

Changes in bacterial and fungal communities under extended organic and conventional management

Cambios en las comunidades bacterianas y fúngicas bajo la aplicación de un manejo orgánico y convencional prolongado en el tiempo

J. Cuartero^{1*}, M. Ros¹, J.A. Pascual¹, J.M. Vivo²

¹Centro de Edafología Aplicada del Segura (CEBAS)-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 30100 Murcia. Spain.

²Departamento de Estadística e Investigación Operativa, Universidad de Murcia, Campus Universitario de Espinardo, CMN & IMIB-Arrixaca, 30100 Murcia. Spain.

*jessica.cuartero@um.es

Abstract

In this paper, we assessed the long-term effect of agricultural management of two organic cropping systems and conventional system with the same crops history, on bacterial and fungal soil community structure through high-throughput sequencing analysis and their interaction with soil physicochemical properties and crop yield. Results showed that crop yield during the last cycle were similar among the three cropping systems. Changes in microbial community was tested in both bacterial and fungal, although diversity only varied in fungi. Our results suggest that long-term application of compost not only increased organic material and nutrient but change bacterial and fungal community structure.

Keywords: manure compost; high-throughput sequencing; microbiome.

Resumen

En este trabajo, se estudia el efecto de dos tipos de sistemas de cultivos orgánicos y uno convencional, los tres con el mismo historial de cultivos en las comunidades microbiológicas, tanto fúngicas como bacterianas, a través de la secuenciación de alto rendimiento y, además, su interacción con las propiedades del suelo y la producción. Los resultados mostraron que durante el último ciclo la cosecha la producción fue similar entre los tres sistemas de cultivo. Ocurrieron cambios en las comunidades microbianas, tanto en hongos, como en bacterias, aunque la diversidad solo se vio afectada en hongos. Nuestros resultados sugieren que la aplicación de compost no solo incrementa la materia orgánica y los nutrientes, sino que también produce cambios en la estructura bacteriana y fúngica.

Palabras clave: compost de estiércol; secuenciación; microbioma.

1. INTRODUCCIÓN

A día de hoy, los suelos de todo el mundo se encuentran moderada o altamente degradados (1), esta degradación, viene favorecida por la utilización de fertilizantes sintéticos, pesticidas, herbicidas en los sistemas de cultivos convencionales (2), lo que ha generado que la producción se vea afectada, que se produzca un incremento en los gases de efecto invernadero y, además de la degradación del suelo, que se produzca la pérdida de biodiversidad (3,4). Debido a esto, ha aumentado el interés por otros tipos de sistemas de cultivo, como el orgánico. El cultivo orgánico es definido por la comisión europea como “aquella que se basa en un sistema sostenible que

respeto el medio ambiente y el bienestar animal, pero también incluye todas las demás etapas de la cadena de suministro de alimentos (suministro de materias primas, procesamiento, almacenamiento, transporte, distribución y servicios minoristas)". Con este tipo de manejo, se incluyen el uso de fertilizantes respetuosos, como el estiércol o el compost.

Los microorganismos del suelo, son fundamentales para muchos de los procesos biogeoquímicos que ocurren en el suelo, como el ciclo del carbono, la descomposición o la propia formación de los agregados del suelo (5). Los enfoques recientes como la secuenciación a nivel bacteriano y fúngico pueden mostrar cambios taxonómicos que dan forma a patrones de interacciones ecológicas que regulan la estructura, función y resistencia de las comunidades microbianas del suelo bajo agricultura orgánica en comparación con la agricultura convencional. En general, se ha reportado que el manejo orgánico produce cambios en la comunidad microbiana debido al incremento de los nutrientes (6) y que además favorece a la diversidad. Sin embargo, es un tema muy complejo y controvertido (7,8).

El objetivo de este trabajo es el de estudiar el efecto del manejo orgánico y convencional en el suelo, tanto en las propiedades del suelo, como en las comunidades microbianas y fúngicas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Descripción del experimento

La parcela experimental, situada en Cartagena, está constituida por tres subparcelas de 2000 m² cada una. En una se realiza un manejo convencional (Inorg), en otra un manejo orgánico con la aplicación de estiércol (Org_M) y en la tercera se realiza un manejo orgánico con la aplicación de compost y té de compost (Org_C). Las parcelas experimentales llevan más de 25 años cultivándose, aunque con agricultura orgánica, llevan 15 y 8 años respectivamente. Las muestras se recogieron en el año 2018, en febrero, después de la cosecha de col (*Brassica olearacea* var. *Sabellica*), la cual se cultiva en rotación con el melón (col en invierno, melón en verano). Se recogieron un total de 5 muestras aleatorias por tratamiento.

2.2 Propiedades del suelo, secuenciación y cosecha

Distintos parámetros fisicoquímicos y biológicos fueron medidos. Nitrógeno total (TN), pH, conductividad eléctrica (EC), carbono orgánico total (TOC), cationes: Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺ y la capacidad catiónica (CEC), carbono inorgánico (IC), CaCO₃, carbono orgánico particulado (POC) o el contenido de humedad en el suelo (F_{Ma}) son algunos de ellos, aunque también se realizó la medición de ciertos patógenos como: *Fusarium Oxysporum* (FOX), *Rhizoctonia solani* (RSO) o *Alternaria* spp. (ALT). El estudio de la comunidad microbiana se realizó a través de la amplificación por PCR utilizando, para ello, la plataforma Ion Torrent en el caso de las bacterias (amplificación de las regiones V2,4,8) e Illumina en el caso de los hongos (amplificación de la región ITS). El análisis bioinformático incluyó la eliminación de ruido generado por la PCR, el filtrado de calidad en las secuencias (Q>25) y la eliminación de posibles malas asignaciones ("singletons"), las secuencias utilizadas fueron normalizadas por rarefacción. La cosecha fue calculada utilizando el peso de todas las plantas aptas para su venta por parcela (kg ha⁻¹).

2.3 Análisis estadístico

Para estudiar las diferencias en las propiedades del suelo (fisicoquímicos y biológicos) se aplicaron distintas pruebas estadísticas dependiendo de si se verificaban las condiciones de normalidad y homocedastidad previamente comprobadas: Kruskal-Wallis, Anova de una vía o test de Welch. Aquellos parámetros que resultaron significativos, se representaron a través de un ACP. Para estudiar la comunidad microbiana, tanto en hongos como bacterias, se calcularon los índices de diversidad (Shannon e inverso de Simpson) y el de riqueza (Chao1), además, para conocer la variación que se había producido a nivel microbiano, se realizó un PERMANOVA utilizando la

distancia de Bray-Curtis. Otras características de las estructuras de las comunidades microbianas de los sistemas de cultivo fueron estudiadas aplicando técnicas estadísticas multivariantes para el análisis de datos de alto rendimiento.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuestros resultados mostraron que las propiedades del suelo están influenciadas por el manejo del mismo (Fig. 1). Concretamente, el gráfico muestra cohesión entre los tratamientos orgánicos, que a su vez están separados del inorgánico. En general, se puede apreciar un incremento de TOC, TN, NH₄ y DNA en Org_C, que sugiere una mayor capacidad nutritiva y de biomasa debido a la aplicación prolongada de compost como materia orgánica estable (9). No se encontraron diferencias significativas entre los índices de diversidad a nivel de bacterias, pero sí a nivel de hongos. En este aspecto es muy difícil alcanzar un consenso entre la comunidad científica, ya que se han reportado casos donde la comunidad fúngica aumenta, pero otros en los cuales, disminuye (10–12). Se encontraron diferencias significativas en las comunidades microbianas, siendo más altas en hongos que en bacterias (Fig. 2), aunque estas se mostraron más influenciadas por las propiedades del suelo, especialmente por TOC, NH₄ y DNA, que los hongos. Además, se clasificaron algunos microorganismos como biomarcadores en Inorg, como por ejemplo las *Pseudoalteromonas*, capaces de producir metabolitos antimicrobianos (13) o *Haliangium*, en Org_C capaces de producir metabolitos antifúngicos (14), lo que nos permite conocer en mayor profundidad las interacciones entre las comunidades microbianas del suelo. No hubo diferencias significativas entre las cosechas de los distintos tratamientos.

4. CONCLUSIONES

Nuestros resultados aportan un mayor entendimiento de la interacción entre la comunidad microbiana y las propiedades del suelo, además, avalan la teoría de que no existen grandes diferencias en cuanto a la producción, posiblemente debido al aporte de nutrientes por el compost. También se confirma que la comunidad bacteriana es más sensible que la comunidad fúngica a las variaciones en las propiedades del suelo pero que la diversidad fúngica puede verse más afectada por el sistema de cultivo.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradecer a Diverfarming la participación en este proyecto, el cual está financiado por el programa H2020.

6. REFERENCIAS

1. WRB IU of SSWG. World reference base for soil resources 2014 (update 2015), international soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resour Reports, FAO, Rome. 2015;
2. Shen W, Lin X, Shi W, Min J, Gao N, Zhang H, et al. Higher rates of nitrogen fertilization decrease soil enzyme activities, microbial functional diversity and nitrification capacity in a Chinese polytunnel greenhouse vegetable land. *Plant Soil*. 2010;337(1–2):137–50.
3. Rockström J, Steffen W, Noone K, Persson Å, Chapin FS, Lambin EF, et al. A safe operating space for humanity. *Nature*. 2009;461(7263):472–5.
4. Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, et al. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. *Science* (80-). 2010;327(5967):812–8.
5. Dangi SR, Bañuelos G, Buyer JS, Hanson B, Gerik J. Microbial community biomass and structure in saline and non-saline soils associated with salt-and boron-tolerant poplar clones grown for the phytoremediation of

selenium. *Int J Phytoremediation*. 2018;20(2):129–37.

6. Chaudhry V, Rehman A, Mishra A, Chauhan PS, Nautiyal CS. Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments. *Microb Ecol*. 2012;64(2):450–60.
7. Gonthier DJ, Ennis KK, Farinas S, Hsieh H-Y, Iverson AL, Batáry P, et al. Biodiversity conservation in agriculture requires a multi-scale approach. *Proc R Soc B Biol Sci*. 2014;281(1791):20141358.
8. Reilly K, Cullen E, Lola-Luz T, Stone D, Valverde J, Gaffney M, et al. Effect of organic, conventional and mixed cultivation practices on soil microbial community structure and nematode abundance in a cultivated onion crop. *J Sci Food Agric*. 2013;93(15):3700–9.
9. Ros M, Hernandez MT, García C. Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biol Biochem*. 2003;35(3):463–9.
10. Zhou J, Jiang X, Zhou B, Zhao B, Ma M, Guan D, et al. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in northeast China. *Soil Biol Biochem*. 2016;95:135–43.
11. Zheng Y-K, Miao C-P, Chen H-H, Huang F-F, Xia Y-M, Chen Y-W, et al. Endophytic fungi harbored in *Panax notoginseng*: diversity and potential as biological control agents against host plant pathogens of root-rot disease. *J Ginseng Res*. 2017;41(3):353–60.
12. Chen W, Xu R, Chen J, Yuan X, Zhou L, Tan T, et al. Consistent responses of surface-and subsurface soil fungal diversity to N enrichment are mediated differently by acidification and plant community in a semi-arid grassland. *Soil Biol Biochem*. 2018;127:110–9.
13. Offret C, Desriac F, Le Chevalier P, Mounier J, Jégou C, Fleury Y. Spotlight on antimicrobial metabolites from the marine bacteria *Pseudoalteromonas*: chemodiversity and ecological significance. *Mar Drugs*. 2016;14(7):129.
14. Kundim BA, Itou Y, Sakagami Y, Fudou R, Izuka T, Yamanaka S, et al. New haliangicin isomers, potent antifungal metabolites produced by a marine myxobacterium. *J Antibiot (Tokyo)*. 2003;56(7):630–8.

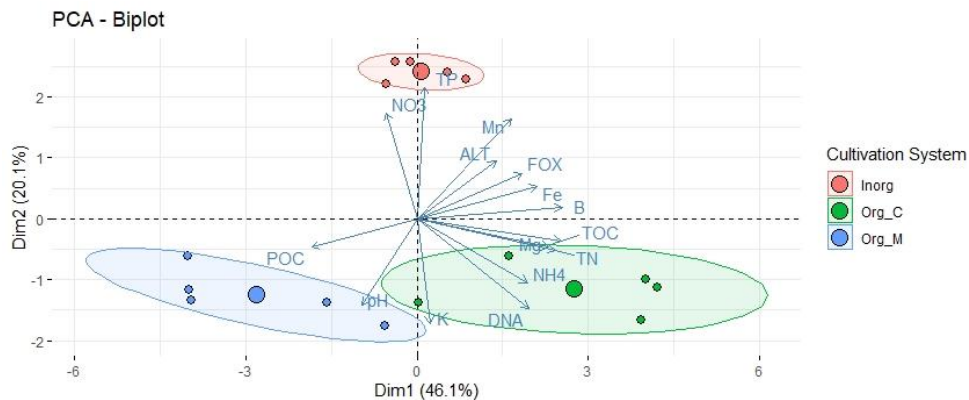


Figura 1. Biplot mostrando las propiedades del suelo que se han visto significativamente alteradas por el tipo de manejo.

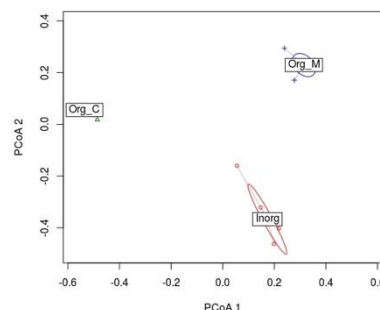


Figura 2. Principal Coordinate Analysis (PCoA) de la comunidad fúngica.