

BACTERIILE GENULUI *SPHINGOMONAS* – TAXONI CHEIE ÎN MICROBIOMUL SOLULUI AGRICOL

SPHINGOMONAS GENUS BACTERIA – KEYSTONE TAXA IN THE AGRICULTURAL SOIL MICROBIOME

Laurenția ARTIOMOV, ORCID: 0000-0002-4478-4375
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al UTM,
Republica Moldova

CZU: 631.461

e-mail: laurenția.artiomov@imb.utm.md

The paper presents the result of the research of the the typical chernozem microbiome of. The aim of the work was to identify the key taxa of the most abundant phylum - Proteobacteria. Characterization of the compositional diversity of the soil microbiome from the “Biotron” Experimental Station of the Academy of Sciences of Moldova was achieved by the 16S rRNA amplicon sequencing (Scientific Center “Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology” of FSBSI ARRIAM, St. Petersburg, Russia). For the interpretation of the results, a bibliographic study was carried out. It was found that the dominant genera of Proteobacteria were Sphingomonas, Microvirga, Skermanella. Among these, the genus Sphingomonas had the highest relative abundance: 1.23-6.58% in cultivated agricultural soil and can be considered a keystone taxa. Deeper knowledge of the ecological distribution and diversity of Sphingomonas bacteria in soil may provide new insights to explore its agricultural potential in promoting plant growth, remediating polluted soils, mitigating abiotic stress.

Keywords: *Sphingomonas* genus, chernozem microbiome, keystone taxa.

Cuvinte-cheie: genul *Sphingomonas*, microbiomul cernoziomului, taxoni cheie.

Introducere. Taxonul cu importanță comunitară neobișnuit de mare este considerat taxon cheie. Impactul taxonului cheie se realizează fie prin abundența mare, fie prin prezență. *Taxonii cheie* din comunitățile ecologice sunt taxoni autohtoni care joacă un rol deosebit de important în funcționarea și stabilitatea ecosistemului [1, p. 7] și este foarte importantă identificarea acestora.

Filumul *Proteobacteria* include o diversitate morfologică, fiziologică și metabolică enormă de bacterii. Reprezentanții săi au o importanță deosebită pentru ciclul global al carbonului, azotului și sulfului. Genul *Sphingomonas*, clasificat în familia *Sphingomonadaceae*, ordinul *Sphingomonadales*, clasa *Alphaproteobacteria*, filumul *Proteobacteria*, este larg răspândit în sol și rizosfera plantelor și este considerat taxon cheie pentru solul agricol. La momentul redactării acestui articol, genul *Sphingomonas* cuprinde în total 217 specii, dintre care 158 cu denumiri valide publicate (<https://www.bacterio.net/genus/sphingomonas>)

Speciile aparținând genului *Sphingomonas* posedă funcții diverse, de la remedierea contaminărilor mediului până la producerea de fitohormoni extrem de beneficii pentru

creșterea plantelor. Studii recente au demonstrat și implicarea speciilor genului *Sphingomonas* în degradarea compușilor organometalici. Cu toate acestea, potențialul biotehologic real al acestui gen necesită o evaluare suplimentară. S-a observat, de asemenea, că unele dintre speciile din gen îmbunătățesc creșterea plantelor în condiții de stres abiotic, cum ar fi seceta, salinitatea, metalele grele din solul agricol, etc. Acest rol a fost atribuit potențialului lor de a produce hormoni de creștere a plantelor, de exemplu, gibereline și acid indol acetic [2, p. 138].

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*.

Rezultate și discuții. Comunitatea microbială a cernoziomului Stației Experimentale „Biotron” a fost dominată de filumul *Proteobacteria*, cu o abundență care a variat între 14-34%. Cea mai mare abundență a proteobacteriilor s-a determinat în solul agricol cu fertilizare minerală și organică, iar cea mai mică abundență relativă a fost înregistrată în solul necultivat al fâșiei forestiere. Genurile dominante de *Proteobacteria* au fost *Sphingomonas*, *Microvirga*, *Skermanella*. Genul *Sphingomonas* a avut cea mai mare abundență relativă în solul agricol cultivat: 1,23-6,58%. În solul necultivat al fâșiei forestiere abundența reprezentanților *Sphingomonas* a fost mult mai joasă: 0,23% - 0,95%. Rolul genului *Sphingomonas* a fost reflectat în multe publicații științifice, ce reflectă rezultatele studierii microbiomilor diferitor tipuri de soluri.

Rolul bacteriilor Sphingomonas în decontaminarea solurilor de poluanți

Degradarea solului în zonele cu sol negru amenință serios aprovizionarea cu alimente și ecosistemele naturale ale diverselor țări. Ca cheie pentru refacerea solurilor degradate, este crucial să se determine modificările microbiotei solului în aceste tipuri de soluri. Yang, J. și colaboratorii [3, p. 1]. studiază reacția microbiomului la degradarea solurilor negre (cernoziomuri) și constată că genul *Sphingomonas* este afectat semnificativ de degradarea solului și poate fi considerat biomarker al degradării ușoare în zonele cu sol negru.

Anterior Abulaizi, M. et al. [4, p.12] au studiat reacțiile comunităților bacteriene la diferite grade de degradare a solului zonei umede alpine aride Bayinbuluk prin secvențierea cu randament înalt a genei ARNr 16S. Autorii au constatat că *Sphingomonas* (clasa: *Alphaproteobacteria*) a fost cel mai abundent biomarker în solurile cu un

nivel înalt de degradare. Conținutul bacteriilor genului *Sphingomonas* a crescut semnificativ odată cu creșterea degradării. Cercetătorii sugerează că *Sphingomonas* ar putea fi folosit ca potențial biomarker al zonelor umede alpine degradate. *Sphingomonas* poate supraviețui în medii extreme, deoarece bacteriile acestui gen au un mecanism special de reglare metabolică pentru a se adapta la mediul schimbător (în special mediul cu deficit de nutrienți) și își poate ajusta eficient propria creștere pentru a rezista multor schimbări negative ale mediului [5, p. 431].

Li, H., et al. [6, 2022, p. 14] au constatat că îngrășământul microbial Special 8™, alcătuit în principal din tulpinile bacteriene benefice de *Pseudomonas*, *Arthrobacter* și *Lactobacillus*, precum și din alte 19 bacterii benefice a indus o acumulare semnificativă de *Sphingomonas* în solul terenurilor cultivate cu crin dulce de China (*Lilium davidii* var. unicolor). *Sphingomonas* este o bacterie antagonistă importantă a fungilor fitopatogeni. Autorii consideră că filumul bacterian *Proteobacteria* și genul său *Sphingomonas* sunt indicatori ai sănătății solului în sistemul de replantare a crinului și sunt implicați în refacerea și promovarea sănătății solului afectat de fumigarea chimică.

Practicile agricole durabile, cum ar fi culturile intercalate duc la creșterea abundenței microorganismelor benefice ale solului, inclusiv a genului *Sphingomonas*, care pot promova creșterea plantelor și protecția lor de agenții patogeni [7, p.11]. Mulți membri ai genurilor *Sphingomonas* posedă abilități unice în degradarea poluanților organici refractari [8 , p. 251; 9, p. 303,].

Genul *Sphingomonas* este printre taxoni identificați care contribuie la biotransformarea hexabromociclododecanilor (HBCD) [10, p. 9]. HBCD sunt poluanți organici prevalenți și persistenti (POP) la nivel global, enumerați de către Convenția de la Stockholm din 2013. Din cauza caracteristicilor bioacumulative, hexabromociclododecanii reprezintă o problemă urgentă de sănătate publică. Bacteriile *Sphingomonas* sunt capabile să descompună diverse pesticide toxice. Li, J. și colaboratorii [11, p. 14] au constatat o creștere a abundenței bacteriilor genului *Sphingomonas* în solurile fumegate cu insecticidul cloropicrină, acest fenomen fiind asociat cu implicarea acestor bacterii în biodegradarea cloropicrinei.

Numeroase tulpini de *Sphingomonas* au fost izolate din medii contaminate cu compuși toxici, unde prezintă capacitatea de a utiliza contaminanții ca nutrienți. Datorită capacității lor de biodegradare, tulpinile de *Sphingomonas* au fost utilizate pentru o gamă largă de aplicații biotehnologice, precum și pentru bioremedierea contaminanților de mediu. Rezultatele recente ale lui Zhou M. și colaboratorilor [12, p. 6] au demonstrat că *Sphingomonas sp.* integrează o gamă largă de căi metabolice aromatice, care ajuta bacteriile să se adapteze la habitatul dur și să metabolizeze compușii aromatici policiclici (HAP) și diverse substraturi, cum ar fi stirenul și atrazina și să mențină avantajul de nișă. Aceste rezultate au permis înțelegerea rolului microorganismelor care cu funcții ecologice cheie în siturile contaminate cu hidrocarburi aromatice policiclice, au ilustrat contribuția importantă și marele potențial al *Sphingomonas* în degradarea HAP și au valoare de referință pentru restaurarea zonelor contaminate cu HAP.

Rolul bacteriilor genului Sphingomonas în promovarea creșterii plantelor și atenuarea stresului abiotic

Numeroase cercetări au demonstrat că anumite tulpini de *Sphingomonas* au capacitatea de a promova creșterea plantelor [13, p.6] și de a atenua stresul abiotic [14, 2014, p.8; 15, p, 388; 16, p. 15]. Studii recente au detaliat rolul speciilor *Sphingomonas* în promovarea creșterii plantelor prin producerea de fitohormoni și creșterea toleranței la stres. *S. paucimobilis* ZJSH1 produce fitohormoni precum acid indolil acetic (IAA), acid salicilic, zeatină, acid abscisic și ajută la fixarea azotului. Bacteriile *Sphingomonas sp. LK11*, izolate din frunzele plantei medicinale *Tephrosia apollinea*, ce crește în zone aride, produce auxine și gibereline și crește la plantele de tomate toleranța la stresul cauzat de salinitate și cadmiu (17, p.123). Analiza genomică a *Sphingomonas sp. LK11* a dezvăluit, de asemenea, gene pentru producția de peroxid de hidrogen care îmbunătățesc creșterea plantelor, germinarea semințelor și colonizarea rădăcinilor, gene pentru absorbția fosfatului, stresul osmotic și stresul cauzat de poluarea cu metale grele. Analiza genomică a *Sphingomonas panacis* DCY99T izolat din rădăcinile de *Panax ginseng* a identificat gene responsabile pentru degradarea compușilor fenolici, producerea de IAA, solubilizarea fosfatului, toleranța la stresul indus de metale grele [18, p.14].

Zhou Y. și coautorii [19, p.7] menționează că plantele sunt determinanții cheie care modelează în mod diferențiat structura și funcționarea comunității microbiene din sol (CMS). În experimentul cercetătorilor abundența bacteriilor *Sphingomonas* și *Sphingobium* a fost mai mare în solurile cultivate cu *Paspalum notatum* (graminee) în comparație cu solurile pe care se cultiva *Stylosanthes guianensis* (SG) (plantă leguminoasă). Anterior alți cercetători [20, p. 1228; 21, p. 6552] au susținut că *Sphingomonadales* sunt specifice monocotiledonelor (grâu și porumb) care au demonstrat capacitatea de a utiliza exsudatele proaspete ale rădăcinilor plantelor gazdă. Borowik A. și colaboratorii [22, p.13], de asemenea, au identificat genul *Sphingomonas* printre genurile dominante în solul cultivat cu porumb. Abundența relativă a bacteriilor acestui gen s-a diminuat la aplicarea insecticidului permetrină.

Bacteriile *Sphingomonas* din rizosfera plantelor de porumb au fost și în atenția cercetătorilor Wang F. et al. [23, p. 12] care au demonstrat că *Sphingomonas sp. Hbc-6* modifică metabolismul fiziologic și recrutează bacterii benefice din rizosferă care îmbunătățesc creșterea plantelor și toleranța la secetă. În urma cercetărilor s-a descoperit că *Sphingomonas sp. Hbc-6* a crescut biomasa porumbului în condiții normale și stres de secetă. De exemplu, greutatea rădăcinii proaspete și greutatea lăstarilor uscați a porumbului inoculat au crescut cu 39,1% și, respectiv, 34,8%, comparativ cu planta neinoculată, în timp ce au crescut cu 61,3% și, respectiv, 96,3% în condiții de secetă. Inocularea cu această tulpină de *Sphingomonas*, a stimulat, de asemenea, germinarea semințelor, a menținut morfologia stomatelor și a crescut conținutul de clorofilă, astfel s-a îmbunătățit fotosinteza plantelor. Aceste efecte s-au asigurat prin creșterea activităților enzimelor antioxidante (catalază, superoxid peroxidază), acumularea substanțelor de osmoreglare (prolină, zahăr solubil) și sporirea conținutului metaboliților benefici (resveratrol, etc.). Descoperirile recente pun

bazele pentru explorarea mecanismelor complexe de interacțiuni dintre *Sphingomonas* și plante și este important că *Sphingomonas sp. Hbc-6* poate fi folosit ca un potențial biofertilizant în producția agricolă, ceea ce va ajuta la găsirea de noi soluții pentru îmbunătățirea creșterii și a randamentului culturilor în zonele aride. Bacteriile *Sphingomonas sp. LK11* au crescut toleranța la secetă a plantelor de soia inoculate prin producția crescută de zaharuri și aminoacizi (glicină, glutamat și prolină) [24, p 7389].

CONCLUZII

Genul *Sphingomonas* este cel mai abundent gen din filumul *Proteobacteria* are importanță deosebit de mare în cernoziomul tipic cultivat și poate fi considerat taxon cheie.

Majoritatea speciilor de *Sphingomonas* posedă capacitatea de a degrada o varietate de compuși aromatici și poluanți industriali, contribuind astfel în mod semnificativ la remedierea mediului și la producția industrială.

Unele tulpini de *Sphingomonas* pot fi utilizate în calitate de biofertilizanți care stimulează direct creșterea plantelor, dar și induc acumularea altor bacterii benefice în rizosfera plantelor cultivate.

Cunoștințele mai ample despre distribuția ecologică și diversitatea bacteriilor genului *Sphingomonas* asociate cu plantele pot oferi noi perspective pentru a explora potențialul său agricol pentru promovează creșterea plantelor, remedierea solurilor poluate, atenuarea stresului abiotic.

Bibliografie:

1. Amit, G., Bashan, A. Top-down identification of keystone taxa in the microbiome. In: *Nature Communications*. 2023. Vol. 14(1), art. 3951. <https://www.nature.com/articles/s41467-023-39459-5>
2. Asaf, S., Numan, M., Khan, A. L., Al-Harrasi, A. *Sphingomonas*: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth. In: *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020. vol.40(2), p.138-152. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1709793>
3. Yang, J., He, J., Jia, L., Gu, H. Integrating metagenomics and metabolomics to study the response of microbiota in black soil degradation. In: *Science of The Total Environment*, 2023. vol. 899, art. 165486. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4448842>
4. Abulaizi, M., Chen, M., Yang, Z., Hu, Y., Zhu, X., Jia, H. Response of soil bacterial community to alpine wetland degradation in arid Central Asia. In: *Frontiers in Plant Science*, 2023, vol. 13, art. 990597.
5. Hu, J. Progress in research of *Sphingomonas*. In: *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*. 2007. Vol. 13(3), p.431-437. <https://doi.org/10.3321/j.issn:1006-687X.2007.03.030>

6. Li, H., Yang, H., Calderón-Urrea, A., Li, Y., Zhang, L., Yu, Y., Shi, G. Microbial Fertilization Improves Soil Health When Compared to Chemical Fumigation in Sweet Lily. In: *Journal of Fungi*, 2022. Vol. 8(8), art. 847. <https://doi.org/10.3390/jof8080847>
7. Cuartero, J., Pascual, J. A., Vivo, J. M., Özbolat, O., Sánchez-Navarro, V., Weiss, J., ... Ros, M. Melon/cowpea intercropping pattern influenced the N and C soil cycling and the abundance of soil rare bacterial taxa. In: *Frontiers in Microbiology*, 2022. vol. 13, Art. 1004593. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1004593>
8. Leung, K. T., Chang, Y. J., Gan, Y. D., Peacock, A., Macnaughton, S. J., Stephen, J. R., White, D. C. Detection of *Sphingomonas* spp in soil by PCR and sphingolipid biomarker analysis. In: *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1999. vol. 23(4-5), p. 252-260. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900677>
9. White, D. C., Sutton, S. D., & Ringelberg, D. B. The genus *Sphingomonas*: physiology and ecology. In: *Current Opinion in Biotechnology*. 1996, vol. 7(3), p. 301-306. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(96\)80034-6](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(96)80034-6)
10. Li*, Y. J., Chuang, C. H., Cheng, W. C., Chen, S. H., Chen, W. L., Lin, Y. J., . Shih, Y. H. A metagenomics study of hexabromocyclododecane degradation with a soil microbial community. In: *Journal of Hazardous Materials*, 2022, vol.430, art. 128465. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128465>
11. Li, J., Huang, B., Wang, Q., Li, Y., Fang, W., Yan, D., Cao, A. Effect of fumigation with chloropicrin on soil bacterial communities and genes encoding key enzymes involved in nitrogen cycling. In: *Environmental pollution*. 2017. vol. 227, p. 534-542. <http://dx.doi.org/10.1016%2Fj.envpol.2017.03.076>
12. Zhou, M., Liu, Z., Wang, J., Zhao, Y., Hu, B. *Sphingomonas* relies on chemotaxis to degrade polycyclic aromatic hydrocarbons and maintain dominance in coking sites. In: *Microorganisms*. 2022. vol.10(6), art.1109. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10061109>
13. Sukweenadhi, J., Kim, Y. J., Kang, C. H., Farh Mel, A., Nguyen, N. L., Hoang, V.A., et al. *Sphingomonas panaciterrae* sp. nov., a plant growth-promoting bacterium isolated from soil of a ginseng field. In: *Arch. Microbiol.* 2015, vol.197, 973–981. <http://dx.doi.org/10.1007/s00203-015-1134-z>
14. Chen, B., Shen, J., Zhang, X., Pan, F., Yang, X., and Feng, Y. The endophytic bacterium, *Sphingomonas* SaMR12, improves the potential for zinc phytoremediation by its host, *Sedum alfredii*. In: *PloS One*. 2014. vol. 9, art. e106826. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106826>
15. Asaf, S., Khan, A. L., Khan, M. A., Al-Harrasi, A., and Lee, I. J. Complete genome sequencing and analysis of endophytic *Sphingomonas* sp LK11 and its potential in plant growth. In: *Biotech*. 2018.vol. 8, art. 389. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1403-z>
16. Luo, Y., Wang, F., Huang, Y. L., Zhou, M., Gao, J. L., Yan, T. Z., et al. *Sphingo-*

- monas sp. Cra20* increases plant growth rate and alters rhizosphere microbial community structure of *Arabidopsis thaliana* under drought stress. In: *Front. Microbiol.* 2019.
- vol. 10. art.1221. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01221>
17. Halo BA, Khan AL, Waqas M, Al-Harrasi A, Hussain J, Ali L, Adnan M, Lee IJ. Endophytic bacteria (*Sphingomonas sp. LK11*) and gibberellin can improve *Solanum lycopersicum* growth and oxidative stress under salinity. In: *J Plant Interactions.* 2015, vol. 10, p. 117–125. <https://doi.org/10.1080/17429145.2015.1033659>.
18. Kim Y-J, Park JY, Balusamy SR, Huo Y, Nong LK, Thi Le H, Yang DC, Kim D. Comprehensive genome analysis on the novel species *Sphingomonas panacis DCY99T* reveals insights into iron tolerance of ginseng. In: *Int. J. Mol. Sci.* 2020. vol, 21, art.2019. <https://doi.org/10.3390/ijms21062019>.
19. Zhou, Y., Zhu, H., Fu, S., Yao, Q. Metagenomic evidence of stronger effect of stylo (legume) than bahiagrass (grass) on taxonomic and functional profiles of the soil microbial community. In: *Scientific Reports.* 2017. Vol. 7(1), art. 10195. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10613-6>
20. Haichar, F. E. Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, et al. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. In: *The ISME journal.*, 2008. vol. 2(12), p. 1221-1230. <https://hal.inrae.fr/hal-02667867>
21. Peiffer, J, Spor, A., Koren, O., et. al. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions. In: *Proc Natl. Acad. Sci. U S A.* 2013. vol. 110(16), p. 6548-6553. <https://doi.org/10.1073/pnas.1302837110>
22. Borowik, A., Wyzkowska, J., Zaborowska, M., Kucharski, J. Microbial Diversity and Enzyme Activity as Indicators of Permethrin-Exposed Soil Health. In: *Molecules.* 2023. vol. 28(12), art. 4756. <https://doi.org/10.3390/molecules28124756>
23. Wang, F., Wei, Y., Yan, T., Wang, C., Chao, Y., Jia, M., Sheng, H. *Sphingomonas sp. Hbc-6* alters physiological metabolism and recruits beneficial rhizosphere bacteria to improve plant growth and drought tolerance. In: *Frontiers in Plant Science.* 2022. vol. 13, art. 1002772. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1002772>
24. Ullah, A., Nisar, M., Ali, H., Hazrat, A., Hayat, K., Keerio, A. A., Yang, X. Drought tolerance improvement in plants: an endophytic bacterial approach. In: *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2019. vol. 103, p. 7385-7397. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10045-4>

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)».