

## SMART LINK #16

# CARGA MICROBIANA Y VITALIDAD BIOLÓGICA, DOS INDICADORES GLOBALES PARA EVALUAR EL FUNCIONAMIENTO MICROBIOLÓGICO DEL SUELO

Opale Chillou\*, Vincent Renouf\*, Eduardo Leiva\*\* y Antonio Palacios\*\*;  
\*Excell France y \*\*Laboratorios Excell Ibérica, S.L. [www.excelliberica.es](http://www.excelliberica.es); C/ Planillo, 12; 26006 Logroño - La Rioja.  
Tel: 941 445106; [excelliberica@labexcell.com](mailto:excelliberica@labexcell.com)

## INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los pilares que conforman el terruño de los viñedos. Sus características condicionan la producción del vino de forma cuantitativa y cualitativa. Sin embargo, para que un suelo pueda ser utilizado de forma sostenible en el tiempo, es fundamental mantener su fertilidad, que se basa entre otras cosas, en la materia orgánica y en sus micro habitantes. Esta materia orgánica también está en constante evolución gracias a los organismos vivos que se encuentran habitando en su seno.

Por lo tanto, la vida del suelo juega un papel clave en nuestra capacidad para producir cultivos agrícolas. Sin embargo, al ser esta forma de vida en su mayor parte invisible a simple vista, ha sido descuidada por el ser humano durante mucho tiempo. Hoy en día, los principales problemas relacionados con la erosión del suelo y la pérdida de fertilidad nos empujan a comprender mejor cómo funciona para preservar su equilibrio. En el laboratorio, llevamos ya 5 años trabajando en la medición de dos parámetros que nos permitan entender mejor cómo funcionan los microorganismos del suelo y qué les afecta en su biodiversidad y comportamiento. Los últimos hallazgos arrojan luz sobre cómo utilizar estos dos indicadores mencionados en la práctica vitícola para los viticultores y enólogos.

En la actualidad y en el pasado se han utilizado varios métodos para medir el desarrollo de los microorganismos en los suelos. Estas técnicas pueden ser muy básicas o muy sofisticadas y no son necesariamente comparables entre sí. Sin embargo, el compartimento habitable del suelo se tiene cada vez más en cuenta en la elección de los itinerarios agronómicos y las especificaciones técnicas de los productos a aplicar en la viña. Por ejemplo, las últimas versiones de la certificación francesa HVE<sub>3</sub> (Haute Valeur Environnementale) requieren un análisis de la carga biológica del suelo a través de la

medición del ADN, lo que suscita pensar en la importancia de este parámetro. Esta norma aún no existe en España, pero es probable que algún día se aplique, dado la dirección que toma el pacto verde en la UE.

Fueron elegidas el ADN y el ATP porque son dos moléculas comunes a todos los organismos vivos, cuya extracción y medición son posibles a través de métodos referenciados que nos permiten realizar una medición global e indiscriminada de los microorganismos presentes en el suelo en el momento del muestreo. El ADN extraído de la muestra nos permite tener datos sobre la carga microbiana y el ATP es la molécula que transporta la energía y representa la actividad de los microorganismos, y por lo tanto, su vitalidad biológica.

### **FACTORES INFLUYENTES, MATERIALES Y MÉTODOS EMPLEADOS EN LAS MEDIDAS**

Las muestras de suelo se toman utilizando equipos de muestreo convencionales (barrena, palas pequeñas, plantadoras manuales, etc.) que han sido limpiados y desinfectados previamente. Las muestras se toman debajo del manto vegetal hasta 20/30 centímetros de profundidad. En el laboratorio se eliminan todos los elementos biológicos visibles a simple vista (plantas, insectos, lombrices de tierra, etc.).

A continuación, se mide la humedad de la tierra, luego se pone la tierra en solución de acuerdo con unas condiciones definidas según protocolos internos y se miden el ATP y el ADN con dispositivos específicamente diseñados para ello. El presente trabajo se desarrolla después de reunir cerca de 2.000 análisis, que se pudieron correlacionar con otros parámetros fisicoquímicos importantes del suelo.

#### **ADN y ATP, dos indicadores diferentes y complementarios**

Es posible encontrar cantidades muy pequeñas de ADN en los suelos y, a la inversa, algunas muestras van mucho más allá de las cantidades que normalmente se encuentran en los suelos. En la mayoría de los casos, las muestras contienen entre 3,8 y 10,8  $\mu\text{g}$  de ADN/g de suelo seco. Del mismo modo, los valores de ATP pueden ser cercanos a cero y alcanzar niveles mucho más altos, la mayoría de las muestras están entre 126 y 358 ng ATP/g de suelo seco.

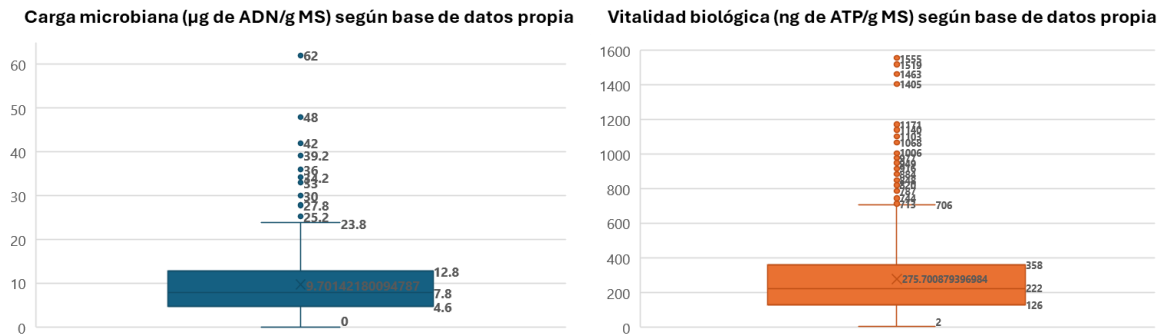


Figura 1: Representación de los datos de la base de datos de los análisis microbiológicos del suelo mediante medición de ADN y ATP durante los últimos 5 años.

La relación definida como Vitalidad Biológica/Carga Biológica nos permite saber si la actividad es importante sin ninguna condición de cantidad. Cuanto mayor sea esta proporción, más activo será el metabolismo de los microorganismos del propio suelo.

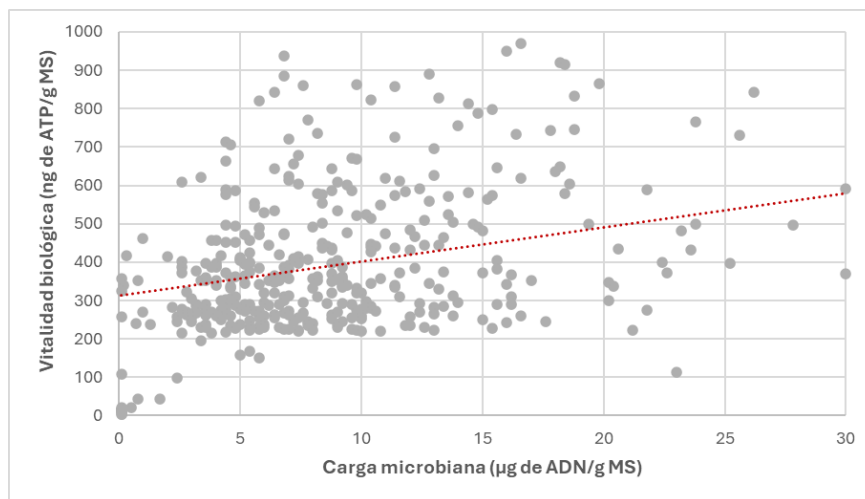


Figura 2: Diagrama de dispersión del ratio ATP/ADN.

Cuanto más ADN haya en la muestra, mayor será la vitalidad biológica, pero lo contrario no es tan cierto, lo que es consistente con el hecho de que es raro tener buena actividad con poca biomasa, pero si es posible tener mucha biomasa, pero que esta sea poco activa. Por lo tanto, las dos medidas son muy complementarias.

### Influencia del contenido en peso de agua

Para cada análisis de ADN y ATP, se mide el contenido en peso de agua de la muestra. Se puede ver que un contenido en agua demasiado bajo (5%) o demasiado alto (15%) dan resultados siempre más bajos. Esta observación refuerza la idea de que el muestreo "en su mejor potencial" debe realizarse en condiciones de cierta humedad, pero en



suelo algo seco. Sin embargo, el contenido de agua también puede reflejar el tipo de suelo, independientemente de las condiciones en las que se encuentra.

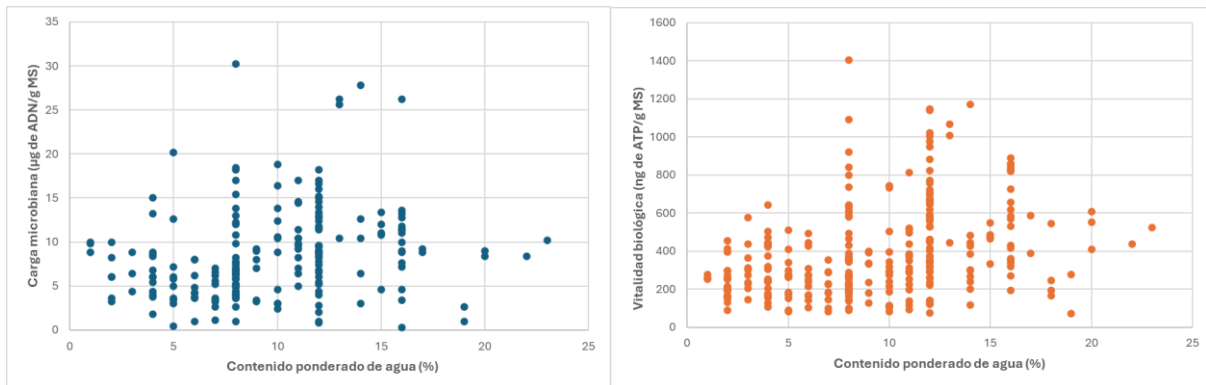


Figura 3: Gráfico que representa la carga y la vitalidad biológica según el contenido en peso de agua.

### Influencia de la profundidad

Se han llevado a cabo varios estudios en diferentes parcelas con muestras tomadas a diferentes profundidades para comprender mejor la distribución de los microorganismos en los diferentes horizontes edáficos. Se puede observar una disminución bastante rápida de los dos parámetros, como aquí se observa en 6 parcelas de una misma propiedad, lo que permite validar como representativo y suficiente el muestreo del primer horizonte para tener buena información sobre la vida del suelo. Esto puede explicarse por dos razones: las bacterias son principalmente aeróbicas, por lo que necesitan oxígeno para estar en su máximo potencial, y los microorganismos también dependen de la materia orgánica, que disminuye rápidamente con la profundidad.

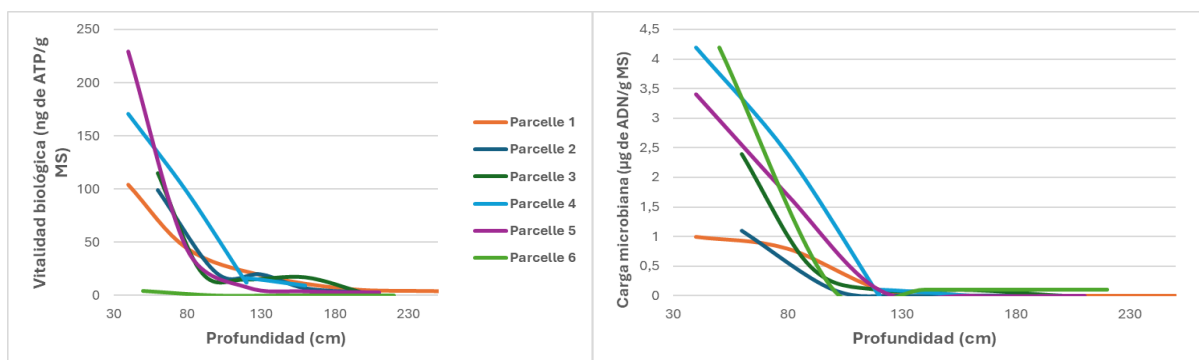


Figura 4: Curvas que representan la carga y la vitalidad biológica según la profundidad (de 0 cm a 230 cm) en 6 parcelas de la misma finca y en la misma fecha.



### Influencia de la profundidad

Si observamos varias muestras a lo largo de los años, parece que las muestras de primavera muestran los valores más altos de ADN y ATP, con la posibilidad entonces de interpretar mejor las diferencias entre parcelas. Por lo tanto, para el seguimiento plurianual, es importante llevar a cabo los análisis en el mismo período, a fin de disponer de datos comparables.

Pero también es importante comprobar que las condiciones (temperatura y humedad) sean similares, porque son las que varían la actividad de los microorganismos. En verano, se pueden realizar análisis adicionales para evaluar la reacción del suelo y los microorganismos al estrés de las altas temperaturas.

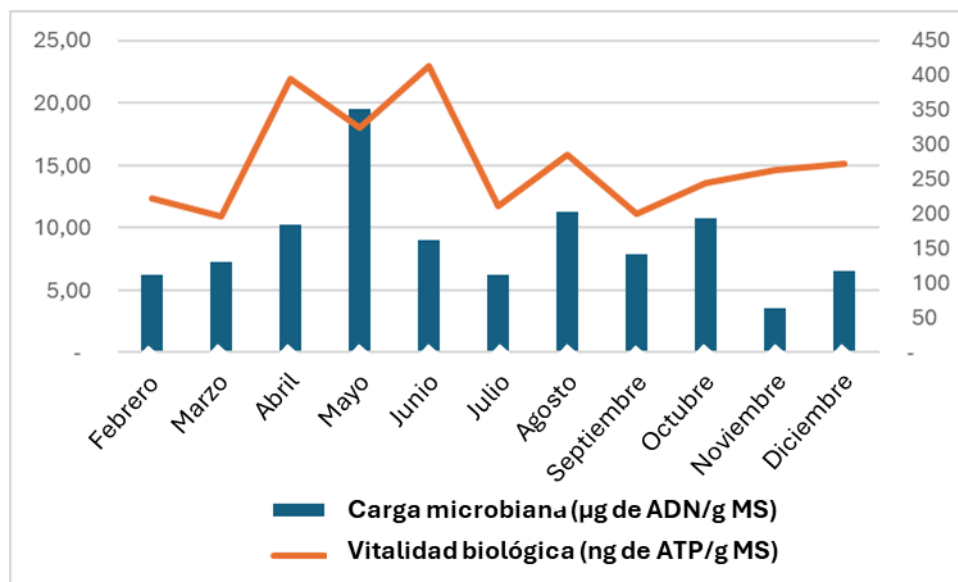


Figura 5: Gráfico combinado que representa los promedios de carga y vitalidad biológica por mes de recolección, datos recopilados en los últimos 5 años.

### ¿Qué parámetros influyen en la vida del suelo?

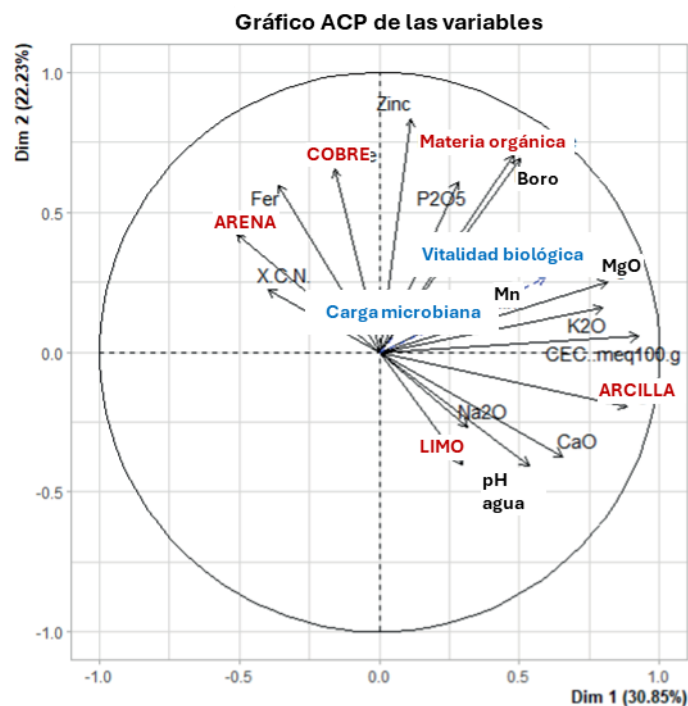
Al comparar los diferentes parámetros físico-químicos de las parcelas con los datos microbiológicos, podemos ver correlaciones positivas y negativas. Son cuestionables, no sabemos aún hasta qué punto, porque las condiciones ambientales pueden ser las variables más importantes que influyen en la vida del suelo, o viceversa, quizás sean los microorganismos los que dictaminan los cambios en el medio ambiente.

Un primer análisis estadístico factorial de componentes principales (ACP) permite ver que ciertas variables, como la materia orgánica, la capacidad de intercambio de



cationes, calculado a partir de los niveles de potasio, calcio, sodio, magnesio e hidrógeno principalmente (CIC) y ciertos oligoelementos parecen tener mayor influencia en la carga microbiana y en la vitalidad biológica del suelo.

Dada la complejidad de los fenómenos que interactúan, los coeficientes de correlación no son suficientes para ver los efectos entre ciertos parámetros y la vida del suelo. Por otro lado, las gráficas a nivel estadístico nos permiten empezar a apreciar visualmente estos efectos de manera global, lo que ayuda en su interpretación.



*Figura 6: Análisis de componentes principales (ACP) de los parámetros fisicoquímicos y biológicos de muestras de suelo recogidas durante los últimos 5 años.*

### Influencia del tipo de suelo

A pesar de que algunos estudios así lo destacan, el tamaño de las partículas, o la textura del suelo (porcentaje de arcilla, arena y limo) no parecen tener una fuerte correlación con los contenidos de ADN y ATP de las muestras.

### Influencia del pH

Aparte de un pH muy bajo (<6), lo que parece impactar en el desarrollo de los microorganismos, no existe una linealidad específica de los datos en relación al pH,



aunque es bastante posible que la microbiota sea diferente debido a su capacidad de adaptación al pH.

### Influencia de la materia orgánica

La materia orgánica, por otro lado, está fuertemente correlacionada con el ADN y aún más con el ATP. Esta correlación es bastante obvia y fácil de entender, ya que los microorganismos propiamente dichos son materia orgánica en sí mismos y utilizan la materia orgánica para diferentes funciones, incluso como apoyo a la nutrición.

### Proporción de materia orgánica / arcilla

La relación entre la materia orgánica y la arcilla parece tener una correlación con la carga microbiana, con valores ideales entre 15 y 25, por otro lado, la relación vitalidad biológica/carga microbiana es mayor en proporciones bajas y disminuye gradualmente.

### Influencia de los oligoelementos

Los oligoelementos están presentes en pequeñas cantidades en los suelos, pero son esenciales para el desarrollo de los seres vivos. Por otro lado, en cantidades demasiado grandes pueden llegar a ser tóxicos, como es particularmente el caso del cobre y el zinc, cuyos efectos antibacterianos son bastante bien conocidos. Aquí podemos ver la distribución de los indicadores de vida del suelo en función del contenido de cobre intercambiable. Los datos son idénticos cuando se utiliza el contenido total de cobre del suelo. Se ha observado que tres cuartas partes de las muestras contienen menos de 75 mg/kg de cobre intercambiable, y que a este valor el impacto es bajo.

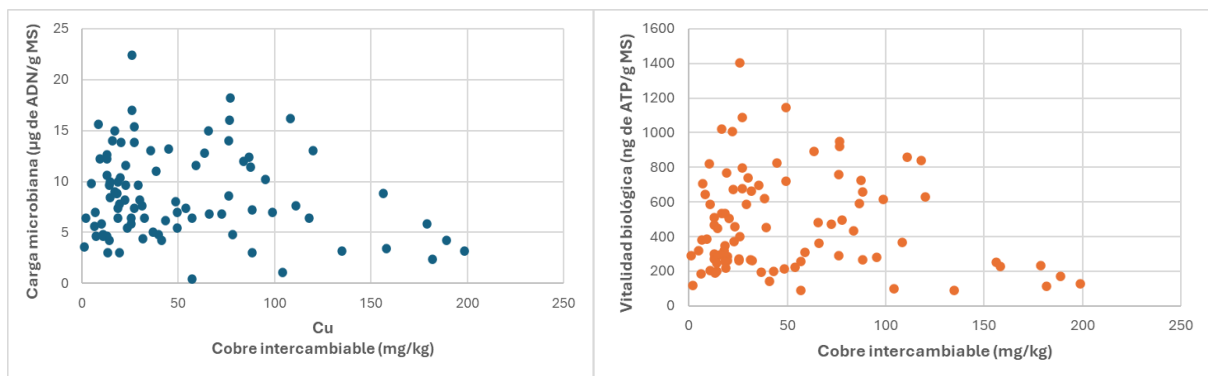
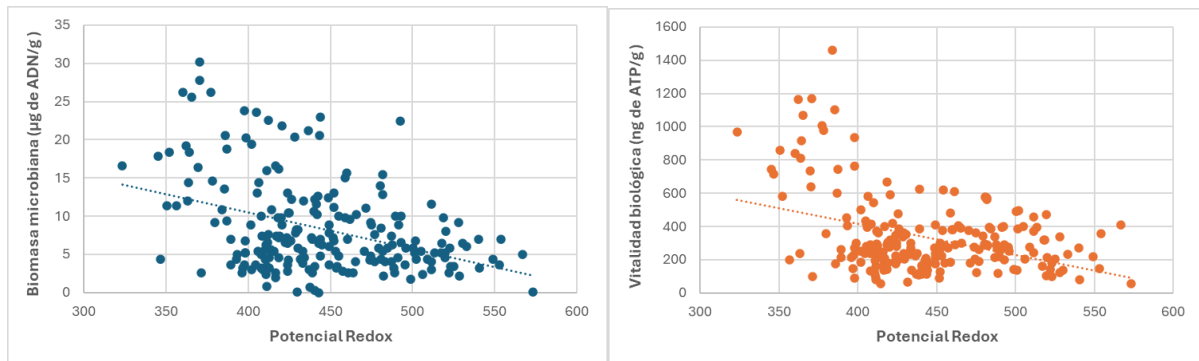


Figura 7: Gráfico de la carga y vitalidad biológica en función del contenido de cobre intercambiable.

### El Potencial Redox

Desde el año 2021, el laboratorio ha desarrollado la medición del potencial Redox en hojas y suelos. Gracias a más de 200 análisis realizados, se puede estudiar la relación entre la microbiología del suelo y el potencial Redox.



*Figura 8: Representación de la carga y vitalidad biológica basada en el potencial Redox.*

Los indicadores más altos se encuentran en la zona de 350 a 400 mV, más allá de la cual, la biomasa y vitalidad disminuyen de manera bastante consistente.

## CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Esta recopilación de datos ilustra los dos enfoques analíticos elegidos por el laboratorio, el ensayo de ATP microbiano para estimar la vitalidad biológica de los suelos y el ensayo de ADN total microbiano para cuantificar la carga biológica. También permiten afinar en los criterios de interpretación de estos dos valores sencillos de obtener. La relación ATP/ADN también aparece claramente como un criterio relevante para evaluar posibles desequilibrios edafológicos.

Estos enfoques deberían conducir a una mejor comprensión de cómo evolucionan las poblaciones microbianas. Los valores de ADN y ATP presentes en los suelos pueden cambiar rápidamente dependiendo de la estación que refleje las condiciones externas. Del mismo modo, la distribución es diferente según la profundidad del suelo, con valores más altos en el primer horizonte edáfico (0–30 cm).

Otros factores que parecen influir en la vida del suelo son sus características intrínsecas, además del resultado práctico del itinerario técnico vitícola realizado. La materia orgánica juega aquí un papel crucial, ya que es el combustible de los microorganismos. En el laboratorio se ha desarrollado también un ensayo de caracterización de esta materia orgánica mediante el análisis de su parte libre y ligada, lo que permitirá afinar aún más en el sistema de referencia a utilizar en la toma de decisiones.

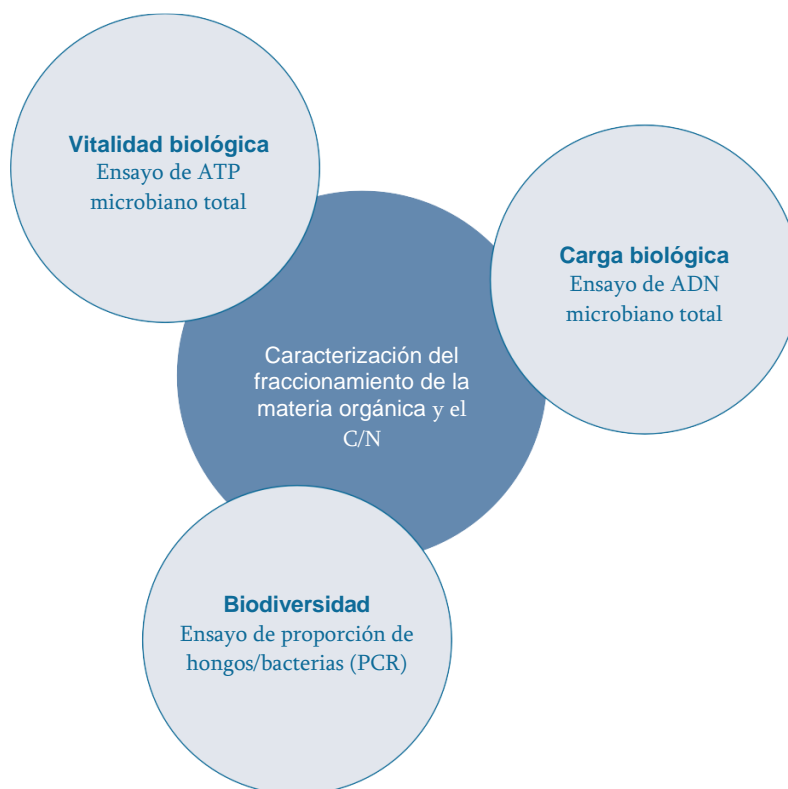
Por lo tanto, también es importante contar con indicadores sencillos de esta diversidad microbiana. Manteniendo el "leitmotiv" para disponer de indicadores que sean fiables y reproducibles. El laboratorio ha desarrollado más recientemente y de forma





complementaria la medición de la proporción de hongos y bacterias mediante técnicas de PCR. Esta relación es considerada por los especialistas como un elemento en la caracterización de la etapa ecológica en la que se encuentra el suelo estudiado, en particular su relación con su materia orgánica. Un suelo con un alto contenido de materia orgánica tenderá a ser fúngico y, por el contrario, un suelo con un bajo contenido de materia orgánica debe estar dominado por bacterias. Por lo tanto, este nuevo indicador será muy interesante para complementar los datos sobre la vitalidad y la carga biológica y para evaluar las acciones de modificación a aplicar desde el punto de vista agronómico, la adaptación de la cubierta vegetal o los períodos de descanso del suelo antes de la plantación.

Los cerca de 2.000 datos recopilados en los últimos años han confirmado la pertinencia del uso de los indicadores de vitalidad biológica y carga microbiana. Combinados con los desarrollos recientes en el laboratorio: caracterización de la materia orgánica y la proporción de hongos y bacterias, estos elementos permiten claramente avanzar en el funcionamiento y la gestión del consorcio biológico de los suelos vitícolas y por lo tanto, la calidad de la uva.



*Figura 9: Asociado a la vitalidad biológica de los suelos y a la carga microbiana, el análisis de la diversidad de la comunidad microbiana (relación entre hongos y bacterias) y la caracterización de la materia orgánica proporcionan indicadores clave en la comprensión del funcionamiento biológico de los suelos y de las interacciones planta/suelo.*

## BIBLIOGRAFÍA

- . Jean Michel Gobat, Michel Aragno, Willy Matthey, 2003, Le sol vivant, deuxième édition revue et augmentée, Ed. Presses polytechniques et universitaires Romandes
- . Alain Carbonneau, Laurent Torregrosa, 2020, Traité de la vigne 3e édition, Ed Dunod
- . Karimi, B., Masson, V., Guiland C., Leroy E., Pelligrinelli S., Giboulot E., Maron P.A., Ranjard, L., 2021. La biodiversité des sols est-elle impactée par l'apport de cuivre ou son accumulation dans les sols vignes ? Synthèse des connaissances scientifiques. Etude et gestion des sols, vol. 28
- . Karimi B., Chemidlin Prévost-Bouré N., Dequiedt S., Terrat S., Ranjard L., 2018. - Atlas français des bactéries du sol. Biotope, Mèze, Muséum d'Histoire naturelle, Paris, 192p.