

# INFLUENȚA PRACTICILOR AGRICOLE ASUPRA UNOR INDICATORI ECOLOGICI AI MICROBIOMULUI SOLULUI

Artiomov Laurenția, *doctor în științe biologice, cercetător științific coordonator, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, UTM.*

The paper presents the result of the research of the microbiome of the typical chernozem. The anthropic load of the soil, the agricultural management system influenced the formation of the communities of *Archaea* and *Bacteria* in the soil at the Experimental Base *Biotron*. The experimental plots were arable land, occupied with plants of two contrasting fodder crop rotations (with and without alfalfa) in three variants: 1 - non-fertilized background (control); 2 - mineral fund (mineral fertilizers); 3 - organic background (cattle manure). The type of soil fertilization and crop rotation are essential factors influencing the abundance and diversity of soil microorganisms. As a result of metagenomic research, about 19 phyla, 38 classes, 97 orders, 146 families and 305 genera of prokaryotes were identified.

To characterize the diversity of soil microorganisms according to agricultural practices, the Shannon Diversity Index was determined. The diversity of different soil microbiocenosis taxa was influenced differently by crop rotation and fertilization type. The highest Shannon diversity index of genera within phyla was recorded for the Proteobacteria phylum of the Bacteria domain in the no-alfalfa crop rotation, control variants (3.42) and mineral fertilization (3.35).

**Key words:** *soil microbiome diversity, agricultural management, taxa richness and abundance.*

## INTRODUCERE

Strategiile optime de management sunt esențiale pentru menținerea calității bune a solului și sustenabilitatea producției agricole pe termen lung. Microbiomul este considerat o componentă omniprezentă și indispensabilă a ecosistemului solului, care susține funcții precum circuitul carbonului organic, eficiența utilizării nutrienților și productivitatea, el poate influența biodiversitatea și productivitatea ecosistemelor supraterane. Comunitățile bacteriene din sol sunt conectate prin interacțiuni sintrofice, competitive și alte interacțiuni sinergice și antagoniste în interiorul lor și cu alte componente biotei. Compoziția lor taxonomică reflectă echilibrul ecologic rezultat din efectele combinate ale factorilor biotici și abiotici, inclusiv factori controlabili legați de tehnologia agricolă [9]. Practicile de management, cum ar fi lucrarea solului și rotația culturilor; fertilizarea periodică, aplicarea pesticidelor generează modificări temporale și spațiale ale proprietăților fizice și chimice ale solului în sistemele agricole.

Monocultura, adică cultivarea acelorași culturi în același loc în fiecare an, privează solul de nutrienți și limitează capacitatea acestuia de a susține creșterea sănătoasă a plantelor în timp. Alternativele monoculturii sunt rotația culturilor și aplicarea culturilor intercalarea pentru îmbunătățirea calității. Rotația culturilor are un impact semnificativ asupra diversității microbiene a solului. Z.S. Venter și coautorii [8] au constatat că creșterea diversității culturilor în rotație are un impact pozitiv asupra abundenței microorganismelor solului. Rotația culturilor induce diversitatea compoziției comunității microbiene și sporirea capacității metabolice. Aceste schimbări ar putea fi legate de varietatea exsudatelor rădăcinilor culturilor și de compoziția chimică a reziduurilor plantelor cultivate.

Li Y. și colaboratorii [3] au studiat efectele fertilizării pe termen lung asupra căilor metabolice microbiene din sol. Analiza autorilor în conformitate cu *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) a constatat că aplicarea de îngrășăminte a afectat ribozomii, fotosinteza și căile fosforilării oxidative. Îngrășămintele organice au crescut fixarea și nitrificarea N, iar cele anorganice au accelerat denitrificarea. Astfel, funcția microbiomului solului în diferite aplicații de îngrășăminte ar putea fi importantă pentru aplicarea rațională a îngrășămintelor și pentru dezvoltarea durabilă a mediului. Deoarece practicile agricole modifică diversitatea și compoziția comunităților microbiene din sol, iar aceste comunități modificate influențează

funcționarea ecosistemelor agricole este foarte important să se înțeleagă care ar putea fi căile de formare unui microbiom ce ar contribui la o productivitate înaltă a agroecosistemului fără a afecta negativ mediul.

## MATERIAL ȘI METODE

În calitate de material pentru cercetare au servit microbiomii cernoziomului tipic. Investigațiile s-au realizat în două sisteme de utilizare a terenului: în fâșia forestieră și pe terenurile arabile a două asolamente furajere (I – cu lucernă, II – fără lucernă) ale Staționarului multianual „Biotron”, Chișinău.

În fiecare asolament s-au examinat câte trei variante: 1 – martor, fără fertilizare, 2 – fertilizare minerală, 3 – fertilizare organică cu gunoi de grajd (bovine).

Structura și diversitatea microbiomului solului în diferite sisteme de management agricol s-a studiat prin aplicarea metodelor metagenomice. Au fost analizați taxonii structurali de procariote, identificați prin secvențiere nucleotidică a genei amplificate ARNr 16S (Illumina 3.rar) în secția *Tehnologii Genomice ale Centrului științific „Tehnologii genomice, proteomică și biologie celulară” Institutului de cercetări științifice în domeniul Microbiologiei agricole, Sankt Petersburg, Rusia*. Dintre indicatorii ecologici ai microbiocenozelor solului s-au examinat bogăția, abundența relativă a taxonilor și Indicele de diversitate Shannon.

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

În cernoziomul tipic al stației experimentale *Biotron* în anul 2020 au fost identificate 20 filumuri de procariote, respectiv 2 filumuri din domeniul *Archaea* și 18 filumuri din domeniul *Bacteria*. Comunitățile de procariote au aparținut preponderent domeniului *Bacteria*, însă și *Archaea*, reprezentată de filum-ul *Nitrososphaerota* (syn. *Thaumarchaeota*), constituie o proporție semnificativă din microbiom: (4-13%). Proteobacteria a fost filumul de bacterii dominant în solurile tuturor tratamentelor, reprezentând în 2020 13,18-44,82%. Filumul Actinobacteria a fost al doilea ca abundență relativă reprezentând 10,43%-22,03%. Printre filmurile dominante putem menționa; *Thaumarchaeota* (*Archaea*) Firmicutes, Bacteroidota, Acidobacteriota, Myxococcota, Planctomycetota. Filmurile de bacterii cu strategie de nutriție preponderent copiotrofă au avut abundență mai mare în variantele cu sol fertilizat al asolamentelor agricole. Unele filumuri (*Halobacterota*, *Abditobacteriota*, *Campilobacterota*, *Deinococcota*, *Desulfobacterota*, *Fusobacteriota*) nu au fost identificate în toți anii de experiment.

În experimentul anului 2020 unele filumuri „rare” (*Bdellovibrionota*, *Fusobacteriota*, *Myxococcota*, *Patescibacteria*) cu abundență scăzută nu au fost identificate în solul neprelucrat din fâșia forestieră. Majoritatea filmurilor au fost mai abundente în solul cultivat nefertilizat în comparație cu solul necultivat al fâșiei forestiere adiacente lotului experimental. Filmurile *Nitrososphaerota*, *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Myxococcota*, *Proteobacteria* au avut abundențe relative semnificativ mai mari în solul cultivat nefertilizat (variantele martor) decât în solul necultivat. Ponderile filmurilor *Acidobacteriota* și *Verrucomicrobiota* au fost mai mari în solul necultivat. Probabil, abundența mai mare a acestor filumuri, preponderent oligotrofe, în solul necultivat demonstrează că comunitățile bacteriene au intensificat descompunerea materiei organice recalcitrante și complexe, cum ar fi polizaharidele (5).

Pentru a elucidă influența prelucrării solului asupra structurii microbiomului s-au comparat variantele martor din 2 asolamente și fâșia forestieră adiacentă. În urma analizei comparative a rezultatelor cercetărilor metagenomice a solului din variantele menționate la nivel de gen s-au identificat 121 genuri de procariote, inclusiv 116 din domeniul *Bacteria* bacterii și 5 din domeniul *Archaea*. Bogăția genurilor de procariote din solul variantelor comparate a fost diferită: martor I (asolament cu lucernă) - 86 genuri, martor II (asolament fără lucernă) – 76 genuri, fâșie forestieră – 48 genuri. Deși bogăția de genuri în solul neprelucrat al fâșiei forestiere este mult mai mică ca în variantele martor, structura acestui microbiom conține 9 taxoni specifici, care nu se întâlnesc în variantele martor:

1. *Bacteria*; *Acidobacteriota*; *Blastocatellia*; *Blastocatellales*; *Blastocatellaceae*; **unclassified**

***Blastocatellaceae*** - 0,6886%. *Blastocatellaceae* sunt bacterii oligotrofe, acidofile, cu o eficiență mai mare în utilizarea bazinului organic recalcitrant și îmbunătățesc ciclul nutrienților din sol. Cui, J. și coautorii [2] consideră că familia *Blastocatellaceae* este asociată semnificativ cu limitarea N în sol și cu starea oligotrofă - dominantă a microbiomului solului. Autorii consideră că bacteriile familiei *Blastocatellaceae* sunt

biomarkeri, abundența cărora crește în condiții de conținut scăzut de nutrienți, și care au tendința de a utiliza materie organică complexă. Familia *Blastocatellaceae* include microorganisme benefice pentru recuperarea solului, datorită abilităților de descompunere a substratului de carbon din sol.

2. *Bacteria; Actinobacteriota; Actinobacteria; Propionibacteriales; Nocardioidaceae; Nocardioidea* 0,63945%. Genul *Nocardioidea* cuprinde 111 specii recunoscute ([www.bacterio.net/nocardioidea.html](http://www.bacterio.net/nocardioidea.html)), care au fost recuperate dintr-o mare varietate de habitate. Diversii membri ai genului *Nocardioidea* au aplicații biotehnologice. Multe tulpini ale acestui gen au un rol important în bioremediere și descompun diverse poluanți, cum ar fi alcanii, piridina, fenolii, fenantrenul și alții [4]. Pe lângă acești compuși organici, există tot mai multe dovezi că tulpinile *Nocardioidea* se pot oxida compușii anorganici și monoxidul de carbon.
3. *Bacteria; Actinobacteriota; Thermoleophilia; Gaiellales; Gaiellaceae; Gaiella* - 0,59026%. Bacteriile din familia *Gaiellaceae* sunt mai abundente în sistemele de management agricol fără arătură [11] și în cazul fertilizării cu vermicompost [10].
4. *Bacteria; Actinobacteriota; Thermoleophilia; unclassified\_Thermoleophilia; Other; Other* - 1,3772%. Taxonii bacterieni *Thermoleophilia* se întâlnesc într-o proporție mai mare în cazul când solul și litiera pădurii sunt de calitate joasă, având și o diversitate mai mică a microbiomului [1].
5. *Bacteria; Actinobacteriota; unclassified\_Actinobacteriota* - 0,93458%
6. *Bacteria; Firmicutes; Clostridia; Peptostreptococcales-Tissierellales, Peptostreptococcaceae; Romboutsia* - 0,09838%. Membrii genului *Romboutsia* par să aibă o gamă versatilă de capacități metabolice în ceea ce privește utilizarea carbohidraților, fermentarea aminoacizilor, respirația anaerobă [6].
7. *Bacteria; Gemmatimonadota; Gemmatimonadetes; Gemmatimonadales; Gemmatimonadaceae; uncultured* - 0,24594%
8. *Bacteria; Planctomycetota; Planctomycetes; Planctomycetales; unclassified\_Planctomycetales; Other* - 0,14757
9. *Bacteria; Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Reyranelles; Reyranelaceae; Reyranelia* 0,63945%.

Qian W. și colaboratorii [7] menționează că abundența relativă a genului *Reyranelia* și a altor taxoni (*Bradyrhizobium*, *Candidatus Solibacter*) a crescut la o schimbare a regimului de cultivare de la cultivarea convențională la cea conservativă. Autorii menționează că în schimbările funcționale în comunitatea microbială a solurilor negre sunt influențate mai mult de returnarea reziduurilor decât prelucrarea conservativă a solului. Prezența în microbiomul solului fâșiei forestiere a bacteriilor genului *Reyranelia* (Proteobacteria) poate fi explicată prin implicarea în biodegradarea polizaharidelor recalcitrante și complexe din resturile vegetale, care sunt în cantități mult mai mari în solul necultivat decât în cel cultivat. Genurile specifice doar microbiomului solului fâșiei forestiere alcătuiesc circa 5% din microbiomul total al solului.

La studierea bogăției de genuri în microbiomii solurilor asolamentului cu lucernă în funcție de fertilizare am identificat 83 genuri în varianta cu fertilizare minerală și 89 genuri în varianta cu fertilizare organică. În asolamentul fără lucernă bogăția de genuri a fost mai mică, respectiv 50 și 64 de genuri. Solurile cu diferit tip de fertilizare s-au caracterizat și prin anumite genuri specifice. În asolamentul cu lucernă microbiomul solului a conținut 18 genuri specifice în varianta cu fertilizare minerală și 22 în varianta cu fertilizare organică. În asolamentul fără lucernă 18 genuri au fost specifice variantei cu fertilizare minerală, iar 20, variantei cu fertilizare organică. Majoritatea genurilor specifice variantelor de fertilizare diferă la cele 2 asolamente. Genurile specifice comune ambelor asolamente sunt următoarele:

Varianta fertilizare minerală: *Micrococcus*(*Actinobacteriota*), *Fusobacterium* (*Fusobacteriota*)

Varianta fertilizare organică: *Nonomuraea*, *unclassified\_Thermoleophilia* (*Actinobacteriota* ); *Alloiococcus*, *Paenibacillus* (*Firmicutes*).

Fertilizarea minerală și organică duce la o creștere semnificativă a abundenței unor bacterii cu strategii de nutriție copiotrofă și la o diminuare a abundenței celor oligotrofe.

Studierea diversității microbiomului solului la nivel de filum în diferite variante ale experimentului relevă faptul că cea mai mare diversitate o are solul neprelucrat în centura forestieră și în variantele martor a ambelor

asolamente (tabel 1). Diversitatea minimă a fost caracteristică în varianta *Fertilizare organică* a asolamentului fără lucernă. Diversitatea mai mică a microorganismelor în varianta *Fertilizare organică* poate fi explicată prin faptul că îngrășămintele organice au fost aplicate în 2016 și deja s-a pierdut capacitatea lor de activare a microbiomului din sol, iar majoritatea microorganismelor exogene din bălegar nu au supraviețuit.

Cel mai înalt indice de diversitate Shannon a fost înregistrat pentru filumul *Proteobacteria* a domeniului *Bacteria* în asolamentul fără lucernă, variantele *martor* (3,42) și *fertilizare minerală* (3,35). Cel mai mic indice de diversitate Shannon în cadrul domeniului *Bacteria* a fost calculat pentru filumul *Gemmatimonadota* în toate variantele experimentului (0.00) cu excepția variantelor *martor* (0,43,0,45). Indicele de diversitate Shannon a genurilor în filumuri este în diminuare în șirul filumurilor:

*Proteobacteria*→*Actinobacteriota*→*Acidobacteriota*→*Bacteroidota*→*Planctomycetota*→*Verumicrobiota*→*Myxococcota*→*Firmicutes*→*Crenarcheota* (*Archaea*) → *Gemmatimonadota*

**Indicele de diversitate Shannon (H)** a genurilor filumului *Actinobacteriota* are valori maxime în solul fâșiei forestiere și a variantei fertilizare organică a asolamentului cu lucernă (3,07). Cea mai înaltă valoare a **indiciului de diversitate Shannon (H)** a genurilor filumului *Acidobacteriota* a fost în varianta fâșie forestieră – 2,27, urmată de variantă fertilizare minerală a asolamentului fără lucernă. Astfel, filumurile cu diversitate maximă a genurilor în solul fâșiei forestiere au fost: *Actinobacteriota*, *Acidobacteriota*, *Verumicrobiota*, *Myxococcota*.

Tabelul 1. *Indici ecologici ai comunităților de procariote la nivel de filum*

Variantele experimentului	Indicele de diversitate Shannon (H)	Indicele de diversitate Simpson	Indicele Margalef (bogăția de taxoni)	Indicele Menhinick (bogăția de taxoni)
<b>Asolament cu lucernă</b>				
Martor	1,85	0,2324	1,7128	0.1259
Fertilizare minerală	1.74	0.2619	1.5854	0.1094
Fertilizare organică	1.73	0.2899	1.5014	0.1083
<b>Asolament fără lucernă,</b>				
Martor	1.81	0.2500	<b>1.4709</b>	0.1286
Fertilizare minerală	1.79	<b>0.2506</b>	<b>1.8116</b>	<b>0.1322</b>
Fertilizare organică	1.60	<b>0.3263</b>	<b>1.7992</b>	<b>0.1278</b>
<b>Fâșia forestieră</b>				
<b>Fâșia forestieră</b>	1.80	<b>0.2475</b>	<b>0.2475</b>	0.1176

#### CONCLUZII:

1. Tipul de utilizare a terenului afectează în mod semnificativ structura filogenetică a microbiomului cernoziomului. Cei mai sensibili la tipul de utilizare a terenului au fost reprezentanții filumurilor cu abundență joasă: *Fibrobacterota*, *Fusobacteriota*, *Nitrospirota* etc.
2. Tipul de utilizare a terenurilor, practicile agricole influențează diferit microorganismele în funcție de strategia lor de nutriție. Microorganismele cu strategie de nutriție copiotrofă au a abundență mai mare în solul agricol fertilizat. Taxonii specifici solului necultivat includ microorganismele preponderent oligotrofe, implicate în biodegradarea polizaharidelor recalcitrante și complexe din resturile vegetale, care sunt în cantități mari în solul necultivat.
3. Managementul agricol are efecte complexe și diverse asupra microbiomului solului. Este dificil să se facă concluzii universale valabile despre sistemele de agricultură ecologică și convențională din cauza complexității comunității microbiene a solului. Relația dintre biodiversitate și funcționarea agroecosistemelor este complicată, iar legătura dintre diversitatea supraterană a plantelor și cea subterană a microorganismelor necesită cercetări suplimentare.

#### Finanțarea lucrării

Lucrarea a fost realizată în cadrul proiectului **20.80009.5107** «Eficientizarea utilizării resurselor de sol și a diversității microbiene prin aplicarea elementelor agriculturii biologice (organice)».

### **Bibliografie:**

1. Bayranvand, M.; Akbarinia, M.; Salehi Jouzani, G.; Gharechahi, J.; Kooch, Y.; Baldrian, P. *Composition of soil bacterial and fungal communities in relation to vegetation composition and soil characteristics along an altitudinal gradient*. In: FEMS microbiology ecology, 2021, 97(1), f1aa201. <https://doi.org/10.1093/femsec/f1aa201>
- . Cui, J.; Zhu, R.; Wang, X.; Xu, X.; Ai, C.; He, P.;, Zhu, P. *Effect of high soil C/N ratio and nitrogen limitation caused by the long-term combined organic-inorganic fertilization on the soil microbial community structure and its dominated SOC decomposition*. In: Journal of Environmental Management, 303, 114155. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114155>
3. Li, Y.; Wang, C.; Wang, T.; Liu, Y.; Jia, S.; Gao, Y.; Liu, S. *Effects of different fertilizer treatments on rhizosphere soil microbiome composition and functions*. In: Land, 9(9), 329 <https://doi.org/10.3390/land9090329>
4. Park, Y.; Liu, Q.; Maeng, S.; Choi, W. J.; Chang, Y.; & Im, W. T. (2022). *Nocardioides panacis sp. nov., isolated from soil of a ginseng field*. In: International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 72(6), 005400. <http://dx.doi.org/10.1099/ijsem.0.005400>
5. Pascual, J.; Wüst, P. K.; Geppert, A.; Foesel, B.U.; Huber, K.J.; Overmann, J. *Novel isolates double the number of chemotrophic species and allow the first description of higher taxa in Acidobacteria subdivision 4*. In: Systematic and applied microbiology, 2015, 38(8), pp. 534-544. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2015.08.001>
6. Peltoniemi, K.; Velmalala, S.; Fritze, H.; Jyske, T.; Rasi, S.; Pennanen, T. *Impacts of coniferous bark-derived organic soil amendments on microbial communities in arable soil—a microcosm study*. In: FEMS Microbiology Ecology, 2023, 99(3), fiad012. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiad012>
7. Qian, W.A.N.G.; Shuxia, J. I. A.; Liang, A.; Xuewen, C.H.E.N., Zhang, S.; Zhang, Y.; Huang, D. (2023). *Residue Return Effects Outweigh Tillage Effects on Soil Microbial Communities and Functional Genes in Black Soil of Northeast China*. In: Chinese Geographical Science, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s11769-023-1335-3>
8. Venter, Z. S., Jacobs, K., Hawkins, H. J. *The impact of crop rotation on soil microbial diversity: A meta-analysis*. In: Pedobiologia, 2016, 59(4), pp. 215-223. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.pedobi.2016.04.001>
9. Wagg, C.; Hautier, Y.; Pellkofer, S.; Banerjee, S.; Schmid, B.; van der Heijden, M.G.A. *Diversity and asynchrony in soil microbial communities stabilizes ecosystem functioning*. In: eLife, 2021, 10, e62813, pp.1-19 <https://doi.org/10.7554%2FeLife.62813>
10. Zhao, F.; Zhang, Y.; Dong, W.; Zhang, Y.; Zhang, G; Sun, Z.; Yang, L. *Vermicompost can suppress Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici via generation of beneficial bacteria in a long-term tomato monoculture soil*. In: Plant and Soil, 440, 491-505. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04104-y>
11. Zhelezova, A.; Chernov, T.; Nikitin, D.; Tkhakakhova, A.; Ksenofontova, N.; Zverev, A.; Semenov, M. *Seasonal dynamics of soil bacterial community under long-term abandoned cropland in boreal climate*. Agronomy, 2022, 12(2), 519. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020519>