79.7859	689	1458	<i>Pantoea alhagi</i>	LTyr-11Z
GCF_023517775.1	79.7431	741	1458	<i>Mixta hanseatica</i>	X22927
GCF_009646115.1	79.6196	766	1458	<i>Pantoea eucalypti</i>	LMG 24197
GCF_030758455.1	79.4989	666	1458	<i>Erwinia pyri</i>	DE2
GCF_013285385.1	79.389	520	1458	<i>Paramixta manurensis</i>	PD-1
GCF_009738185.1	79.3364	579	1458	<i>Erwinia sorbitola</i>	J780
GCF_000026185.1	79.2869	489	1458	<i>Erwinia tasmaniensis</i>	Et199
GCF_022647505.1	79.1359	449	1458	<i>Pantoea beijingensis</i>	JZB2120001
GCF_017161565.1	78.977	477	1458	<i>Erwinia amylovora</i>	ATCC 15580
GCF_037948395.1	78.7916	519	1458	<i>Serratia</i>	LMG 31536
GCF_001642805.2	78.7898	501	1458	<i>Serratia surfactantfaciens</i>	YD25
GCF_029962605.1	78.7425	508	1458	<i>Serratia sarumanii</i>	K-M0706
GCF_001975225.1	78.7327	534	1458	<i>Kosakonia cowanii</i>	JCM
GCA 901472405.1	78.7261	536	1458	<i>Serratia rubidaea</i>	NCTC12971
GCF_900324475.1	78.7158	473	1458	<i>Enterobacter bugandensis</i>	EB-247
GCF_017299535.1	78.7031	500	1458	<i>Serratia marcescens ssp. marcescens</i>	ATCC 13880
GCF_018323985.1	78.7031	519	1458	<i>Enterobacter kobei</i>	JCM 8580
GCF_021462285.1	78.6999	519	1458	<i>Serratia entomophila</i>	A1
GCF_008364625.2	78.6739	471	1458	<i>Enterobacter dykesii</i>	E1
GCF_001277215.2	78.6468	527	1458	<i>Cronobacter malonaticus</i>	LMG 23826
GCF_002269255.1	78.6406	474	1458	<i>Klebsiella quasivariicola</i>	KPN1705
GCA 000027065.2	78.6318	526	1458	<i>Cronobacter turicensis</i>	z3032
GCF_900187015.1	78.6254	551	1458	<i>Serratia ficaria</i>	NCTC12148
GCF_009176645.1	78.6005	451	1458	<i>Enterobacter oligotrophicus</i>	CCA6
GCF_001984825.2	78.6001	503	1458	<i>Enterobacter chengduensis</i>	WCHECI-C4
GCF_001521715.1	78.5716	480	1458	<i>Enterobacter asburiae</i>	ATCC 35953
GCF_020525925.1	78.5616	495	1458	<i>Klebsiella quasipneumoniae ssp. quasipneumoniae</i>	01A030T
GCF_000025565.1	78.5548	466	1458	<i>Enterobacter cloacae ssp. cloacae</i>	ATCC 13047
GCF_003594935.2	78.5334	466	1458	<i>Enterobacter huaxiensis</i>	90008
GCF_001277195.1	78.5298	496	1458	<i>Cronobacter muytjensii</i>	ATCC 51329
GCF_900635955.1	78.5261	451	1458	<i>Cedecea lapagei</i>	NCTC11466
GCF_009817885.1	78.516	535	1458	<i>Serratia rhizosphaerae</i>	KUDC3025
GCF_021278985.1	78.5114	474	1458	<i>Citrobacter rodentium</i>	NBRC 105723 =

					DSM 16636
GCF_000422085.1	78.492	438	1458	<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 27592
GCF_011064845.1	78.4904	367	1458	<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090
GCF_018323885.1	78.4768	419	1458	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	JCM 1661
GCF_000982825.1	78.4752	524	1458	<i>Cronobacter sakazakii</i>	ATCC 29544
GCF_001729765.1	78.4718	450	1458	<i>Enterobacter kobei</i>	DSM 13645
GCA 901472455.1	78.4673	468	1458	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	NCTC13032
GCF_001277175.1	78.4641	544	1458	<i>Cronobacter universalis</i>	NCTC 9529
GCF_001729805.1	78.4574	481	1458	<i>Enterobacter rogenkampii</i>	DSM 16690
GCF_001277235.1	78.455	540	1458	<i>Cronobacter dublinensis</i> ssp. <i>dublinensis</i>	LMG 23823
GCF_001729785.1	78.4422	484	1458	<i>Enterobacter hormaechei</i> ssp. <i>xiangfangensis</i>	LMG27195
GCF_021172065.1	78.4335	449	1458	<i>Pseudocitrobacter corydidari</i>	G163CM
GCF_001658025.2	78.4245	483	1458	<i>Kosakonia oryzae</i>	Ola 51
GCF_900635445.1	78.4082	454	1458	<i>Serratia odorifera</i>	NCTC11214
GCF_006711645.1	78.4045	445	1458	<i>Klebsiella electrica</i>	DSM 102253
GCF_001750725.1	78.3963	437	1458	<i>Enterobacter ludwigii</i>	EN-119
GCF_000828055.2	78.3845	489	1458	<i>Klebsiella variicola</i>	DSM 15968
GCA 002271215.1	78.3763	450	1458	<i>Lelliottia jeotgali</i>	PFL01
GCF_004353845.1	78.3701	383	1458	<i>Citrobacter arsenatis</i>	LY-1
GCF_034424175.1	78.3696	392	1458	<i>Kluyvera intermedia</i>	HAMBI 1299
GCF_000006945.2	78.356	370	1458	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i>	LT2
GCF_020526085.1	78.35	473	1458	<i>Klebsiella africana</i>	200023
GCF_001277255.1	78.3196	447	1458	<i>Cronobacter condimenti</i>	LMG 26250
GCF_003935895.2	78.3028	439	1458	<i>Scandinavium goeteborgense</i>	CCUG 66741
GCA 009363175.1	78.3012	422	1458	<i>Citrobacter telavivensis</i>	6105
GCF_000280495.2	78.294	502	1458	<i>Kosakonia radicincitans</i>	DSM 16656
GCF_000215745.1	78.2926	460	1458	<i>Klebsiella aerogenes</i>	KCTC 2190
GCF_000252995.1	78.2912	326	1458	<i>Salmonella bongori</i>	NCTC 12419
GCF_017348915.1	78.2805	430	1458	<i>Leclercia pneumoniae</i>	49125
GCA 900635495.1	78.2798	427	1458	<i>Atlantibacter hermannii</i>	NCTC12129
GCF_000262305.1	78.2718	322	1458	<i>Shimwellia blattae</i>	DSM 4481
GCF_003697165.2	78.2567	366	1458	<i>Escherichia coli</i>	DSM 30083
GCF_000026225.1	78.251	317	1458	<i>Escherichia fergusonii</i>	ATCC 35469
GCA 900635465.1	78.2467	409	1458	<i>Lelliottia amnigena</i>	NCTC12124
GCF_005671395.1	78.2297	395	1458	<i>Jejubacter calystegiae</i>	KSNA2
GCF_004684345.1	78.2254	374	1458	<i>Citrobacter tructae</i>	SNU WT2
GCF_026967475.1	78.2142	383	1458	<i>Rouxiiella chamberiensis</i>	DSM 28324
GCF_001644705.1	78.214	367	1458	<i>Dickeya solani</i>	IPO 2222
GCF_002900365.1	78.209	328	1458	<i>Escherichia marmotae</i>	HT073016
GCF_000164865.1	78.2003	491	1458	<i>Enterobacter lignolyticus</i>	SCF
GCF_031432975.1	78.1951	340	1458	<i>Buttiauxella selenatireducens</i>	R73
GCF_000300455.3	78.1939	462	1458	<i>Kosakonia sacchari</i>	SP1
GCF_002291425.1	78.1827	448	1458	<i>Gibbsiella quercinecans</i>	FRB97
GCF_003261575.2	78.1777	426	1458	<i>Klebsiella huaxiensis</i>	WCHKI090001
GCF_029338175.1	78.1734	376	1458	<i>Citrobacter enshiensis</i>	S171
GCF_002307355.1	78.1538	358	1458	<i>Pectobacterium polaris</i>	NIBIO1006
GCF_001006005.1	78.1251	436	1458	<i>Serratia fonticola</i>	DSM 4576
GCF_003382565.3	78.1195	328	1458	<i>Pectobacterium aquaticum</i>	A212-S19-A16

GCA_026967495.1	78.1149	340	1458	<i>Rouxiella badensis</i>	DSM 100043
GCF_037076465.1	78.064	305	1458	<i>Pectobacterium araliae</i>	MAFF 302110
GCF_020181655.1	78.0248	333	1458	<i>Pectobacterium colocasium</i>	LJ1
GCF_000520015.2	78.0194	308	1458	<i>Chania multitudinisentens</i>	RB-25
GCF_002812485.1	78.0054	398	1458	<i>Dickeya fangzhongdai</i>	DSM 101947
GCF_001742185.1	77.9886	325	1458	<i>Pectobacterium wasabiae</i>	CFBP 3304
GCF_041228105.1	77.9833	356	1458	<i>Pectobacterium aroidearum</i>	NCPPB 929
GCF_029635795.1	77.9439	302	1458	<i>Dickeya lacustris</i>	LMG30899
GCF_012427845.1	77.9416	304	1458	<i>Pectobacterium punjabense</i>	SS95
GCF_002291445.1	77.9343	310	1458	<i>Brenneria goodwinii</i>	FRB141
GCF_002951615.1	77.9333	414	1458	<i>Rahnella sikkimica</i>	ERMRI:05
GCF_007858975.2	77.9173	313	1458	<i>Dickeya poaceiphila</i>	NCPPB 569
GCF_001742145.1	77.8719	312	1458	<i>Pectobacterium parmentieri</i>	RNS 08-42-1A
GCF_005484965.1	77.8258	354	1458	<i>Brenneria nigrifluens</i>	DSM 30175
GCA_019056595.1	77.7953	318	1458	<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	CFBP1526

BIOGRAFIJA AUTORA

Marija I. Petrović rođena je 13.01.1993. u Čačku, gde je završila osnovnu školu i Gimnaziju. Osnovne studije upisala je 2011. godine na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a diplomirala je 2018. godine. Master rad pod nazivom „*Fitoheмиjska analiza i antimikrobno dejstvo ekstrakata vrste Centaurea calcitrapa L. (Asteraceae)*“ odbranila je 2019. godine. Školske 2020/21. upisala je doktorske akademske studije na modulu Molekularna biologija na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu pod mentorstvom dr Ivica Dimkića. Tokom školske 2020/2021. i 2021/2022. godine bila je angažovana u realizaciji praktične nastave iz predmeta Dinamička biohemija. Od 2021. do 2023. godine bila je zaposlena kao stručni saradnik u Inovacionom centru Biološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Tokom 2022. i 2023. godine bila je na stručnom usavršavanju u Međunarodnom centru za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju u Trstu i Institutu „Jožef Stefan“ u Ljubljani, gde je radila na istraživanjima bakterijskih inokulanata, kolonizacije biljaka i selekcije efikasnih bakterijskih konzorcijuma. Od 2020. do 2023. godine učestvovala je u međunarodnom istraživačkom projektu „*Development of bacterial inoculants for biological control of plant pathogens*“ u okviru Collaborative Research Programme (CRP) – ICGEB Research Grants Programme (grant No. CRP/SRB19-02). Od 2021. do 2023. godine učestvovala je u projektu „*Razvoj i primena novih agrarnih proizvoda na bazi bakterijskih endofitskih i epifitskih inokulanata, biofertilizatora i biokontrolnih agenasa u održivoj poljoprivredi*“ u saradnji sa kompanijom FERTICO d.o.o. Objavila je osam naučnih radova (četiri iz kategorije M21a, jedan iz kategorije M21, tri iz kategorije M22) i učestvovala je sa 11 saopštenja na naučnim inostranim i domaćim skupovima.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Марија Петровић

Број индекса М3016/2020

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Преобликовање ризосферног микробиома аграрних усева имплементацијом новодизајнираних бактеријских формулација са потенцијалом биоконтроле и промоције раста биљака

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертацијау целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска праваи користио/лаинтелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског
рада**

Име и презиме аутора Марија Петровић

Број индекса М3016/2020

Студијски програм Молекуларна биологија

Наслов рада Преобликовање ризосферног микробиома аграрних усева имплементацијом новодизајнираних бактеријских формулација са потенцијалом биоконтроле и промоције раста биљака

Ментор др Ивица Димкић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, _____

Потпис аутора

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Преобликовање ризосферног микробиома аграрних усева имплементацијом новодизајнираних бактеријских формулација са потенцијалом биоконтроле и промоције раста биљака

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

У Београду, _____

Потпис аутора

1. Ауторство. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прерада. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.