

**ABUNDENȚA ȘI DIVERSITATEA PROCARIOTELOR
CERNOZIOMULUI TIPIC DIN REPUBLICA MOLDOVA***

Frunze Nina, *doctor habilitat în științe agricole, conferențiar cercetător, Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, UTM.*

The study of the abundance and genetic diversity of the prokaryotes of the typical chernozem, using the PCR (polymerase chain reaction) molecular method of sequencing the 16S rRNA gene, was carried out for the first time in Moldova. According to the nucleotide analysis, it was found that the group of studied microorganisms is characterized by a high genetic heterogeneity, the spectrum of which is made up of 15 phyla. Most of them (14) belonged to the *Bacteria* domain: *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobiota*, *Bacteria phylum NA*, *Acidobacteriota*, *Planctomycetota*, *Myxococcota*, *Nitrospirota*, *Gemmatimonadota*, *Patescibacteria*, *Fibrobacterota*, *Chloroflexi*. *Thaumarchaeota* – belonged to the domain *Archaea*. Analysis of phyls by individual „significance” of frequency of occurrence revealed that the same composition of prokaryotes obscures their hierarchically distinctive role in the community. The overall Channon diversity index, ranging from 1.729 to 1.800, characterized the studied microbial communities as having relatively low diversity.

Key words: *typical chernozem, metagenome, 16S rRNA gene, pyrosequencing, abundance, biodiversity.*

INTRODUCERE

Procariotele, ai căror reprezentanți includ două domenii – *Bacteria* și *Archaea*, sunt „unitatea elementară și baza universală a vieții” (Zavarzin, 2004). Aproximativ 5% din numărul total de procariote de pe Pământ, estimat la 10^{28} - 10^{30} organisme, este concentrat în sol (Caporaso et al., 2010), caracterizându-l ca fiind cel mai mare rezervor de diversitate microbiană de pe Pământ. Majoritatea dintre ele aparțin bacteriilor, în timp ce arheile reprezintă de la 0,5 până la 3,8% din numărul total al tuturor procariotelor, care locuiesc în solurile aerobe din zona climatică temperată. Cu toate acestea, nivelul ridicat de diversitate genetică a microcosmosului solului în totalitatea sa a fost necunoscut timp de mulți ani [1, 12]. Doar apariția unor noi metode de ecologie moleculară a microorganismelor a relevat faptul că doar o parte nesemnificativă din diversitatea speciilor microbiotei solului a fost caracterizată prin izolarea culturilor de microorganisme, în timp ce majoritatea sunt necultivabile și rămân a fi necunoscute [13]. Conform datelor recente, din cauza că circa 90–99% din comunitățile microbiene naturale reprezintă microorganisme „fantomă”, care nu sunt detectate prin metodele tradiționale de cultivare pe medii nutritive, doar aproximativ 0,1% din diversitatea microbiană totală a biosferei este cultivată în prezent [2].

La moment, gena 16S rARN este lider în domeniul metagenomicii după numărul de studii dedicate acesteia [6]. Popularitatea ridicată a ei este asociată cu universalitatea sa (este prezentă în genomul tuturor procariotelor), nivelul adecvat de conservatorism (adecvat pentru întreaga gamă de niveluri taxonomice de clasificare a procariotelor) și disponibilitatea unei colosale cantități de date despre diversitatea sa, ceea ce face ca gena să fie cea mai studiată în natură și cea mai solicitată. Mulți cercetători consideră că comunitatea microbiană este ca o „oglindă”, care reflectă caracteristicile habitatului, iar diversitatea acestuia reprezintă posibilitățile ascunse ale microcosmosului solului [9]. În legătură cu aceasta, caracterizarea metagenomică a solurilor este solicitată pentru evaluarea stabilității ecosistemelor solului sub influența factorilor naturali și antropici, iar interesul pentru astfel de studii devine în continuă creștere.

Scopul acestui studiu a fost studierea abundenței și a diversității procariotelor din cernoziomul tipic al Republicii Moldova, folosind reacția în lanț a polimerazei (RLP-cantitativă) și secvențierea de mare performanță a bibliotecilor de gene 16S rARN.

OBIECTUL ȘI METODELE DE STUDIU

Obiectul cercetării l-au constituit comunitățile microbiene ale cernoziomului tipic slab humifer din zona pedoclimatică Centrală a Moldovei. Studiile au fost efectuate pe două sisteme de utilizare a terenului: în centura forestieră și pe terenul arat al Staționarului de lungă durată „Biotron” (Chișinău). Terenurile arate, selectate pentru studiu, au fost ocupate de plantele asolamentului de culturi furajere în trei variante: 1 – fond nefertilizat (martor); 2 – fond mineral (îngrășăminte minerale); 3 – fond organic (bălegar de bovine). Etalon în evaluarea comparativă a stării microbiologice a variantelor experimentale a fost solul necultivat al centurii forestiere, situat în preajma terenului arat.

Solul parcelelor experimentale a fost cernoziomul tipic, lutos. Conținutul humusului în stratul 0-60 cm se cuprindea între 2,2 și 3,4%. Probele de sol din stratul de 0-20 cm au fost prelevate în primăvara anului 2020, caracterizat de precipitații insuficiente. Umiditatea solului în stratul arabil nu a depășit 8-10%.

Analiza metagenomică a microbiomilor din sol a fost efectuată utilizând tehnologia de secvențiere cu randament ridicat, adică „citirea” secvențelor de nucleotide ale ADN-ului [3]. Lucrarea a fost realizată cu echipamentele Centrului de Utilizare Colectivă „Tehnologii Genomice, Proteomică și Biologie Celulară” al Instituției Științifice Bugetare de Stat Federale VNIISHM, Sankt Petersburg, Federația Rusă. Indicii ecologici Channon, Simpson, Margalef și Menhinik au fost estimați după: Simpson, 1949; Odum, 1990; Megarran, 2012.

REZULTATELE INVESTIGAȚIILOR ȘI INTERPRETAREA LOR

Pirosecvențierea cu randament înalt a ADN-ului amplificat (secvențierea regiunii variabile V4 a genei 16S rARN) a relevat o abundență de procariote cuprinsă în intervalul 55,1-63,45% cu tendința de a-și reduce ponderea în seria de medii studiate: mineral (63,45%) < nefertilizat (60,50%) < natural (56,10%) < organic (55,1%). În același timp, în studiile noastre, a existat și un număr mare de microorganisme nedeterminate: 37,55-44,9% – cu cea mai mică cantitate – în solul fondului mineral și cea mai mare – în solul fondului organic. Solul fondului nefertilizat (39,5%) și natural (43,9%) a ocupat o poziție intermediară după acest indicator.

Microorganismele identificate aparțineau ambelor domenii procariote: *Bacteria* și *Archaea*, dar majoritatea au aparținut domeniului *Bacteria*. În total, în comunitățile microbiene procariote ale solului de cernoziom tipic sub cultura de triticale au fost înregistrate 15 filumuri, 14 dintre care aparțineau domeniului *Bacteria*: *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobiota*, *Bacteria phylum NA*, *Acidobacteriota*, *Planctomycetota*, *Myxococcota*, *Nitrospirota*, *Gemmatimonadota*, *Patescibacteria*, *Fibrobacterota*, *Chloroflexi* și un filum domeniului *Archaea* – *Thaumarchaeota* (Fig.). Dintre acestea, toate filumurile au fost prezente doar pe fondul mineral. *Fibrobacterota* și *Chloroflexi* au fost absente în fondul nefertilizat și natural, iar *Chloroflexi* a fost absent în fondul organic. Nu numai prezența procariotelor depindea îndeaproape de proprietățile solului studiat, dar și preferințele acestora, în același timp, explicau proprietățile solurilor, în care locuiau. De exemplu, filumul *Thaumarchaeota* a manifestat o abundență de 6,0-15,3%. Însă, cel mai puțin a fost reprezentat în solul fondului natural (6%). În solul fondului nefertilizat (10,4%) și mineral (13,0%), acest filum s-a clasat pe locul trei, în ciuda frecvenței diferite de apariție, în timp ce în fondul organic, atinge cea mai mare valoare a acestui indicator. Dintre bacterii, cea mai mare abundență au înregistrat reprezentanții filumului *Proteobacteria*, atingând cea mai mare valoare în fondul nefertilizat (15,7%), mineral (14,67%) și natural (15,7%), cu excepția fondului organic (10,8%), care indică de fapt fundalul, în care se creează condițiile necesare satisfacerii necesităților lor nutriționale și vitale. Printre majoritatea componentelor biomurilor procariote, erau întâlniți pe larg de asemenea și reprezentanții filumului *Actinobacteriota* (14,0-14,5%), atingând valori maxime în mediul nefertilizat și natural (14,5% fiecare) și apropiate — în mediile fertilizate (14,0-14,5%). Al treilea, cel mai reprezentativ, după cum s-a menționat deja, a fost *Thaumarchaeota*, iar al patrulea a fost *Bacteroidota*, care a înregistrat cea mai mică abundență în fondul organic (2,5%) și aproape la fel în rest (6,84-6,9%). Se știe că procariotele din filumul *Firmicutes* sunt reprezentate de bacterii capabile să descompună substanțe organice complexe sau greu accesibile. Ponderea sa în variantele studiate a constituit 1,6-4,6% din prestația totală, a cărei apariție diferă în funcție de variante: în fondul nefertilizat și cel natural - 1,6%, în fondul mineral - 4,0% și în cel organic - 4,6%. Acesta, a fost urmat de filumul *Verrucomicrobiota*, prezentând o frecvență de 1,6-3,5% cu cele mai mari rate în solul nefertilizat și natural (3,5%) și cele mai scăzute - în fondul mineral (2,3%) și organic (1,6%). Apoi, de filumul neidentificat *Bacteria NA*, cu o frecvență de apariție de 1,87-2,6%, care a avut următoarea abundență pe opțiuni: fondul nefertilizat și natural - 2,6% fiecare, fondul mineral - 1,87%, iar în cel organic - 2,2%. Filumul *Acidobacteriota* (1,40-2,54%) a fost de asemenea caracterizat printr-o reprezentare similară, binecunoscută pentru capacitatea sa de a răspunde la conținutul de macro- și microelemente din sol și pH-ul acestuia. În acest sens, se poate afirma că cea mai mare pondere a frecvenței de apariție înregistrate (2,0%) a fost observată în fondul nefertilizat și natural, 1,4% — în solul fondului organic și 2,54% - în solul fondului mineral. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că acidobacteriile au în principal o strategie de nutriție oligotrofă cu rate scăzute de creștere și par să prefere condițiile limitate de resurse datorită afinității mari pentru substrat [8].

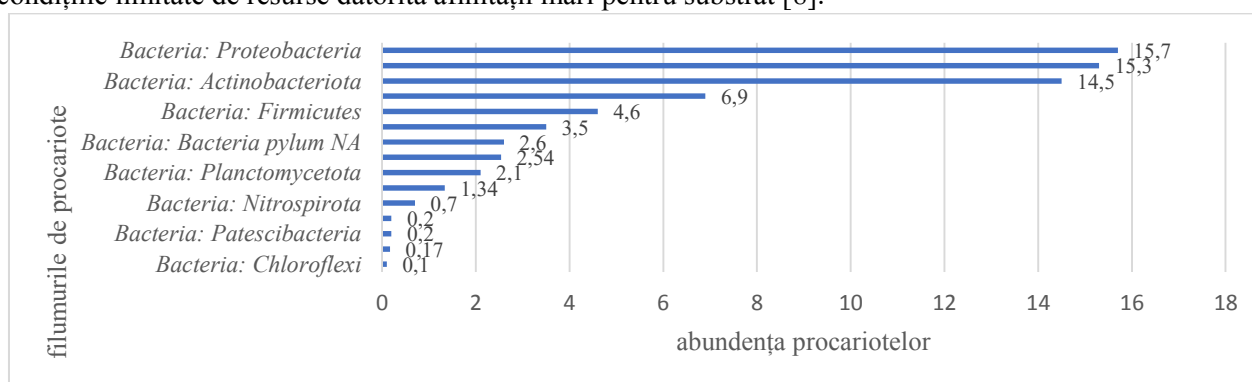


Fig. Spectrul filelor de procariote ale cernoziomului tipic și frecvența medie de apariție a lor, %.

Filumul *Planctomycetota* a fost identificat cu indicatori apropiați (1,0 - 2,1%), înregistrând cea mai mică abundență în solul fondului organic (1,0%), apoi al celui mineral (1,67%), nefertilizat și natural (câte 2,1%). Contribuția filumului *Myxococcota* în totalul pool-ului de procariote a fost de 0,90-1,34%, iar cea a filumului *Nitrospirota* a fost de 0,10-0,70%. Alte filumuri: *Patescibacteria*, *Gemmatimonadota*, *Fibrobacterota* și *Chloroflexi* au avut, cu rare excepții, o abundență de până la 0,1-0,2%. Frecvența

reprezentanților domeniului *Bacteria* (37,79-40,06%) a avut cei mai mari indicatori, în raport cu reprezentanții *Archaea* (9,28-12,2%). Astfel, toate probele de sol au diferit semnificativ în compoziția taxonomică a microorganismelor, relevând faptul că structura comunității de microorganisme din sol reflectă caracteristicile solului și poate fi folosită ca indicator al stării lor ecologice.

Clasificarea filumurilor în funcție de „semnificația” individuală a frecvenței de apariție a relevat faptul că aceeași compoziție a procariotelor tănuiește rolul lor ierarhic distinctiv în comunitate. Conform acestui indicator, toate filumurile pot fi împărțite în trei grupe, care, atât ca compoziție cantitativă, cât și calitativă, diferă în funcție de variante. Prima grupă, cu rolul ecologic dominant și o frecvență de apariție de peste 5%, a detectat cca 40,10-48,55% gene 16S rARN din numărul tuturor secvențelor și a avut cea mai mare pondere între aceste trei grupe. Ea a întrunit indivizii a patru filumuri: *Proteobacteria* (14,67-15,70%), *Thaumarchaeota* (6,0-15,2%), *Actinobacteriota* (14,0-14,5%) și *Bacteroidota* (6,84-6,9%), cu excepția fondului organic, unde arheile *Thaumarchaeota* au înregistrat cea mai mare abundență. Filumul *Proteobacteria* a fost liderul absolut, în pofida diferitelor grade de „semnificație”. Al doilea, cel mai frecvent filum în toate variantele a fost *Actinobacteriota*. Următoarele filumuri: *Bacteroidota* și *Thaumarchaeota*, diferă atât prin abundență, cât și prin raportul și rolul ierarhic în comunitate, în timp ce în solul fondului organic *Bacteroidota* și-a pierdut cu totul statutul filumului cu rol ecologic dominant în comunitate, devenind frecvent întâlnit.

A doua grupă - taxonii, întâlniți în mod obișnuit, au avut o frecvență de apariție de 1-5% și au însumat 11,8-13,72% din contribuția totală a procariotelor, ceea ce este de 3,40-3,54 ori mai puțin decât contribuția filumurilor cu rol ecologic dominant în comunitate. Aceasta a fost cea mai mare grupă de filumuri din punct de vedere numeric. Ea cuprindea șase taxoni: *Verrucomicrobiota* (1,6-3,5%), *Firmicutes* (1,6-4,6%), *Bacteria phylum NA* (1,87-2,60%), *Bacteroidota* (0,98-4,42%), *Planctomycetota* (1,67-2,10%) și *Acidobacteriota* (1,40-2,54%), care, în plină componență, au fost prezente doar pe fondul mineral. În alte variante, au fost înregistrate cinci filumuri, dar abundența lor a fost însoțită și de o compoziție și un raport calitativ distinctiv pe variante. Astfel, în solul nefertilizat și natural, compoziția și liderul filumurilor întâlnite frecvent sunt identice, deși statutul ierarhic al celorlalte filumuri era diferit. În solul fondurilor fertilizate, filumul *Firmicutes* era liderul filumurilor frecvent întâlnite, dar fondul organic s-a remarcat prin filumul *Bacteroidota*, care a pierdut statutul de filum cu rol ecologic dominant, devenind obișnuit întâlnit și prin faptul că *Planctomycetota* își pierde statutul de filum frecvent întâlnit și devine rar întâlnit, cu un rol ecologic nesemnificativ în comunitate, iar filumul *Myxococcota* devine frecvent întâlnit în fondul mineral, în comparație cu alte variante, unde era considerat rar întâlnit.

A treia grupă sau filumurile rar întâlnite, cu rol ecologic nesemnificativ în comunitate, a combinat taxoni cu o frecvență de apariție de până la 1% și a constituit 1,2-2,7% din ponderea întregului complex procariotic. Ea era constituită din patru filumuri, care au fost identificate pe fondul nefertilizat și natural: *Myxococcota* (până la 0,9%), *Nitrospirota* (până la 0,1%), *Gemmatimonadota* (până la 0,1%), *Patescibacteria* (până la 0,1%). În variantele fertilizate au fost înregistrate cinci filumuri rare, dar ele diferă ca compoziție. Acestea au fost 3 filumuri comune: *Nitrospirota* (0,54-0,70%), *Fibrobacterota* (0,10-0,17%) și *Gemmatimonadota* (0,17-0,20%). Pe fondul mineral a mai fost identificat și filumul *Patescibacteria* (0,2%), care a fost absent în fondul organic și *Chloroflexi* (0,1%), care a fost prezent doar în această variantă. În fondul organic, au mai fost înregistrate filumurile *Planctomycetota* (până la 1,0%) și *Myxococcota* (până la 0,7%), care în fondul mineral au fost considerate ca filumuri întâlnite frecvent. În consecință, taxonii cu cea mai mare contribuție ponderală au preferat condițiile solului, care au fost fertilizate pe termen lung cu substanțe minerale. Cei care au avut o contribuție ponderală medie la conținutul total de procariote au fost înregistrați în cel mai mare număr în solul nefertilizat, iar reprezentanții cu cea mai mică contribuție ponderală au fost cei identificați în solul organic. De aici rezultă că, într-un caz, condițiile de mediu sunt mai potrivite pentru activitatea vitală a unor microorganisme și mai puțin pentru altele, confirmând astfel că structura comunității de microorganisme a solului reflectă caracteristicile solului și poate fi folosită ca indicator al stării sale ecologice.

Forma curbilor de dominanță procariotă demonstrează că variantele studiate se disting prin individualitatea lor. Conform indicilor Margalef ($d_1 = 1,501-1,689$) și Menhinik ($d_2 = 0,108-0,118$), bogăția filumurilor nu s-a diferențiat mult în variantele fertilizate, dar a fost cea mai scăzută în aceste variante, scăzând de la fondul natural < nefertilizat < mineral < organic. Indicele de dominanță-diversitate Simpson („c”), înregistrând valori de la 0,221 la 0,290, a relevat „semnificația” dominanței corelative cu masa procariotelor

între variante. Cele mai mari valori s-au înregistrat în solul fondului organic ($c = 0,290$), ceea ce înseamnă – cea mai mică diversitate, crescând de la fondul nefertilizat la cel mineral, apoi la cel natural și organic. Indicele de diversitate generală Channon a arătat rezultate similare cu indicele Simpson. Variind de la 1,729 la 1,800, a caracterizat comunitățile microbiene studiate ca având o diversitate relativ scăzută.

Așadar, conform indicilor de dominanță-diversitate în cernoziomul tipic, sub influența factorilor antropici și fizico-chimici, a avut loc o restructurare și o redistribuire semnificativă a procariotelor. Solul Stației Experimentale de lungă durată poate fi caracterizat astfel: **fondul nefertilizat** – este o variantă cu cea mai mică valoare a indicelui Simpson „c” și care diferă de solul fondului natural printr-o creștere a statutului ierarhic al filumului arheal *Thaumarchaeota*. **Fondul mineral** – este singura variantă în care a fost înregistrat cel mai mare număr de filumuri, cea mai mare „semnificație” a filumului *Myxococcota* și *Patescibacteria*, unde a fost depistat filumul *Chloroflexi*, cu cea mai mare „semnificație” a filumului *Acidobacteriota*, *Myxococcota*, *Patescibacteria*, *Fibrobacterota*, precum și varianta, în care s-a înregistrat cea mai mică proporție a filumurilor cu frecvența obișnuită de apariție, precum și cu cea mai mică proporție de filumuri rar întâlnite, de rând cu solul fondului natural. Aici, *Myxococcota* dobândește statutul de filum frecvent întâlnit, în comparație cu alte variante, unde s-a manifestat ca fiind rar întâlnit. **Fondul organic** – este varianta cu cea mai mică proporție de filumuri dominante și cu cea mai mare proporție de filumuri rar întâlnite, unde *Bacteroidota* și-a pierdut statutul de filum cu rol ecologic dominant, devenind frecvent întâlnit. De asemenea, singura variantă cu trei filumuri dominante, unde patru erau de obicei prezente, precum și varianta, în care filumul arheean *Thaumarchaeota* conduce printre filumurile cu rol ecologic dominant, unde *Planctomycetota* își pierde statutul de obișnuit întâlnit și devine rar întâlnit. Varianta cu cea mai mare valoare a indicelui Simpson și cea mai mică valoare a indicelui Channon. **Fondul natural** – variantă cu cea mai mică proporție de filumuri întâlnite în mod obișnuit, cu cea mai mică abundență a filumului arheic dominant *Thaumarchaeota*, cu multe trăsături identice cu solul fondului nefertilizat, cu cea mai mare valoare a indicelui Channon.

Prin urmare, analiza metagenomică a cernoziomului tipic al Moldovei, reflectând diversitatea reală a comunităților procariote din sol, indică o scădere a diversității procariotelor sub influența generală pe termen lung a factorilor de mediu și antropici. Individualitatea dezvoltată a microbiomilor și diferențele stabilite în compoziția taxonomică a procariotelor se datorează mai multor motive. **În primul rând**, în ultimii ani, comunitățile microbiene din solurile Moldovei au fost supuse unui pessimism ecologic, exprimat prin secete debilitante de primăvară-vară, combinate cu umiditate insuficientă și temperaturi ridicate, iar toamna-iarna prin alternarea înghețurilor-dezgheturilor dese, însoțite de salturi bruște de temperatură. **În al doilea rând**, microorganismele în competiția lor pentru substratul nutritiv sărac al solurilor antropice și în manifestarea potențialului ridicat de adaptare la condițiile mereu schimbătoare de mediu determină amploarea funcțiilor ecologice ale cernoziomului cu conținut de humus scăzut, în care se produce o interacțiune bioinertă între părțile vii și cele nevii ale solului și, astfel, într-o perioadă îndelungată se formează o diversitate diferențiată de procariote în sol. Acest lucru ne permite să considerăm comunitățile microbiene ca o unitate funcțională, care, pe de o parte, depinde complet de condițiile habitatului și, pe de altă parte, să considerăm, că ele sunt principalul factor în formarea acestuia [9]. **În al treilea rând**, nu există nicio îndoială, că nivelul colosal al diversității genetice din comunitățile microbiene ascunde urme ale unor procese evolutive foarte vechi, care „la suprafață” scot la iveală întrebări legate de influența factorilor de mediu asupra structurii comunităților microbiene din sol, o serie de probleme, asociate cu fertilitatea solului și folosirea terenurilor agricole, în timp ce „în profunzime” există probleme asociate nu numai cu evoluția biosferei, ci și cu originea vieții pe Pământ [1].

Bibliografie:

1. Andronov, E.E.; Petrova, S.N.; Pinaev, A.G.; Pershina, E.V.; Akhmedenov, K.M. ; Gorobets, A.V. and Sergaliev N.Kh. *Analysis of the Structure of Microbial Community in Soils with Different degrees of Salinization Using T_RFLP and Real Time PCR Techniques*. In: Eurasian Soil Science. 2012, Vol. 45, No. 2, pp. 147–156. [https://doi: 10.1134/S1064229312020044](https://doi.org/10.1134/S1064229312020044).
2. Aslam, Z. *Too much bacteria still unculturable* / Z. Aslam, M. Yasir, A. Khaliq, K. Matsui, Y. R. Chung In: Crop & Environment. - 2010. - V. 1. - P. 59–60.
3. Bates, S.T.; Berg-Lyons, D.; Caporaso, J.G.; Walters, W.A.; Knight, R.; Fierer, N., 2011. Examining the global distribution of dominant archaeal populations in soil. ISME J. 5:

908–917. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.171>.

4. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014 Aug 1:30 (15): 2114-20.

5. Caporaso, J.G.; Kuczynski, J., Stombaugh, J. et al. *Correspondence QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing*. In: Nature Publishing Group. 2010.7 (5) : 335-336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>.

6. Chernov, T.I.; Lebedeva, M.P.; Tkhakakhova, A.K.; Kutovaya, O.V., 2017. *Profile analysis of microbiomes in soils of solonetz complex in the Caspian Lowland*. *Eurasian Soil Sci*. 50:64–69. <https://doi.org/10.1134/S1064229317010045>.

7. Ivanova, E.A.; Kutovaya, O.V.; Tkhakakhova, A.K.; Chernov, T.I.; Pershina, E.V.; Markina, L.G.; Andronov, E.E.; Kogut, B.M. 2015. *The structure of microbial community in aggregates of a typical chernozem aggregates under contrasting variants of its agricultural use*. In: *Eurasian Soil Sci*. 48:1242–1256. <https://doi.org/10.1134/S1064229315110083>.

8. Ivanova, A.A.; Zhelezova, A.D.; Chernov, T.I.; Dedysh, S.N. 2020. *Linking ecology and systematics of Acidobacteria: distinct habitat preferences of the Acidobacteria and Blastocatellia in tundra soils*. *PLOS ONE* 15: e0230157. <https://doi:10.1371/journal.pone.0230157>.

9. Kutovaya, O.V.; Lebedeva, M.P.; Tkhakakhova, A.K.; Ivanova, E.A.; Andronov, E.E. *Metagenomic Characterization of Biodiversity in the Extremely Arid Desert Soils of Kazakhstan*. In: *Eurasian Soil Science*, 2015, Vol. 48, No. 5, pp. 493–500. <https://doi:10.1134/S106422931505004X>

10. Megarran, E. *Ökologische Vielfalt und ihre Messung*. M.: Mir, 2012. - 166 p.

11. Odum, Yu. P. *Basic ecology*. M., Mir. - 328 p.

12. Pershina, E.V.; Ivanova, E.A.; Korvigo, I.O.; Chiraka, E.L.; Sergaliev, N.H.; Abakumov, E.V.; Provorov, N.A.; Andronov, E.E. 2018. *Investigation of the core microbiome in main soil types from the East European plain Science of the Total Environment* 631–632 :1421–1430. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.136>

13. Semenov, M.V.; Chernov, T.I.; Tkhakakhova, A.K. et al. 2018. *Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century*. *Appl Soil Ecol*.127:8-18. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.03.002>.

14. Simpson, E. 1949. *Measurement of Diversity*. *Nature* 163:688. <https://doi:10.1038/163688a0>.

* Lucrarea a fost realizată în cadrul Proiectului PS „Eficientizarea utilizării resurselor de sol și a diversității microbiene prin utilizarea elementelor din agricultura biologică (organică)” nr. 20.80009.5107.