



# Cuantificación de diazótrofos en la rizósfera del olivo (*Olea europaea* L.) cultivado en Boyacá, Colombia

## Diazotrophs quantification in the rhizosphere of an olive orchard (*Olea europaea* L.) grown in Boyacá, Colombia

Óscar Fernando Bello Álvarez<sup>1\*</sup>, José Francisco García Molano<sup>1</sup> y William Javier Cuervo Bejarano<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundación Universitaria Juan de Castellanos, Tunja, Boyacá, Colombia. <sup>2</sup>UNIMINUTO, Corporación Universitaria Minuto de Dios. Centro Regional Zipaquirá, Cundinamarca, Colombia. \*Autor para correspondencia: [oscarbello.ing.agropecuario@outlook.com](mailto:oscarbello.ing.agropecuario@outlook.com)

Rec.:03.07.2014 Acep.: 02.09.2014

### Resumen

La investigación tuvo como objeto determinar el efecto de la poda de formación en árboles de olivo en las cantidades y la actividad de unidades formadoras de colonias de microorganismos fijadores de nitrógeno asociados a la rizósfera. El ensayo tuvo lugar en un cultivo ubicado en Sutamarchán, Boyacá. Se seleccionaron árboles iniciando estado productivo (< 4 años) bajo un diseño completamente al azar con dos tratamientos (poda y el crecimiento libre) cada uno con tres repeticiones. En muestras edáficas se midieron las poblaciones de microorganismos diazótrofos, así como los contenidos de las concentraciones de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ , CO, Fe y Mg y en muestras foliares se determinaron los contenidos de los análisis de varianza y de componentes principales, determinaron que la poda genera acidez en el suelo. Los niveles foliares y edáficos de N son bajos, sin embargo, las poblaciones de microorganismos fijadores son altas con poca eficiencia, al parecer por fijar N en vida libre. Las concentraciones de Fe y Mg en el suelo permiten deducir que la actividad de nitrogenasa es constante, pero el nitrógeno se inmoviliza posiblemente en el metabolismo microbiano, negando la posibilidad de ser absorbido por el olivo de forma directa; los niveles de calcio limitan la nutrición nitrogenada, Se sugiere que es conveniente identificar las poblaciones, medir la actividad reductora de acetileno y la tasa de mineralización.

**Palabras clave:** Nitrogenasa, nitrógeno, nutrición vegetal, fijación de nitrógeno.

### Abstract

The aim of this research was to determine the effect of formative pruning of olive trees in the quantity of nitrogen fixing fungi colonies and their activity in the rhizosphere of productive trees established in Sutamarchán, Boyacá. Trees in productive stage (<4 years) old were selected and a complete randomized design with two treatments (pruning and no pruning) and three repetitions was used. Rhizosphere soil samples were carried out to determine the population of diazotrophs microorganisms and concentrations of  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_3$ , CO, Fe y Mg; leaves were sampled to determine elements concentration. The statistical analysis concluded that pruning olive trees tended to increase the acidity in soil. N concentrations in soil and leaves were significantly lowest than the no-pruning trees. However, nitrogen fixing microorganisms populations were higher but with less efficiency, possibly related with the free-living fixation. The concentrations of Fe and Mg in soil, suggest a constant nitrogenase activity, but N is immobilized possibly by the microbial metabolism, lowering the possibility of being absorbed by the trees; Ca levels restricts the N nutrition. To take into account in future experiments, it's suggested to identify microorganisms populations, and measure acetylene reducing activity and the mineralization rate.

**Keywords:** Nitrogenase, nitrogen, plant nutrition, nitrogen fixation.

## Introducción

La olivicultura ha estado presente en el Alto Ricaurte hace más de 200 años y se ha demostrado que produce aceituna en los árboles allí establecidos a pesar de estar fuera del rango latitudinal tradicional para el establecimiento del cultivo, lo que infiere que se habrían adaptado a las condiciones edafoclimáticas de la región. (Beghè, García Molano, Fabbri, & Ganino, 2015) realizaron estudios preliminares para identificar variedades, calidad de aceitunas y aceite, crecimiento y desarrollo, absorción de nutrientes, entre otros, con el fin de determinar las condiciones que permitieron esta adaptación y la producción, teniendo en cuenta que los árboles están plantados en suelos erosionados con deficientes condiciones fisicoquímicas y que ha sido necesaria la adición de materia orgánica, en proporción de diez kilos a la siembra y cinco kg/árbol cada año, estas investigaciones han permitido tener un mejor conocimiento del cultivo de olivo en el Trópico Alto Andino.

En consecuencia se espera que a nivel de la rizósfera se presenten una serie de interacciones microbianas que benefician los procesos nutricionales de las plantas. Los exudados producidos por las raíces, como mucilagos azucarados, aminoácidos, ácidos orgánicos, lípidos, vitaminas, proteínas, enzimas, hormonas vegetales, alelo sustancias, compuestos de funciones secundarias o disolventes de elementos minerales, son atrayentes de comunidades microbianas (bacterias, hongos y actinomicetos), mesofauna (protozoos, nematodos, insectos y ácaros) que en el suelo constituyen un ecosistema muy diverso (Gupta & Mukerji, 2002). Además, en la proximidad de las raíces se encuentran bacterias como *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Streptomyces*, entre otras, que incrementan el crecimiento de las plantas y la cantidad de nitrógeno, fósforo y magnesio en la rizósfera, dado que fijan N atmosférico y contribuyen a la mineralización de la materia orgánica (Frioni, 1999; Carrillo, 2003).

Generalmente el nitrógeno (N) no es un elemento que las plantas de olivo necesiten en dosis altas y la principal fuente la constituye la materia orgánica del suelo (MOS); sin embargo, suele ser el elemento mineral más comúnmente empleado en los programas de fertilización en el olivar. La tasa de extracción de N es baja, con una relación de 3 – 4 g N kg<sup>-1</sup> de aceituna cosechada, como máximo. Esta extracción, sumada a la del material de poda, es cercana a los 9 kg N ha<sup>-1</sup> año, que suelen ser compensadas por la aportación del agua de lluvia y de la mineralización de la materia orgánica (Fernández-Escobar, Beltrán, Sánchez, García, Aguilera y Uceda, 2006). Por esto se sabe que en suelos con fertilidad buena, las necesidades

de aporte de N del olivar son escasas (Barranco, Fernández-Escobar y Rallo, 2008).

La disponibilidad del N para las plantas de olivo está a cargo de microorganismos como los diazotófos que son capaces de crecer sin fuentes externas de este elemento y que bajo temperatura y presión atmosférica normal logran fijar el nitrógeno atmosférico en amonio (Frioni, 1999). Los fijadores de vida libre no se asocian de forma directa con la raíz, por lo cual se les determina como no simbióticos y aunque no son los que más nitrógeno atmosférico fijan (Burbano y Silva, 2013), si son muy importantes al desarrollar esta actividad poniendo a disposición de las plantas no fabáceas el nitrógeno, que en con frecuencia es muy escaso a nivel edáfico, o por las condiciones de manejo es difícil su asimilación o utilización. La fijación requiere un acoplamiento eficiente entre los sistemas generadores de ATP y la protección de la enzima nitrogenasa frente al oxígeno, por lo cual estos microorganismos aumentan sus poblaciones cuando hay un suelo poco fértil y con ausencia de nitrógeno edáfico en forma de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Munévar, 2013) como ocurre en la región del Alto Ricaurte (Beghè *et al.*, 2015).

Esta investigación cuantificó las poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno en la rizósfera de árboles de olivo, con el fin de determinar la actividad que pueden generar en el proceso nutricional del árbol.

## Materiales y métodos

### Sitio de estudio

La finca se denomina las Acacias y está ubicada en la vereda Roa en el municipio de Sutamarchán a 5° 37' latitud norte y los 73° 34' longitud oeste, perteneciente a la provincia del Alto Ricaurte. La finca tiene un suelo franco arcilloso, con un contenido de materia orgánica de 0,31%, fósforo 6,08 ppm, calcio 5,21 cmolc kg<sup>-1</sup>, magnesio 4,39 cmolc kg<sup>-1</sup>, hierro 7,68 ppm. Los datos se obtuvieron del análisis de suelo realizado en el terreno estudiado antes de plantar los olivos.

Según datos de la Estación meteorológica de Villa de Leyva, para esta zona, las temperaturas mínima y máxima promedio son de 7,1°C y de 26,1°C, respectivamente; precipitación anual de 980 mm, humedad relativa 76%, brillo solar de 1614 horas año, fotoperiodo de 12,5 horas año y altitud promedio es de 2150 m.s.n.m., la región se encuentra ubicada sobre la cadena montañosa llamada la cordillera oriental que hace parte de los andes Colombianos en la región central del departamento de Boyacá.

## Población, muestra y unidades experimentales

La distancia de siembra es de 5x5 m entre árboles con trazado a tresbolillo. Se seleccionaron 6 árboles de cerca de 4 años de edad con características fenotípicas homogéneas, e identificados como *Olea europaea* genotipo 4; el material de donde provienen los árboles se obtuvo de árboles plantados en la región desde 1950 cuya variedad se desconoce otros han sido propagados de árboles que llegaron en la época de la colonia (Beghè *et al.*, 2015), donde cada árbol correspondió a la unidad experimental. Se evaluaron dos tratamientos T1 (con poda) y T2 (sin poda). Se implementó un diseño completamente al azar con dos tratamientos y tres repeticiones, para un total de seis unidades experimentales. La composición físico química del suelo, y las variables climáticas, no sugirieron el uso de bloqueo. Los árboles del tratamiento con poda fueron en octubre de 2012 y en septiembre de 2013.

## Métodos de campo

Se realizó un muestreo aleatorio simple y de cada unidad experimental se tomaron muestras de suelo de la zona de la rizósfera a 25 cm de profundidad, en la gotera del árbol utilizando un barreno tipo holandés. Las muestras fueron enviadas al laboratorio para el análisis microbiológico y físico-químico. Para análisis foliar se tomó una muestra de 100 hojas por cada unidad experimental, se recolectaron de la parte central a basal de brotes situados a la altura del hombro del investigador en distintas posiciones siguiendo el método descrito por Barranco *et al.* (2008).

## Análisis de laboratorio

Puesto que los bajos niveles de  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$  en el suelo no permitieron su detección en laboratorio, se procedió a estimar los contenidos de MO, NT y ND conforme a los lineamientos vinculados con la metodología descrita a continuación.

De las muestras de suelo para determinar su composición físicoquímica se usaron los siguientes métodos: Walkley Black o combustión en analizador elemental para determinar el contenido de carbono orgánico (% CO), (pH) potenciómetro en agua, extracción con KCl 2N y titulación potenciométrica para  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  cuantificación por absorción atómica en citrato para hierro (Fe), cuantificación absorción atómica con digestión en frío de ácido fluorhídrico para magnesio (Mg) y colorimetría por Bray II para fósforo (P). Ya que estos elementos intervienen en la fijación biológica de N y en el número de colonias de diazótrofos (Atlas y Barta, 2001).

Para las muestras foliares se determinó el contenido de nitrógeno (N %) usando el método de combustión en analizador elemental. Estos análisis se realizaron en el laboratorio nacional de suelos del Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC).

Para cuantificar la población de microorganismos diazótrofos (UFC  $\text{g}^{-1}$  suelo) se utilizó el protocolo de (Doberreiner y Day, 1976) utilizando el medio de cultivo compuesto por  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , NaCl,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{MoO}_4 \cdot \text{Na} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , ácido málico, azul bromotimol, y agar agar. Se sembraron por triplicado en placa y se realizó el conteo con luz ultravioleta (UV).

## Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se empleó el paquete JMP®, Trial Version 11. Los datos se sometieron a prueba de supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Bartlett). Una vez comprobados los supuestos se procedió a realizar análisis estadístico descriptivo y un análisis de varianza (ANOVA). Adicionalmente, a los datos de las variables de los análisis físicoquímicos de suelo, análisis químico de tejidos vegetales y poblaciones microbianas de fijadores de nitrógeno se les realizó un análisis de componentes principales (ACP) con la finalidad de determinar las correlaciones entre las variables estudiadas, establecer patrones e intentar reducir el número de variables.

## Resultados y discusión

Con base en el análisis de ANOVA, el pH del suelo fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) para el tratamiento sin poda en comparación con el de las plantas podadas (figura 1).

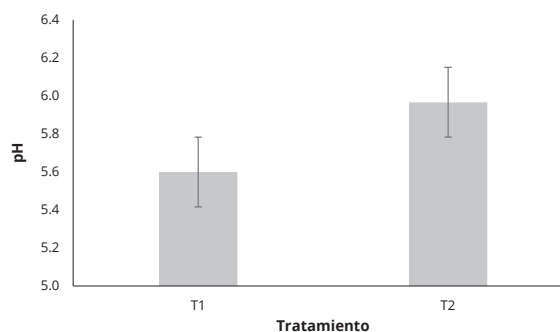


Figura 1. Valores promedio de pH del suelo para los tratamientos T1 (con poda) y T2 (sin poda).

De acuerdo con los auto-valores, para el ACP se retuvieron los tres primeros componentes principales, que explican aproximadamente el 81,4%

de la variación total de los datos. Las variables que tuvieron un mayor peso en los componentes fueron (figura 2) CO %, MO %, NT %, ND % y FN (Componente 1), P, Mg, Fe y N (Componente 2) y pH y Proteolíticos (Componente 3).

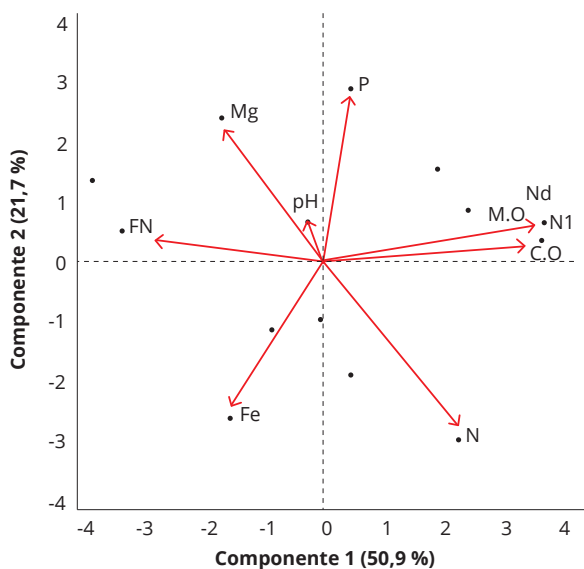


Figura 2. Diagrama bivariado para el análisis de componentes principales. Se evidencian los pesos de las variables para cada componente principal.

### Presencia de los microorganismos fijadores de nitrógeno en el rizósfera del olivo

Aunque las UFC para microorganismos fijadores de nitrógeno para los tratamientos evaluados no presentaron diferencia estadística, los valores son altos en comparación con forestales nativos usados como sombrío, en la zona cafetera es de  $3 \times 10^2$ ; en cultivos de maíz en el departamento del Tolima es de  $1 \times 10^2$ ; en sembradíos de café bajo sombra en Quindío hay  $2,6 \times 10^3$ ; en café sin

sombrío en el mismo departamento es de  $5,9 \times 10^3$  y el suelos sulfatados de Boyacá se han encontrado en valores de  $1 \times 10^2$  a  $1 \times 10^4$  UFCg<sup>-1</sup> de suelo, eso según lo reportado por Munévar (2013), que pueden obedecer al intento biológico y natural por la vegetalización de un terreno (Varela y Rueda, 2013), que presenta deficiencias en variables físico-químicas. Además se debe tener en cuenta que estos árboles se plantaron hace cerca de 5 años y están sembrados en un suelo que carece de capa arable (IGAC, 2005), tradicional para los olivos, con textura franco-arcillosa y en los cuales, de acuerdo con Munévar (2013), en zonas donde se produjeron eventos como quemas o remociones de terreno, posteriormente se presenta un incremento en el número de colonias de diazótrofos; puesto que la fijación biológica de nitrógeno (FBN) es un proceso fundamental para la recuperación de los acervos de N en el suelo.

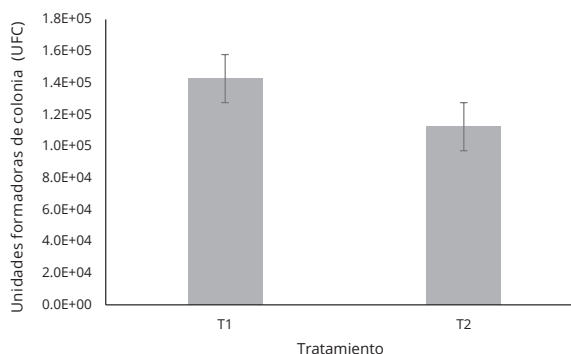


Figura 3. Unidades formadoras de colonia de microorganismos fijadores de nitrógeno (FN, UFC g-1 de suelo) para los tratamientos T1 (con poda) y T2 (sin poda).

Las bacterias que participan en la fijación biológica del nitrógeno y solubilización del fósforo inorgánico tienen también la capacidad de inducir cambios fisiológicos en la planta, que estimulan la tasa de crecimiento (Rao, Ramakrishnan, Adhya, Kanungo, & Nayak, 1998). Los mecanismos que

Tabla 1. Coeficientes de correlación de Pearson entre las variables: nitrógeno foliar (N, %), fijadores de nitrógeno (FN, UFCg-1 suelo), microorganismos proteolíticos (Prot., UFC g-1 suelo), fósforo (P, ppm), carbono oxidable (CO, %) materia orgánica (MO, %), nitrógeno total edáfico (NT, %) nitrógeno edáfico disponible (Nd, %) magnesio (Mg, me100 g-1 de suelo) y hierro (Fe, ppm).

	N	FN	Prot.	pH	P	CO	MO	NT	ND	Mg	Fe
N	1,00										
FN	-0,69	1,00									
Prot.	0,33	-0,14	1,00								
pH	-0,17	0,00	0,53	1,00							
P	-0,33	-0,20	0,27	0,12	1,00						
CO	0,44	-0,66	0,13	-0,09	0,10	1,00					
MO	0,44	-0,66	0,13	-0,09	0,10	1,00	1,00				
NT	0,44	-0,67	0,13	-0,09	0,09	1,00	1,00	1,00			
ND	0,38	-0,74	0,10	0,02	0,18	0,98	0,98	0,98	1,00		
Mg	-0,76	0,75	0,03	-0,04	0,32	-0,17	-0,17	-0,17	-0,23	1,00	
Fe	0,32	0,45	0,42	-0,06	-0,58	-0,30	-0,30	-0,30	-0,46	0,08	1,00

son activados por estas bacterias están relacionados con la síntesis de reguladores del crecimiento (Bashan & Holguin, 1997) como auxinas, citocininas y giberelinas, así como en la síntesis de precursores de estas hormonas, las que intervienen en el crecimiento, desarrollo y diferenciación de órganos en las plantas (Davis, Curry, & Steffens, 1991; Dubeikovskiy, Mordukhova, Kochetkov, Polikarpova, & Boronin, 1993; Kuss, Kuss, Lovato, & Flóres, 2007). Al reducirse las deficiencias nutricionales, distintos procesos fisiológicos y metabólicos se realizan de forma más eficiente, adicionalmente, contar con una maquinaria microbiana anexa a su sistema radical, permite expresar mayor desarrollo y sanidad.

Aunque los árboles fueron sembrados en el mismo momento y se sometieron a las mismas condiciones de manejo y ambientales, posiblemente el estrés generado por la poda (T1), provocó reacciones hormonales, aumentó la actividad metabólica y la síntesis de proteínas y como respuesta se incrementó la población microbiológica de la rizósfera.

### **Correlación entre el número de colonias fijadoras de N y los contenidos de amonio y nitrato edáfico**

Del contenido de MO (4,1%±0,59) se calcularon los niveles de NT (0,21%±0,03), lo que se considera un porcentaje bajo para clima frío, y en consecuencia los niveles de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  en la rizósfera, no fueron detectados en pruebas de laboratorio.

### **Correlaciones entre FN y las demás variables medidas**

Se presentaron correlaciones positivas altas para FN: pH y Fe, que pueden indicar que los incrementos en UFC de FN obedecen a mayores disponibilidades de Fe y Mg en suelo. Caso contrario lo que sucede con FN en comparación con CO, MO, NT y Nd, en donde las correlaciones presentaron valores negativos altos, lo que indica que las UFC de FN son inversamente proporcionales a los contenidos de los elementos ya mencionados. Para las demás variables las correlaciones fueron cercanas a cero indicando poca a ninguna relación.

No se presenta relación de diazotrofos con el pH probablemente porque el rango de acidez es el indicado para su crecimiento y además estos microorganismos tienen un rango amplio de tolerancia con esta variable (Atlas & Bartha, 2001).

La baja correlación entre FN y P posiblemente se explica porque las bacterias emplean la MO del suelo o los exudados de la raíz como fuente de C, mientras que el P reportado en los análisis edáficos se encontraba en forma disponible ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) que no puede ser empleado por las bacterias como

fuerza energética, dado que estas lo consumen de forma orgánica principalmente.

La correlación entre FN con Fe y Mg es positiva porque son dos cationes que intervienen en la fijación biológica de nitrógeno y son importantes a nivel de la enzima nitrogenasa al dar el poder reductor de la ferredoxina, además por la ferroproteína que conforma la estructura de la enzima, también el Mg es cofactor enzimático y contribuye en la transferencia de energía (Frioni, 1999).

El número de colonias de fijadores de nitrógeno presentes en la rizósfera de los olivos plantados en el Alto Ricaurte es en promedio  $1,28 \times 10^5$  UFCg<sup>-1</sup> de suelo, mientras que en otros estudios similares en Colombia, se encontró que en forestales nativos usados como sombrío en la zona cafetera es de  $3 \times 10^2$ ; en cultivos de maíz en el departamento del Tolima es de  $1 \times 10^2$ ; en sembradíos de café bajo sombra en Quindío hay  $2,6 \times 10^3$ ; en café sin sombrío en el mismo departamento es de  $5,9 \times 10^3$  y los suelos sulfatados de Boyacá se han encontrado en valores de  $1 \times 10^2$  a  $1 \times 10^4$  UFCg<sup>-1</sup> de suelo, según lo reportado por Munévar (2013).

Como se observa son valores inferiores en el número de colonias de microorganismos diazotrofos excepto por un estudio realizado en la sabana de Bogotá en la filósfera de eucaliptos que produjo  $3 \times 10^5$  UGC g<sup>-1</sup> de suelo. Adicionalmente Atlas & Bartha (2001), mencionan que el número de fijadores de vida libre suele ser abundante, en especial en la rizósfera en contraste al suelo libre de raíces, pero la tasa de fijación de estos microorganismos es baja, aunque es favorable para la absorción por las plantas (Varela y Rueda, 2013).

Esto se debe a: las bajas condiciones nutricionales del suelo, el poco tiempo relativo de plantados los árboles (<4 años) y las incorporaciones de materia orgánica realizadas durante este tiempo (32 kg de compost árbol<sup>-1</sup> aproximadamente), lo que ha favorecido este aumento poblacional; además las especies vegetales tratan de establecer una relación simbiótica o asimbiótica con especies microbianas, para propiciar esta cobertura vegetal en un terreno que no había sido cultivado antes (Munévar, 2013).

Los diazotrofos capturan e inmovilizan el nitrógeno en su metabolismo, reduciendo las concentraciones de amonio o nitrato en el medio (Munévar, 2013); aunque la ausencia de éstos compuestos nitrogenados favorece la presencia de fijadores de nitrógeno (Varela y Rueda, 2013) y como consecuencia se evidencia una relación inversa entre estas variables. Puesto que las concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$  en la rizósfera y los aportes en fertilización nitrogenada no superan los 10 g/árbol, no presentan una deficiencia de nitrógeno notable, lo que muestra que aunque la

**Tabla 2.** Resultados de los análisis foliares en plantas de olivo sometidas a los tratamientos T1 (con poda) y T2 (sin poda). Se presentan los contenidos de macro y microelementos en el tejido foliar.

Trat.	%					mg/kg				
	Ca	Mg	K	P	N	Mn	Fe	Zn	Cu	B
T1	0,63	0,07	1,07	0,06	0,64	14	752	25	17	59,5
T1	0,78	0,08	1,06	0,05	1,0	12	378	27	21	17,5
T1	0,83	0,09	1,24	0,06	1,8	10	253	30	20	27,5
T2	0,73	0,07	1,07	0,04	1,3	9	263	23	18	13,5
T2	0,74	0,05	1,18	0,07	1,5	8	201	22	17	16,5
T2	0,74	0,06	1,10	0,04	1,4	8	240	24	15	155

fijación de nitrógeno por diazotrofos es limitada, está se da en un tiempo corto, culminando el ciclo biológico y encontrando nitrógeno mineralizado a partir de los residuos de microorganismos (Frioni, 1999).

Uno de los árboles evaluados presentó clorosis foliar, que conforme con el análisis (tabla 2) es probable que obedezca a una deficiencia de nitrógeno. Este mismo árbol presentó el mayor número de colonias de diazotrofos, debido posiblemente a que las plantas al ser son sometidas a este tipo de deficiencia exudan compuestos orgánicos (Varela y Rueda, 2013) que favorecen el crecimiento de los microorganismos en la rizósfera que incrementan la absorción de nitrógeno. En esta misma unidad experimental se presenta el menor porcentaje de nitrógeno rizosférico, y obedece a lo analizado anteriormente, en que la relación es inversa entre nitrógeno total y poblaciones de diazotrofos (Burbano y Silva, 2013).

La tasa de fijación simbiótica por rizobios tiene la mayor contribución en las cantidades fijadas de nitrógeno, donde esta suele ser 2 o 3 órdenes de magnitud superior a las cantidades fijadas por microorganismos de vida libre (Atlas & Bartha, 2001), y además al haber simbiosis, las plantas usan el nitrógeno que fijan los nódulos directamente, siendo más eficiente la fijación simbiótica que la biológica, a nivel de la nutrición vegetal. Puesto que la raíz de los olivos no forman nódulos (Barranco *et al.*, 2008), se presume que la única forma de fijación de N para este cultivo debe ser de carácter no simbiótico.

## Conclusiones

La población de fijadores de nitrógeno presentes en la rizósfera de los olivos plantados en el Alto Ricaurte fueron en promedio de  $1,28 \times 10^5$  UFC  $g^{-1}$  suelo y presentaron mayor densidad poblacional en los árboles podados, comparados con los de libre crecimiento, posiblemente, como respuesta al estrés de procesos fisiológicos de la planta y el aumento de los exudados radiculares. Los microorganismos fijadores de nitrógeno tuvieron una correlación negativa con los contenidos de

nitrógeno total edáfico y foliar, y no presentaron diferencias entre los tratamientos. El pH es la única variable afectada significativamente por los tratamientos. En los árboles podados tuvo valores ligeramente ácidos y tendiendo a la neutralidad en los árboles sin poda. Los valores de acidez son favorables para la mineralización de la materia orgánica.

## Agradecimientos

A D. Antonio Cortés por proveer información de su huerto de olivo y a la empresa Frutalia de Colombia Ltda., por facilitar el material vegetal con fines de estudio.

## Referencias

- Atlas, R., y Bartha, R. (2001). *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. Madrid. Addison Wesley.
- Barranco, D., Fernández-Escobar, D., y Rallo, L. (2008). *El Cultivo de Olivo*. Madrid. Coedición Junta de Andalucía/Mundi-Prensa.
- Bashan, Y., & Holguin, G. (1997). Azospirillum – plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). *Canadian Journal of Microbiology*, 43(2), 103-121. <http://doi.org/10.1139/m97-015>
- Beghè, D., García Molano, J. F., Fabbri, A., & Ganino, T. (2015). Olive biodiversity in Colombia. A molecular study of local germplasm. *Scientia Horticulturae*, 189, 122-131. <http://doi.org/10.1016/j.scientia.2015.04.003>
- Burbano, H., y Silva, F. (2013). *Ciencia del Suelo Principios Básicos*. Bogotá D.C.: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo.
- Carrillo, L. (2003). *Microbiología Agrícola*. Salta: Universidad Nacional de Salta.
- Davis, T. D., Curry, E. A., & Steffens, G. L. (1991). Chemical regulation of vegetative growth. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10(2), 151-188. <http://doi.org/10.1080/07352689109382310>
- Dubeikovsky, A.N., Mordukhova, E.A., Kochetkov, V.V., Polikarpova, F.Y., & Boronin, A.M. (1993). Growth promotion of blackcurrant softwood cuttings by recombinant strain *Pseudomonas fluorescens* BSP53a synthesizing an increased amount of indole-3-acetic acid. *Soil Biology and Biochemistry*, 25(9), 1277-1281. [http://doi.org/10.1016/0038-0717\(93\)90225-Z](http://doi.org/10.1016/0038-0717(93)90225-Z)

- Fernandez-Escobar, R., Beltran, G., Sanchez Zamora, M. A., Garcia Novelo, J., Aguilera, M. P., & Uceda, M. (2006). Olive oil quality decreases with nitrogen over-fertilization. *HortScience*, 41(1), 215–219.
- Frioni L. (1999). *Procesos microbianos*. Río Cuarto: Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Gupta, R., & Mukerji, K.G. (2002). Root Exudate - Biology. En K.G. Mukerji, C. Manoharachary, & B.P. Chamola (Eds.), *Techniques in Mycorrhizal Studies SE - 6* (pp. 103-131). Holanda: Springer. [http://doi.org/10.1007/978-94-017-3209-3\\_6](http://doi.org/10.1007/978-94-017-3209-3_6)
- Instituto Geográfico Agustín Codazzi -IGAC. (2005). *Estudio general de suelos y zonificación de tierras del departamento de Boyacá*. IGAC, Subdirección Agrológica - UPTC. Bogotá, D.C., Colombia: Imprenta Nacional de Colombia.
- Kuss, A.V., Kuss, V.V., Lovato, T., & Flôres, M. L. (2007). Fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético in vitro por bacterias diazotróficas endofíticas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 42(10), 1459-1465. <http://doi.org/10.1590/S0100-204X2007001000013>
- Munévar, F. (2013). Organismos del Suelo. En H. Burbano, y F. Silva (Eds.), *Ciencia del Suelo Principios Básicos* (pp. 439-484). Bogotá D.C.: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo.
- Rao, V. R., Ramakrishnan, B., Adhya, T. K., Kanungo, P. K., & Nayak, D. N. (1998). Review: Current status and future prospects of associative nitrogen fixation in rice. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 14(5), 621-633. <http://doi.org/10.1023/A:1008831914095>
- Varela, A., y Rueda, D. (2013). Organismos del suelo, primera parte. En H. Burbano, y F. Silva (Eds.), *Ciencia del suelo. Principios básicos* (pp. 397-437). Bogotá D.C.: Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo.