UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS-POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES DE LA RIZOSFERA DE OLIVO EN LAS CONDICIONES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE SUELO EN EL ALTO RICAURTE, BOYACÁ-COLOMBIA.

Requisito para optar el título de Magíster en Ciencias Biológicas

AUTOR

LUZ STELLA JARAMILLO GARCÍA

Tunja
Mayo, 2018

UNIVERSIDAD PEDAGÓGICA Y TECNOLÓGICA DE COLOMBIA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS-POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES DE LA RIZOSFERA DE OLIVO EN LAS CONDICIONES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE SUELO EN EL ALTO RICAURTE, BOYACÁ-COLOMBIA.

Requisito para optar el título de Magíster en Ciencias Biológicas

AUTOR

LUZ STELLA JARAMILLO GARCÍA

DIRECTOR
JOSÉ FRANCISCO GARCÍA MOLANO
Fundación Universitaria Juan de Castellanos
Grupo de investigación AOF

Tunja
Mayo, 2018

CERTIFICADO DE ORIGINALIDAD

José Francisco García Molano PhD., Docente investigador- Líder grupo AOF, Fundación Universitaria Juan de Castellanos.

CERTIFICA:

Que el trabajo de grado realizado bajo mi dirección por **Luz Stella Jaramillo G.** titulado "HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES DE LA RIZOSFERA DE OLIVO EN LAS CONDICIONES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE SUELO DEL ALTO RICAURTE, BOYACÁ-COLOMBIA.", reúne las condiciones de originalidad requeridas para optar al título de **MAGÍSTER EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** otorgado por la FACULTAD DE CIENCIAS, ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS.

Y para que así conste, firmo la siguiente certificación en Tunja, 29 de mayo de 2018.

José Francisco García Molano PhD.
Director
Fundación Universitaria Juan de Castellanos
Grupo de investigación: Abonos Orgánicos Fermentados

José Francisco García Molano
Doctor en Biología Vegetal

_____	_____
Nombre completo. Nivel Formación.	Nombre completo. Nivel Formación.
Jurado 1	Jurado 2

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I 10
INTRODUCCIÓN 10
MARCO CONCEPTUAL 12
La Rizosfera 12
Micorrizas arbusculares 13
HMA en plantas respecto a absorción de nutrientes 14
Incidencia de las micorrizas respecto al estímulo en la producción de fitohormonas promotoras de crecimiento vegetal 15
Incidencia de las micorrizas respecto a la interacción con microorganismos promotores de crecimiento vegetal 15
Incidencia de las micorrizas en la absorción de agua en el olivo bajo condiciones de stress 16
ESTADO DEL ARTE 17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 20
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 22
OBJETIVOS 22
GENERAL 22
ESPECÍFICOS 22
METODOLOGÍA GENERAL 23
Ubicación geográfica 23
Diseño experimental 23
Análisis estadístico 24
PRODUCTOS 24
CAPÍTULO II 25
Abstract 26
Key words 26
INTRODUCCIÓN 26
MATERIALES Y MÉTODOS 30
Método para extracción, conteo de esporas y estimación del porcentaje de colonización por HMA 30
Diseño experimental 33
Análisis estadístico 34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 35
Análisis de componentes principales 35
CONCLUSIONES 46
BIBLIOGRAFÍA 47
CAPÍTULO III 50
Resumen 50

Palabras clave 50
Abstract 51
Key words 51
INTRODUCCIÓN 51
Extracción, conteo de esporas y estimación del porcentaje de colonización por HMA 54
Materiales 54
Métodos 54
Análisis químicos foliares 56
Diseño experimental 56
Análisis estadístico 57
RESULTADOS 57
DISCUSIÓN 67
CONCLUSIONES 72
BIBLIOGRAFÍA 72
CAPÍTULO IV 77
Resumen 77
Palabras Clave 77
Abstract 78
Key words 78
INTRODUCCIÓN 78
CONCLUSIONES 91
BIBLIOGRAFÍA 91
CONCLUSIONES GENERALES 95
RECOMENDACIONES 96

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Comportamiento de temperatura y precipitación del lugar de estudio 20
Figura 2. Componentes principales T1, poda en vaso 35

Figura 3. Componentes principales T2, poda en globo 37

Figura 4. Componentes principales T3, crecimiento libre 39

Figura 5. Componentes principales T1, poda en vaso 60

Figura 6. Resumen del análisis Kruskal-Wallis y la prueba post hoc para las variables significativas 41
Figura 7. Componentes principalesT2, poda en globo 62

Figura 8. Componentes principales T3, crecimiento libre 64

Figura 9. Géneros identificados 86

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición química del suelo del lugar de ensayo.	19
Tabla 2. Diseño experimental del ensayo	23
Tabla 3. Matriz de correlación, T1 poda en vaso	36
Tabla 4. Matriz de correlación, T2 poda en globo	38
Tabla 5. Matriz de correlación, T3 crecimiento libre	40
Tabla 6. Resumen del análisis Kruskal-Wallis y la prueba *post hoc* para las variables significativas	42
Tabla 7. Resultados promedio de análisis físico del suelo rizosférico del olivo por tratamiento de las unidades experimentales	44
Tabla 8. Resultados promedio de análisis químico del suelo rizosférico por tratamiento de las unidades experimentales	45
Tabla 9. Resultados promedio de microorganismos y enzimas por tratamiento de las unidades experimentales	45
Tabla 10. Diseño experimental del ensayo	56
Tabla 11. Resultados promedio % de colonización y número de esporas por tratamiento de las unidades experimentales del ensayo en el alto Ricaurte comparados con estudios realizados por Rotunda *et al.* (2007) y Beutel *et al.* (1983)	58
Tabla 12. Resultados promedio de elementos por tratamiento de las unidades experimentales del ensayo en el alto Ricaurte comparados con estudios realizados por Rotundo *et al*. (2007) y Beutel *et al.* (1983)	58
Tabla 13. Resultados promedio análisis bromatológico de hojas por tratamiento de las unidades experimentales	59
Tabla 14. Matriz de correlación, T1 poda en vaso	61
Tabla 14. Matriz de correlación, T2 poda en globo	63
Tabla 15. Matriz de correlación, T3 crecimiento libre	65
Tabla 17. Efectos de los tipos de poda en los contenidos de elementos bromatológicos y contenidos de ácidos grasos en hojas de olivo	66

CAPÍTULO I

HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES DE LA RIZOSFERA DE OLIVO EN LAS CONDICIONES FÍSICAS Y QUÍMICAS DE SUELO DEL ALTO RICAURTE, BOYACÁ-COLOMBIA

INTRODUCCIÓN

La olivicultura se ha desarrollado en el mundo en países con estaciones climáticas, el ciclo anual productivo del olivo (*Olea europaea* L.) está marcado por dichos cambios, sin embargo, ha venido naturalizándose en las condiciones del trópico alto andino desde el periodo colonial en la región del Alto Ricaurte y en la actualidad existen unas 18000 plantas (Taguas, 2009), de los cuales esporádicamente se cosechan aceitunas, las que de acuerdo con Barrera (2012), cumplen con los parámetros exigidos por el Consejo Oleícola Internacional en lo referente a contenidos de ácidos grasos, minerales y grado de acidez.

Los olivos plantados en la región, han contribuido a mejorar el suelo porque logran mantener en la rizosfera poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno de vida libre, proteolíticos (Bello *et al.,* 2016), celulolíticos (Hernández, 2015) y hongos micorrícicos arbusculares (HMA) (Sánchez, 2014), lo que además genera actividad enzimática (Quiroga, 2015), todo lo anterior ha permitido la formación de capa arable y la revegetalización del área donde se plantan, lo que probablemente haya ocurrido por las interacciones microbianas que allí se presentan y que intervienen en la descomposición de la materia orgánica del suelo, que llevan a la formación de agregados que a su vez mejoran la porosidad. Por otro lado y de acuerdo con las mediciones de Pedreros (2015) y Bello *et al.* (2016) las condiciones químicas del suelo también se han favorecido, al incrementar la cantidad de nutrientes, elevar el pH y aumentar la capacidad de intercambio catiónico (CIC).

Un aspecto relevante de la microbiota presente en la rizosfera de los olivos sembrados en el Alto Ricaurte corresponde a la presencia de micorrizas que de acuerdo con Sánchez (2014), están en un 77,5% en olivos con crecimiento libre y en un 91,99% en los intervenidos con poda, teniendo en cuenta que la asociación simbiótica de hongo-raíz es muy importante en plantas de olivo para superar el estrés hídrico (Mohamed, 2013), mejorar la absorción de nutrientes como P, N y K (Porras, 2009), estimular la descomposición de la materia orgánica (Leifheit, 2014) y favorecer la formación de agregados (Rillig & Mummey, 2006), dado que los HMA producen exudados proteicos (glomalinas) que dan estabilidad a los agregados al degradarse lentamente (Rillig, 2004; Wright *et al*., 1999).

Los HMA establecen interacciones con otros microorganismos o con plantas mediante señales químicas que cada uno produce, los miembros de diferentes familias de HMA, podrían por tanto, tener efectos diferentes sobre la agregación del suelo, la toma de nutrientes, absorción de agua y estímulo hormonal ya que pueden tener diferentes longitudes de hifas extrarradicales (Hart & Reader, 2002), las cuales están generalmente correlacionadas con los parámetros de estabilidad del suelo y probablemente sean la propiedad clave de los HMA en la agregación de éste (Barto *et al*., 2010; Rillig *et al*., 2010; Wilson *et al*., 2009).

Contrario al papel de la micorriza en la agregación del suelo, su rol en la captura de carbono es menos clara, los HMA no tienen capacidades saprofíticas, pero hay pruebas que demuestran que a través de sus hifas pueden adquirir grandes cantidades de nitrógeno procedente de la descomposición de la materia orgánica y transportar el nitrógeno a la planta huésped (Koller *et al*., 2013; Herman *et al*., 2012; Hodge & Fitter, 2010). Esta es una labor que el hongo probablemente realiza al estimular la descomposición del material orgánico que contiene a la comunidad microbiana saprófita con la que coexiste, a través del suministro de exudados de carbono, de este modo son liberados nutrientes minerales, que este puede absorber (Herman *et al*., 2012; Nuccio *et al*., 2013).

Los exudados son compuestos de azúcares de bajo peso molecular, ácidos orgánicos y compuestos poliméricos de alto peso molecular, sustancias que pueden aumentar ó reducir el crecimiento de bacterias en el suelo (Toljander *et al*., 2007). El aumento del CO_2 atmosférico estimula el crecimiento de HMA a través del mayor suministro de fotosintatos por parte de las plantas para el hongo y es posible que este mejore el almacenamiento de Carbono (C) del suelo a través de su efecto estabilizador sobre los agregados del mismo (Drigo *et al*., 2010). Además, podría haber ganancias a largo plazo en compuestos recalcitrantes que se originan del aumento de la descomposición de la materia orgánica, porque se estimulan los microbios y el crecimiento de plantas. Así, este proceso aumenta la liberación de productos metabólicos recalcitrantes que se pueden proteger físicamente dentro de los agregados del suelo formados por arena, arcilla y moléculas orgánicas (Cotrufo *et al*., 2013; Verbruggen *et al*., 2013), condición que se pueden estar dando en la rizosfera de los olivos en el Alto Ricaurte, teniendo en cuenta que están plantados sobre material parental laminar y que en la rizosfera se han encontrado gránulos de entre 0,2 y 0,7 mm (Cruz, 2015).
En general la presencia de micorrizas aumenta la tolerancia de las plantas a la sequía (Marulanda *et al*., 2007), estrés salino (Sheng *et al*., 2009) y estrés edáfico (Doubková *et al*., 2012), también le da protección al ataque de nematodos (Castillo *et al*., 2006), hace más eficiente el uso del agua (Bolandnazar *et al*., 2007) y mejora la calidad del fruto (Nzanza *et al*., 2012).

Entonces, teniendo en cuenta las anteriores consideraciones y conociendo el carácter micotrófico del olivo se infirió que la presencia de HMA posibilita que esta planta se naturalice en condiciones edafoclimáticas difíciles, por lo que se buscó

identificar los géneros de los hongos micorrícicos arbusculares presentes en las condiciones físicas y químicas del suelo de olivo intervenido con poda en vaso y globo y en crecimiento libre, lo cual estaría modificando la actividad micorrícica dado que esta labor cambia la composición de los exudados de la raíz y es una práctica agronómica requerida en los olivos para conseguir producción más regular.

MARCO CONCEPTUAL

La Rizosfera

La actividad de los microorganismos que viven en el suelo libre de raíces es mínima, en éste, existe la mayor razón a la heterotrofia, es decir, la dependencia de estos por el aporte de carbono metabolizable. El suelo, y en especial la rizosfera, son los ambientes donde existe mayor biodiversidad, debido a que es una región altamente favorable para la proliferación y actividad metabólica de numerosos microorganismos (Nannipieri *et al*., 2003; Gobat *et al*., 2003).
La rizosfera comprende la región del suelo inmediata a las raíces de las plantas (Reyes, 2011; Coyne, 2000; Westover, *et al*., 1997), donde sus características químicas y biológicas se manifiestan en apenas 1 mm de espesor a partir de las raíces (Coyne, 2000). En esta zona crece una comunidad microbiológica diversa y dinámica y se da la expresión de relaciones simbióticas mutualistas entre microorganismos y plantas (Sarabia *et al*., 2010) que intervienen compuestos químicos del suelo que promueven o bloquean la interacción (Lines-Kelly, 2005) debido a la exudación de sustancias orgánicas útiles para el metabolismo microbiano como mucílagos azucarados, aminoácidos, ácidos orgánicos, lípidos, vitaminas, proteínas, enzimas, hormonas vegetales, alelo sustancias, compuestos de funciones secundarias o disolventes de elementos minerales, entre las más destacadas, que favorecen el establecimiento de un nicho ecológico (Rodríguez *et al.,* 2014; González- Chávez, 2005).

El tipo y cantidad de compuestos varía bastante de una planta a otra. Su actividad se vincula con distintos procesos relacionados con el agua, nutrición mineral, intercambio de cationes y producción de exudados, entre muchos otros, que la hacen diferente del resto del suelo en sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Frioni, 2002).

Factores del suelo como: Aluminio (Al), Fósforo (P), Nitrógeno (N), Zinc (Zn) y Cobre (Cu), así como concentraciones de materia orgánica y el pH, influyen en la simbiosis, lo cual se evidencia en la capacidad de colonización y la producción de esporas de los hongos (Bhatia *et al*., 1996).

Entre los microorganismos de la proximidad de las raíces suele hallarse gran cantidad de bacterias, como *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Streptomyces*, entre otras, que incrementan el crecimiento de las plantas (Bloemberg & Lugtenberg, 2001), además se observa que su presencia aumenta la cantidad de Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Magnesio (Mg), así como la mayor concentración de azúcares en las plantas y su mayor cantidad de ácido indol acético en los tallos y en la rizósfera (Clavijo *et al.,* 2012). La interacción de la simbiosis micorrícica con otros microorganismos del suelo posibilita el establecimiento de cooperaciones beneficiosas o de competencia con otros microorganismos que generalmente son de tipo fitopatógeno (Bonfantes & Anca, 2009).

En la compleja interacción planta-hongo micorrícico, se establece una triada asociativa, el tercer asociado corresponde a las bacterias. En este sentido, Bonfantes & Anca (2009) plantean que la interacción se propicia a partir de la liberación de moléculas activas, incluyendo compuestos volátiles, y el contacto físico entre los socios, dado que los exudados que emiten ayudan a las poblaciones de bacterias a reproducirse más eficientemente, ya que ambos grupos son parte de la matriz biológica del suelo. Entre los géneros bacterianos detectados están *Pseudomonas* spp., *Bacillus subtilis*, *Azospirillum* spp. y *Azotobacter* spp.; estos dos últimos importantes en los mecanismos de fijación no-simbiótica de nitrógeno (Guerrero & Canseco, 2014).

Micorrizas arbusculares

El nivel de colonización de la raíz de olivos por los HMA puede ser mejorado por el contenido de materia orgánica de los suelos (Kachkouch, *et al*., 2012). Las micorrizas arbusculares, también llamadas endomicorrizas, por sus estructuras intra radicales que facilitan el intercambio de materiales entre plantas y hongos simbiontes y que toman la forma de arbúsculos, son asociaciones de la mayoría de las raíces de especies vegetales con hongos que pertenecen a la división Glomeromycota, en la que se genera un movimiento bidireccional de nutrientes donde el carbono fluye hacia el hongo y los nutrientes inorgánicos se mueven hacia la planta (Schalamuk *et al*., 2013). Los hongos que forman estas asociaciones son biotrofos obligados y comprenden con frecuencia la mayor parte de la biomasa microbiana del suelo (Mohammadi, 2011).
Siguiendo criterios estructurales, morfológicos y taxonómicos, se clasifican en dos tipos principales: ectomicorrizas y endomicorrizas, dividiéndose éstas últimas en seis subtipos: Ectendo, Arbustoide, Ericoide, Monotropoide, Orquideoide y Arbusculares (Sieverding, 1991). Los más abundantes son los hongos endomicorrícicos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), que se caracterizan porque sus hifas penetran en las células de las raíces formando estructuras de almacenamiento (vesículas) y de intercambio bidireccional de nutrientes y carbono (C) (arbúsculos) (Martínez & Pugnaire, 2009).

Los HMA, secretan glomalina hacia el suelo, una proteína que juega un papel clave en la estabilidad de éste. Oades (1993) describió el enredo de las partículas del suelo por las hifas de HMA como "saco de cadena pegajoso", ya que las partículas del suelo se enredan y se alinean, por lo tanto se estabilizan físicamente, porque se adhieren entre sí con más fuerza que a partículas circundantes. Además, la glomalina, influye en la comunidad microbiana vecina y en la bioestabilización de suelos contaminados (Folli *et al.,* 2012; Mohammadi *et al*., 2011), aumentando también la retención de agua de este (Barrios, 2007). Los HMA secuestran el carbono proveniente de la planta y lo deponen a través de la red micelar incrementando la captación de minerales en el suelo (Gianinazzi *et al*., 2010), sus asimilados pueden ser transportados de una planta a otra a través de la red micelar (Mohammadi, *et al.,* 2011), conectándose y transportando carbohidratos a plantas con desventajas fotosintéticas (Leake *et al.* 2004). Así mismo, moderan el efecto contra el estrés causado por factores abióticos incrementando la resistencia de las plantas a la sequía. De los estudios que evalúan el efecto de los HMA cuando las plantas están sometidas a estrés, 80 % de ellos demuestran que las plantas micorrizadas crecen y mejoran su estado hídrico en comparación con plantas no micorrizadas (Augé, 2001). Sin embargo, se desconocen los mecanismos precisos mediante los cuales la asociación micorrízico arbuscular modifica el metabolismo de la planta.

Igualmente los HMA incrementan la resistencia de las plantas a la salinidad, metales pesados, contaminación y deficiencia de nutrientes minerales (Smith & Smith, 2011; Barea *et al*., 2005; Smith y Smith, 1997), modifican la fisiología y metabolismo de las plantas biorregulando su desarrollo e incrementando su calidad nutricional (Smith *et al*., 2010), así como la tolerancia del cultivo frente a patógenos (Jaizme & Rodríguez, 2008).

De otra parte, el desarrollo de la simbiosis micorrícico arbuscular, induce genes del metabolismo de la sacarosa, reflejando un aumento del catabolismo y de la utilización de la sacarosa en las raíces (Rodríguez, 2006), lo que es de importancia por el uso de estos carbohidratos para alimentar microorganismos que a cambio suministran nutrientes a la planta y como fuente de energía para la raíz.

HMA en plantas respecto a absorción de nutrientes

El efecto más significativo de las micorrizas arbusculares es el mejoramiento de la nutrición de las plantas, ya que las hifas de estos hongos se extienden en el suelo aumentando el volumen del mismo explorado por la raíz, alcanzando zonas donde los nutrientes se encuentran disponibles y haciendo más eficiente la absorción y transferencia de macro y micronutrientes hacia las raíces (Schalamuk *et al*., 2013; Smith & Read, 2008; Sieverding, 1991).

En cuanto a la concentración de nutrientes en las raíces y en el total de la planta con micorrización existen mayores cantidades de todos los nutrientes en el sistema radicular (Chatzistathis *et al*., 2013).

Incidencia de las micorrizas respecto al estímulo en la producción de fitohormonas promotoras de crecimiento vegetal

Las micorrizas son productoras de auxinas (citocininas y giberelinas) que estimulan el crecimiento radical, su bifurcación y formación. El estrés osmótico causado por el exceso de NaCl reduce el diámetro del tallo, número de brotes, dispara la longitud y los nutrientes en plantas de olivo, disminuye la permeabilidad de las membranas, afectando la dinámica de los exudados de la raíz, con lo que se afecta a la microflora de la rizosfera, pero la colonización de HMA alivia todos estos efectos negativos sobre el crecimiento (Porras *et al.,* 2009).

La intensidad de micorrización es mayor con bajo contenido de fósforo, que refleja la adaptabilidad de los HMA a este tipo de suelo (Kachkouch, *et al*., 2012), Yameogo (2009), comenta que las esporas son la manera más eficaz de medir la diversidad y la riqueza de HMA en el suelo, pero la esporulación puede depender del tipo de HMA, de las características del suelo (Fitzsimons *et al*., 2008; Lekberg *et al*., 2007), la provisión de agua (Wolfe *et al*., 2006) y las condiciones climáticas (Kachkouch, *et al*., 2012; Behera *et al*., 1990).

Incidencia de las micorrizas respecto a la interacción con microorganismos promotores de crecimiento vegetal

La presencia de micorrizas, debe estar acompañada necesariamente de bacterias fijadoras de nitrógeno puesto que el hongo necesita contar con el N que requiere para la construcción de su proteína, tomándolo de la descomposición de la materia orgánica (Koler *et al*., 2013; Herman *et al*., 2012; Hodge & Fitter, 2010), así mismo, precisa de la existencia de bacterias solubilizadoras de fósforo, dado que el proceso de fijación de nitrógeno, elemento imprescindible para la división celular y consecuentemente para la producción vegetal, es altamente demandante de fósforo (Atlas & Bartha, 2002) y sin su presencia, las reacciones propias de la fijación de nitrógeno disminuirían, igualmente toma el P para otros procesos metabólicos así como el que aporta a la planta.

Así mismo, la nutrición vegetal requiere de un consorcio microbiano que favorezca la disponibilidad de los elementos necesarios, además de los HMA que le proporcionan protección frente a factores estresantes o de toxicidad, y aunque la simbiosis micorrícica no aporte nutrientes, si le da la facultad a la planta para

explorar el suelo hacia los nutrientes presentes en la solución del suelo aportados externamente o presentes en él, es decir, le proporciona más posibilidades de captación de nutrientes, que son los que mejoran el crecimiento y desarrollo de la planta. Adicionalmente la presencia de los HMA ayuda a formar la estructura del suelo (agregación) por efecto de la glomalina y de la red hifal que mantiene los agregados (Barto *et al.,* 2010; Rilling *et al.,* 2010; Wilon *et al.,* 2009; Miller y Jastrow, 2000), lo que permite que haya poros, donde se almacena agua y nutrientes, circula aire, penetran las raíces de las plantas y coexisten los microorganismos.
El potasio, como el soluto inorgánico más predominante, desempeña un papel clave en los procesos de osmorregulación y la tolerancia a la salinidad (Porras *et al*., 2009).

Incidencia de las micorrizas en la absorción de agua en el olivo bajo condiciones de stress

El déficit hídrico reduce el poder de absorción de agua por las raíces, pero la colonización de HMA compensa esta situación (Ruíz-Lozano *et al*., 1996; Barea & Jeffries, 1995). Por su parte, el olivo es conocido por ser tolerante a la sequía, pero pocos estudios se han realizado en este tema. En Argelia por ejemplo, los cultivos de olivos cubren desde el este al oeste a unas 300.000 ha (Mohamed *et al.,* 2013). Algunos trabajos como el de Mohamed *et al.* (2013) en diferentes climas, han encontrado que la colonización endomicorrízica tuvo una alta frecuencia, así por ejemplo, en clima semi-árido mostró un 58.34% y en clima sub-húmedo alrededor del 67%. Estos mismos autores observaron también la variación según los años (67,92% en 2010, 60,52% en 2011 y 65,87% en 2012), y también en las estaciones (57,04% en invierno y en la primavera de 72.50%).

Este mismo estudio observó la intensidad de micorrización en el sistema de la raiz (M%) o fragmentos de raíz (m%). Dependiendo de los tipos de clima, en clima semiárido la intensidad fue baja (M% = 2,65%, m% = 4,39%) pero alta en subhúmedo (H% = 7,94%, m% = 10,85%). Los valores mínimos de intensidad de micorrización se registraron en el año 2011 con M% = 3,35%, m% = 5,27% y se presentaron valores altos en 2012 con M% = 8,87%, y el m% = 12,40%. De acuerdo con las estaciones del año, los valores más importantes fueron estimados en la primavera con H% = 10.16%, y m% = 13,34%. En cuanto a los valores más bajos, que coinciden con el invierno M% = 2,77% y el m% = 4,52% (Mohamed *et al.,* 2013).

ESTADO DEL ARTE

Los HMA son importantes en la vida de muchas plantas incluido el olivo, aquellos que crecen en condiciones naturales están muy micorrizadas, por lo que se ve un mayor crecimiento de la producción de aceitunas y una mayor tolerancia a suelos salinos y estrés hídrico (Nico *et al*., 2002).
Las familias de HMA son complementarias entre sí en sus funciones ecológicas, es decir, mientras una familia (*Glomeraceae*) suele proteger a la planta de patógenos, otra familia (*Gigasporaceae*) aumenta la absorción del P por parte de la planta (Maherali & Klironomos, 2007), lo que repercute en que la productividad vegetal sea mayor, contrario a que si solo interaccionaran con hongos de una única familia; en este sentido varios estudios han demostrado que las raíces del olivo son intensamente colonizadas por HMA, la frecuencia y la intensidad media de colonización de la raíz puede alcanzar 96 y 30% respectivamente, lo que indica la naturaleza micotrófica de *Olea europaea* (Kachkouch, *et al*., 2012). Esta condición es de gran importancia en zonas donde predomina la escasez de agua, porque la baja disponibilidad del líquido tiene impacto en el transporte y absorción de solutos los cuales son necesarios para el crecimiento (Roldán & Barea, 1986) y, como estos hongos micorrizógenos afectan la morfología de la raíz y aumentan la absorción de nutrientes, influyen consecuentemente en el crecimiento, el aumento de la tasa fotosintética y la transpiración (Ducic *et al.,* 2008).

Porras *et al.* (2009), en España, observaron que la presencia de HMA incidió en el aumento del crecimiento de brotes en plantas de olivo en 163% y el crecimiento de la raíz en 295% en medio no salino, y de 239% y 468% respectivamente bajo condiciones salinas; de otra parte, los olivos micorrizados mostraron 34% menos reducción de su biomasa en medio con salinidad, mientras que las plantas control tuvieron 78% menos crecimiento, en este sentido, concluyeron que este comportamiento puede ser debido al aumento en la adquisición de K; dado que el contenido de este elemento fue mayor en condiciones de salinidad en 6,4 veces más con *G. mosseae*, 3,4 veces más con *G. intraradices* y 3,7 veces con *G. claroideum*. Según el mismo autor la colonización de plántulas de olivo con HMA *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices* o *claroideas Glomus* aumentan el crecimiento de la planta y la capacidad de adquirir N, P y K.

Otra investigación con *Bituminaria bituminosa* L. var. *Albomarginata,* seis meses después de la colonización con *Glomus mosseae*, mostró que tanto el diámetro como la longitud del tallo y el peso seco fueron superiores respecto al control, así mismo, los contenidos de N, P y K, tuvieron una diferencia estadística significativa (Jaizme & Rodríguez, 2008). Otra investigación de las mismas autoras, evaluó el efecto de *Glomus mosseae* sobre *Carica papaya* L., 5 meses después de la colonización y permitió determinar de la misma forma una diferencia significativa entre los tratamientos, superficie foliar, longitud y peso fresco, así como los

contenidos de N, P y K en la planta, comportamiento que también evidenciaron en plantas de *Solanum lycopersicum* L.

En un ensayo en aguacate, Silveira *et al*. (2003), observaron que el contenido de los elementos minerales en la parte aérea de las plantas fue afectado por las especies de HMA de manera distinta. Las plantas inoculadas con HMA presentaron contenidos superiores de N, P, K, Mg, Cu y Zn. Así mismo, encontraron un incremento significativo en el porcentaje de N en las hojas; estos investigadores afirman que no todas las especies de HMA son eficientes en la absorción de nutrientes, sin embargo, evidenciaron que la absorción de elementos minerales y el contenido de carbohidratos propiciados por las especies más eficientes de HMA, muestra una correlación.

Según un estudio de Sánchez (2013), hubo mayor porcentaje de colonización en olivos podados, a pesar de la existencia de Fósforo abundante en la zona rizosférica, la planta al parecer no lo absorbe, lo que puede estar ocurriendo por desbalance en las relaciones catiónicas dado que similar situación ocurre con el Calcio (Ca), Magnesio (Mg) y Potasio (K); lo que lleva a pensar en un desequilibrio nutricional de la planta que se reconoce en el desorden fisiológico de la floración y fructificación, así como en un crecimiento muy lento de apenas 10 cm en promedio de la parte vegetativa durante el año 2011 y de 3 cm promedio durante el 2013, ocasionado por precipitaciones altas en el 2011 (1732 mm) (Cheverría & García, 2014) y escasez en el 2013 (755 mm) (IDEAM, 2014).

En el alto Ricaurte se viene realizando un trabajo de investigación en olivicultura por parte del grupo de investigación Abonos Orgánicos Fermentados (AOF), que comenzó con la identificación mediante análisis molecular de las variedades sembradas en la región (García, 2012). La mayor cantidad de individuos correspondió al genotipo denominado 4, que contiene olivos conocidos por la población local como Passareira, Picual y Cordovil, pero la identificación molecular mostró que corresponden a la variedad Picual, son plantas cuyas edades están entre cuatro y 30 años, de los cuales algunos son productivos, están plantados en Sáchica, Villa de Leyva y Sutamarchán, (García & Jaramillo, 2012) y en ellos existe disparidad respecto al inicio y época de floración, duración de la misma, crecimiento de los frutos y cuajado; algunos pueden presentar 4 floraciones en periodos cortos, otros 2 y otros 4, repartidos durante todo el año solar, la elongación de ramas está entre 8 y 10 cm, inferior al crecimiento presentado en el Mediterráneo; por condiciones de estrés hídrico las ramas detienen su crecimiento, pero cuando reinician las lluvias, aparecen ramas nuevas en el meristemo apical prolongando la longitud de la misma; de otra parte el tamaño de las inflorescencias está entre 2,5 y 2,8 cm con una media de 26 flores y con una duración de 220 días en promedio desde la aparición de la flor hasta la maduración del fruto (García, Jaramillo & Rodríguez, 2012).

En una posterior medición, Cheverría & García (2014) reportan que la longitud de las inflorescencias estuvo entre 18 y 24 mm, el número de flores por inflorescencias fue de 20 y se presentó abscisión antes de terminar el periodo de floración. También que en una misma planta se presentan distintos estadios de floración durante el año y la apertura de las flores de una misma rama duró hasta dos semanas, los autores atribuyen este comportamiento a la influencia de las precipitaciones en el año 2011, de 1732 mm durante febrero a diciembre y en el 2010 de 1546 mm, temporadas que se caracterizaron por altas precipitaciones (IDEAM, 2014), consideran así mismo que la distribución de lluvias pudo estimular el brote de yemas florales y crecimiento de frutos.

Los suelos donde están plantados los olivos en el alto Ricaurte tienen una condición química poco favorable (Tabla 1), situación que condujo al aporte de abundante materia orgánica al momento de la siembra con el propósito de mejorar las condiciones fisicoquímicas de la zona rizosférica. El huerto de olivos genera gran cantidad de material vegetal por caída de hojas al suelo, el cual se va descomponiendo sobre la superficie del suelo de forma natural, generándose actividad microbiana, proceso que contribuye a la formación de una capa que favorece la aparición de plantas arvenses que cubren el suelo evitando la erosión, como se demostró en el ensayo de Bello (2013) y en el de Sánchez (2013).

Tabla 1. Composición química del suelo del lugar de ensayo a 20 cm de profundidad.

.

Finca	Textura.	pH.	[1]% M.O	[2]%N_T.	[3]P (ppm)	[7]Meq. 100 g de suelo-[8]cmol+Kg+1							Elementos menores (ppm)				%		[5]C.E. ds/m
						Al	Ca	Mg	K	Na	[4] CIC	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Al	Na	
Olivanto	[6]F. Ar.	4.6	0.31	0.015	6.08	1.4	5.71	4.39	0.13	0.08	11.71	7.08	1.09	0.63	1.85	0.06	11.9	68	1.52

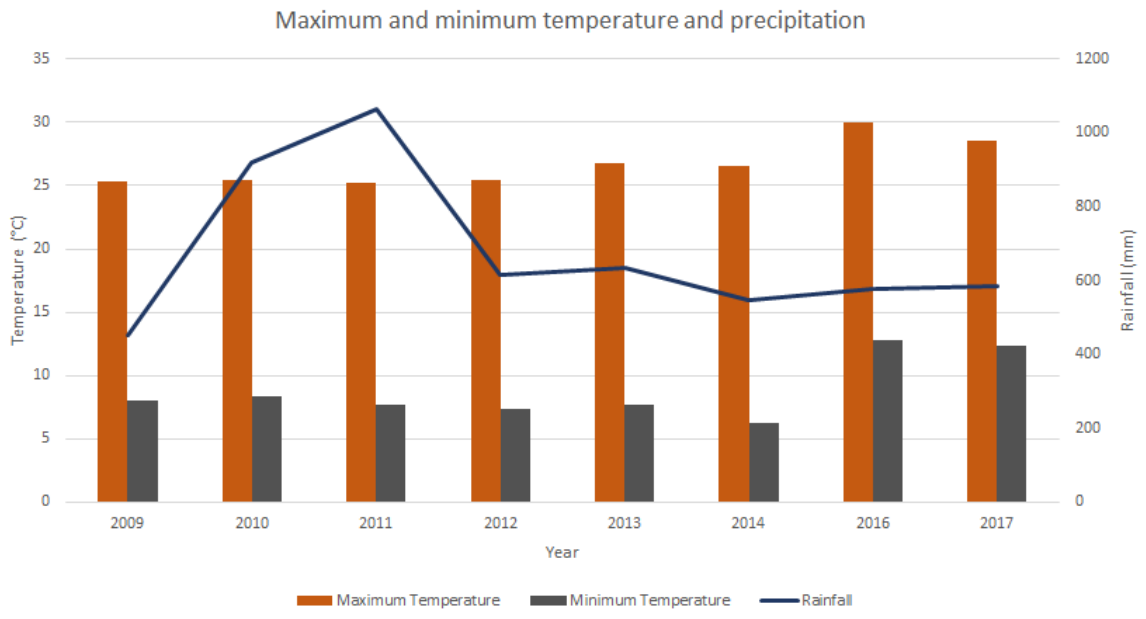
[1]porcentaje de materia orgánica, [2]Porcentaje de nitrógeno total ,[3]partes por millón, [4]capacidad de intercambio catiónico, [5]conductividad eléctrica en deciSiemens por metro, [6]Franco Arcilloso, [7]miliequivalente, [8]centimoles por kilogramo, N=24

Fuente: Grupo de investigación AOF (2013).

Los requerimientos de nutrientes por el olivo estimularon la abundancia de microorganismos como los diazótrofos y su población se incrementó en los que fueron podados, sin embargo, el Nitrógeno que estos organismos fijan probablemente no fue asimilado por la planta, seguramente por descompensación de este con otros nutrientes y poca disponibilidad de materia orgánica (Bello,

2013). Asimismo, las raíces de los olivos son colonizadas hasta en un 98% por hongos micorrícicos arbusculares (HMA) cuyo mayor porcentaje está en olivos podados, a pesar del exceso de P, Ca, Mg y K en la zona rizosférica, la planta no los está absorbiendo (Sánchez, 2013), provocando un desbalance nutricional en la planta reconocido por el desorden fisiológico de la floración y fructificación, así como en un crecimiento muy lento de la parte vegetativa (Cheverría & García, 2014).

Figura 1. Comportamiento de temperatura y precipitación del área de estudio



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El olivo es una planta que se adapta a condiciones de clima y suelo adversas, por lo que en el mundo está plantado en condiciones edáficas y climáticas variadas con suelos de diferentes características (salinos, no salinos, áridos), baja precipitación, radiación solar fuerte, entre otros (Moriondo *et al.,* 2015; Ponti *et al.,* 2013; Figuerola *et al.,* 2013; Orlandi *et al.,* 2012). Por ejemplo, en el Alto Ricaurte, Colombia, esta planta se ha adaptado a condiciones edáficas y climáticas del trópico (2200 m s. n. m., días calurosos y noches frías, fotoperiodo casi constante (entre 12 y 13,5 horas durante todo el año) a pesar de que esta planta siempre verde desarrolla ciclos fenológicos de acuerdo a las estaciones climáticas de zonas templadas en las que soporta veranos calurosos durante tres a cuatro

meses e inviernos fríos en periodos similares, momento en el que se detiene su actividad fisiológica por condiciones extremas de temperatura, lo que impide la fotosíntesis; mientras que en el trópico esa actividad fisiológica la haría de forma casi permanente, porque en esta región los cambios no son tan marcados y las temperaturas permiten que se realice fotosíntesis durante todo el año solar; sin embargo, se ha observado que el crecimiento se detiene cuando el periodo de sequía es prolongado, por lo que se considera que en este momento la planta entraría en reposo, pero el estímulo con lluvia o riego hace que aparezcan brotes nuevos. Las plantas florecen al comienzo de las lluvias, pero si las precipitaciones no son suficientes las flores se caen, entonces al parecer su estacionamiento obedece a estrés hídrico y no térmico como ocurre con los cítricos en el trópico, de acuerdo a los trabajos realizados por Orduz & Avella (2007).

La olivicultura en regiones con distinto régimen climático al de su origen, particularmente aquellas con estación invernal seca, como América, no cuenta con estudios que permitan conocer la respuesta del cultivo a las nuevas condiciones agro-ecológicas (Pierantozzi, 2012). De otra parte, en comparación con otros frutales como el manzano o el duraznero, el olivo tiene una gran capacidad de resistir estrés hídrico, como se ha venido observando en la región del Alto Ricaurte, sin embargo, logra mantener actividad metabólica durante un período de sequía (tolerancia) (Connor, 2005). Esta capacidad proviene tanto de características morfológicas (hojas pequeñas con alta reflectancia de radiación solar) como fisiológicas (baja conductancia estomática). Por eso, el olivo es una especie que puede sobrevivir y fructificar durante los veranos secos del Mediterráneo, reduciendo su potencial hídrico a valores extremadamente bajos (alrededor de -8 Mpa), lo cual le permite captar agua del suelo aún por debajo del punto de marchitez permanente (Orgaz & Fereres, 2008). No obstante a esta notable capacidad de resistencia a la sequía, la productividad del olivo se ve afectada en forma negativa por la escasez de agua aunque tiene la habilidad de soportar largos periodos de sequedad, sin embargo, esto conduce generalmente a una disminución de la fotosíntesis y, en última instancia, a limitaciones en el crecimiento y la producción (Rallo & Cuevas, 2008).

Al parecer, la planta de olivo soporta condiciones adversas porque establece asociación con Hongos Micorrícicos Arbusculares (HMA). De acuerdo con trabajos realizados en Argelia (Meddad-Hamsa *et al.,* 2010), España (Porras *et al.,* 2009), Marruecos (Kachkouch *et al.,* 2012) y Colombia (Sánchez, 2014), estos hongos pueden estar contribuyendo al suministro de agua y nutrientes para el olivo, dado que este se mantiene sin mostrar síntomas de deficiencia nutricional marcada ni agotamiento por estrés hídrico. No obstante, se ha observado que las plantas en libre crecimiento pierden muchas hojas y las ramas de la zona de la mitad de la globo están sin hojas, mientras que los intervenidos con poda se muestran más frondosos aún en periodo seco.

Para optimizar la productividad de un olivar, vigorizando o restringiendo el desarrollo de las ramas con el fin de darles forma y conseguir la máxima productividad, e incluso restaurar o renovar parte o la totalidad del árbol, una labor agrícola necesaria es la poda. La necesidad de la poda en el olivar es un hecho constatado. El olivar no podado se desarrolla, al principio, más rápidamente alcanzando volúmenes superiores a los que puede soportar en el medio en que habita. Las fructificaciones, en principio mayores, terminan por localizarse en los extremos de las ramas, mientras que en el interior estas ramas tienden a defoliarse por falta de luz terminando por marchitarse. En los ensayos realizados de abandono de poda, las producciones aumentaron en los primeros años hasta que pasado cierto tiempo hubo que podar porque cayeron las producciones y los rendimientos (Ferreira, 1979)

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El tipo de poda incide en el número de esporas y en el porcentaje de colonización de hongos micorrícicos, bajo las condiciones de suelo estudiadas y esta interacción afecta los niveles de nutrientes?

OBJETIVOS

GENERAL

Evaluar si el tipo de poda incide en el número de esporas y en el porcentaje de colonización de hongos micorrícicos, bajo las condiciones de suelo estudiadas y cómo esa interacción afecta los niveles de nutrientes.

ESPECÍFICOS

Evaluar la presencia de HMA con las condiciones físicas y químicas del suelo rizosférico y su relación con las poblaciones de microorganismos en los dos tipos de poda y crecimiento libre.

Relacionar la presencia de HMA, en la rizósfera del olivo en el alto Ricaurte, y la absorción de nutrientes bajo las condiciones de poda y en crecimiento libre.

Identificar los géneros de los hongos que habitan la rizósfera del olivo en el alto Ricaurte.

METODOLOGÍA GENERAL

Ubicación geográfica

El área de estudio, está ubicado en el municipio de Sutamarchán, perteneciente a la zona del alto Ricaurte en Boyacá, se encuentra a los 05º 37' 14" de latitud norte y los 73° 37' 17" de longitud oeste, con temperaturas mínimas promedio de 7.1°C, temperaturas máximas promedio de 26.1°C, precipitación promedio anual de 980 mm, humedad relativa de 76%, brillo solar 1614 h/año, fotoperiodo 12.5 h/día, altura de 2150 m s.n.m. Se encuentra emplazado sobre la cadena montañosa de la Cordillera Oriental que hace parte de los Andes, en la región central del departamento de Boyacá. El estudio se realizó en la finca "Huerto Olivanto", vereda Roa.

Diseño experimental

Descripción: diseño completamente al azar
Tratamientos: 3
Repeticiones: 4
Unidades experimentales: 24, cada unidad está compuesta por 2 olivos
Variables Independientes: poda en vaso, poda en globo y crecimiento libre
Variables dependientes: porcentaje de colonización, número de esporas en 50 g de suelo, UFC/g de microorganismos celulolíticos, solubilizadores de fosfatos y proteolíticos, actividad enzimática de celulasa y fosfatasa en suelo, propiedades físicas y químicas del suelo rizosférico, absorción de nutrientes, ácidos grasos, fibra y proteína en hojas, géneros de hongo presentes.

Tabla 2. Diseño experimental del ensayo

Tratamiento	Poda	Repeticiones	Unidades experimentales	Edad de las plantas
T1	Vaso	4	2	5 años
T2	Globo	4	2	5 años
T3	Crecimiento libre	4	2	5 años
Variables dependientes	% colonización HMA, número de esporas, UFC/g de microorganismos celulolíticos, solubilizadores de fosfatos y proteolíticos, actividad enzimática de celulasa y fosfatasa en suelo, propiedades físicas y químicas del suelo rizosférico, absorción de nutrientes, ácidos grasos, fibra y proteína en hojas, géneros de hongo presentes.			

N=24

Análisis estadístico

Coeficiente de correlación de Pearson
Pruebas de comparación de promedios de Tukey
ANOVA
Prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis.
El análisis de componentes principales (CP)
Paquete estadístico SAS University Edition (SAS Institute INA, 2017), los componentes se seleccionaron con base en el criterio de Kaiser

PRODUCTOS

Jaramillo L., García J., Cheverria E.
"Diferencias climáticas entre las regiones tradicionalmente productoras de olivo (*Olea europaea* L.) en el mundo y el Alto Ricaurte en Colombia"
Cultura Científica ISSN: 1657-463X
Publicado

Jaramillo L., García J.
"Comunidad microbiana en la rizosfera del olivo (*Olea europaea* L.) en Boyacá"
Cultura Científica ISSN: 1657-463X
Publicado

CAPÍTULO II

HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES Y CONDICIONES FÍSICO QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE RIZOSFERA DE OLIVOS BAJO DOS FORMAS DE PODA

ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGUS AND PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL CONDITIONS OF OLIVE TREES RHIZOSPHERE UNDER TWO FORMS OF PRUNING

Resumen

En Boyacá, desde hace más de 200 años existen olivos que se han caracterizado por su adaptación a condiciones fuertes sobre los 2200 m s.n.m. La capacidad natural de esta planta para resistir el estrés abiótico está potenciada por la micorrización, por ello se pretendió determinar si su presencia en las condiciones físico químicas y biológicas rizosféricas tiene un aporte frente al cultivo; mediante un diseño completamente al azar, con manejo de poda en vaso, en globo y crecimiento libre como variables independientes y, dependientes: número de esporas de HMA, % de micorrización, solubilizadores de fósforo, celulolíticos, proteolíticos, fosfatasa, celulasa y composición química y física del suelo. Los datos fueron sometidos a comprobación de supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad de residuales, prueba de comparación múltiple de Tukey y prueba de comparación múltiple de Kruskal-Wallis, también se utilizaron Modelos Lineales Generalizados (GLM) utilizando software estadístico R y análisis de componentes principales empleando el software estadístico JMP 13. Se determinó que no hay relación entre las formas de poda y la colonización de HMA, pero si con el número de esporas; para la variable esporas se hizo igualmente una regresión Poisson con una función de enlace logarítmica y los resultados de la regresión indicaron diferencia significativa con ($P<0,0001$) entre T1 Vs T2 y T1 Vs T3. Para la variable % de colonización no se detectó diferencia significativa entre los tratamientos evaluados. Existe relación también entre la presencia de HMA y el diámetro ponderado medio (dpm). La presencia de HMA en la rizosfera parece estar más relacionada con el estrés hídrico que soportan las plantas y no con los niveles bajos de P, la densidad aparente favorece el % de poros totales y se muestra una correlación entre estos y la celulasa.

Palabras clave

Colonización raíces, esporas fúngicas, microorganismos celulolíticos, solubilizadores de fosfatos, proteolíticos, nutrientes *Olea europaea* L.

Abstract

For 200 years, in Boyacá have existed olive trees that have adapted to strong conditions over 2200 m. above the sea level. The natural capacity of this plant to resist abiotic stress is enhanced by mycorrhization. Therefore, the purpose of this project is determine if the presence in the physical chemical conditions and biological rhizospheric have a contribution on the crop. Using a completely random design and management of "goblet" pruning, "balloon" pruning and free growth moreover, independent and dependent variables as number of spores of AMF, percentage mycorrhization, phosphorus solubilizers, cellulolyticus, proteolytics, phosphatase, cellulose and chemical and physical composition in the soil. The data were subjected to tests assumptions of variance homogeneity and residual normality, Tukey multiple comparison test and multiple comparison test of Kruskal-Wallis. Also, It was used Generalized Linear Models (GLM) using statistical software R and analysis of main components using the statistical software JMP 13. Then, it was determined that there is not relation between the pruning and the colonization of AMF. Nevertheless there is relation with the percentage of the spores moreover, the relation between the presence of AMF and the dpm. AMF in the rhizosphere seems to be more related to the water stress that the plants support and not to the low levels of P; also the density favours the percentage of total pores and a correlation between these and the cellulose.

Key words
Colonization roots, fungal spores, cellulolytic microorganisms, phosphate solubilizers, proteolytics, nutrients *Olea europaea* L

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, el cultivo de olivo (*Olea europaea* L.) como sistema agrícola productor de aceite, ha sido el pilar de la dieta mediterránea y elemento básico de la gastronomía española debido a sus beneficios y composición bioquímica, responsable de aroma, gusto, color y algunos nutrientes como vitaminas (Barranco, Escobar & Rallo, 2008; Bueno, 2011).

Colombia, no ha contado con tradición ni experiencia en la producción de olivos, sin embargo, se encuentran arbustos en diferentes lugares del país, especialmente en la región Andina, sobre los 2200 m.s.n.m, donde es posible encontrar adultos con troncos de más de un metro de diámetro y una globo que podría alcanzar hasta cerca de quince metros de altura, existen también otros de más de 20 años en el parque de Sáchica, podados con fin ornamental, de los

cuales han brotado ramas que han formado una copa más densa y de menos altura, sin embargo no han mostrado producción (García *et al.,* 2012), así mismo, algunas plantaciones con arbustos jóvenes, entre 3 y 7 años, establecidas en el municipio de Sutamarchán, lugar donde se concentra este estudio, de variedades propagadas indistintamente de los diferentes materiales vegetales que llegaron a Colombia de Portugal, España e Italia, que no han sido identificadas ni biológica ni morfológicamente, y su comportamiento fenológico aún está parcialmente determinado bajo las condiciones edáficas y climáticas propias del trópico.

El olivo en Boyacá ha existido desde hace más de 200 años, cuando fue introducido por los españoles, se caracteriza por su fácil adaptación a condiciones fuertes, como las presentes en regiones áridas y semiáridas (García, 2010). El suelo del lugar de estudio, corresponde a un suelo superficial por su escaso desarrollo pedológico; presenta epipedón ócrico, endopedón cámbico, alta saturación de bases y bajos contenidos de materia orgánica, de texturas finas y con presencia de 15-35% de gravilla fina a media en el horizonte Ap, lo que genera baja retención de humedad y una velocidad de infiltración promedio de 26 cm/h. El espacio físico para las raíces, se caracteriza por una estructura en bloques subangulares finos que parten a muy finos en el primer horizonte y laminar media en el segundo, que pueden generar condiciones desfavorables en el movimiento vertical del agua y almacenamiento de humedad para las raíces del cultivo. Debido a su profundidad superficial y presencia de gravilla en el primer horizonte, presentan limitantes para los arbustos de olivo porque el suelo debe tener buena estructura para dar porosidad y profundidad radical efectiva a su sistema radicular que se expande entre los primeros 50 a 70 cm y requiere hasta 1 a 1.5 m de profundidad para su desarrollo, aprovechamiento y suministros adicionales de agua del suelo. Los olivos prefieren terrenos de textura franca, sin embargo, aunque los suelos arenosos no tienen la capacidad de retener agua ni elementos nutritivos le dan a la planta aireación especialmente cuando la precipitación es alta, contrario a lo que ocurre cuando las cantidades de arcillas son excesivas y generan limitación de la circulación del aire.

Con referencia a las características químicas del suelo, en lo que respecta al abastecimiento de nutrientes, y de acuerdo a resultados de análisis químico (tabla 1), estos suelos presentan relaciones Ca/K, Mg/K y (Ca+Mg)/K en desbalance, indicando deficiencias de K; fósforo bajo; niveles bajos de elementos menores para Mn, Cu y Zn a 20 cm de profundidad. Muestran también, reacción muy fuertemente ácida en los horizontes analizados (Ap, Bw, C1), con bases totales de Ca: 9.4, 7.5 y 8.8 Meq/100g Mg: 3.36, 304 y 302 Meq/100g, K: 0.15, 0.08, 0.10 Meq/100g respectivamente en los mismos horizontes y relación iónica Ca/Mg ideal.

El olivo tiene la capacidad de adaptarse a suelos ligeramente ácidos con pH de 6,1-6,5 y neutros con pH de 6,6-7,3. En suelos muy ácidos, la presencia de aluminio y manganeso afecta la actividad de los microorganismos que contribuyen

a la toma de nutrientes por la planta como P, Ca y Mg, así como la descomposición de la materia orgánica. Con pH superior a 7,3 la presencia de carbonatos de calcio hace que el fósforo se insolubilice, sin embargo algunas variedades soportan pH alcalinos (Consiglio Oleicolo Internazionale, (COI) 2007).

En lo que concierne a la materia orgánica del suelo, un grupo, se conforma por materiales en descomposición identificables de restos animales o vegetales de la población viva, en permanente metabolismo y resíntesis, su composición bioquímica (proteínas, resinas, ácidos grasos, etc.), es fuente de nutrientes para las plantas y los organismos del suelo que participan en la mineralización de los mismos (Zapata, 2013), la cual podría potenciar o no, la colonización por organismos en razón al contenido de materia orgánica de los suelos (Warda, Amina, Abdelkarim, Cherkaoui, Abdelmajid, Ahmed, Rachid & Allal, 2012). Un segundo grupo componente de la materia orgánica del suelo son las sustancias húmicas, resultado de procesos de humificación en los que los restos vegetales y animales del primer grupo son transformados hasta formar una sustancia de alta resistencia a la degradación por microorganismos y con una estructura química que varía según su origen. Estos ácidos húmicos juegan un papel importante en la estabilidad de agregados, la CIC, el control de la acidez, el reciclaje de nutrientes y la fertilidad (Zapata & Osorio, 2013). En concordancia con esto, debe garantizarse la presencia de materia orgánica para evitar la compactación y dar estabilidad estructural a los suelos, además, el tamaño y distribución de la población de los hongos del suelo se relacionan con la calidad y cantidad de materia orgánica que se aporta y los diferentes métodos de manejo del suelo que se emplean.

El suelo es el hábitat ideal para el desarrollo de diferentes microorganismos, debido a que de este obtienen materia orgánica como alimento, junto con minerales y exudados de las raíces, así como condiciones para su reproducción, y mientras coexisten allí, alteran las condiciones fisicoquímicas de este, ya sea por la degradación de la materia orgánica o por las interacciones microbianas que establecen (Jaizme & Rodríguez, 2008; Atlas & Bartha, 2001; Coyne, 2000) como parte de sus actividades vitales. La zona cercana a las raíces se denomina rizosfera y es el lugar donde existe mayor concentración de microorganismos, ya que, la actividad en la biomasa de las raíces como consecuencia de reacciones bioquímicas, produce unos exudados que contienen, según las especies vegetales, entre el 10 y el 50 % de la energía fijada por fotosíntesis (Reyes, 2002), estos son sustancias como azúcares, polisacáridos, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos cada una con funciones diferentes (Oliveros *et al*., 2009), que al ser ricos en compuestos carbonatados sirven de alimento a los microbios de la rizosfera que, a cambio, proporcionan minerales que necesita la planta, y desempeñan un papel importante para las plantas como atrayentes y repelentes químicos en la rizósfera (Bais *et al*., 2001; Estabrook & Yoder, 1998), poseen también características alelopáticas hacia otras plantas, absorben iones específicos (Hawes *et al*., 2000) y regulan las comunidades microbianas del suelo

según sea su estado nutricional (Nardi *et al*., 2000). Su producción está relacionada con condiciones como: grado de desarrollo de la planta, actividad microbiana, oxígeno, agua, estado nutricional entre otras. Pueden ser agrupados en dos conjuntos: los que poseen baja cantidad de mucílagos (bajo Mr) (aminoácidos, ácidos orgánicos, azúcares, fenoles y otros metabolitos secundarios) y los que poseen mayores cantidades (Mr) incluyen mucílagos (polisacáridos) y proteínas (Walker *et al*., 2003; Lynch & Whipps, 1990).

La asociación mutualista hongo-raíz o micorriza, juega un papel importante en la formación y estructura del suelo, le otorga resistencia a la planta contra estrés hídrico por el carácter hidrófobo de la glomalina que le da protección contra los procesos de excesivo secado y humedecimiento de los agregados (González, Gutiérrez & Wright. 2004), merma el ataque de fitopatógenos y potencia la movilización de nutrientes del suelo, principalmente del fósforo, el cual es solubilizado y aportado a la planta por algunos hongos formadores de micorrizas en los suelos del trópico, donde se presenta mayor necesidad (Warda *et al*., 2012; Cardoso & Kuyper, 2006; Colozzi & Cardoso, 2000; Sieverding, 1991; Allen, 1991) y al parecer también ayuda al secuestro de carbono terrestre (Nichols, 2003). En la asociación, planta-hongo micorrícico arbuscular (HMA), los hongos dependen de la planta para el suministro de carbono y energía, pero presentan una importante ventaja con respecto a otros hongos y microorganismos del suelo, debido a que tienen un abastecimiento constante directo de C orgánico desde su hospedante, al tiempo que entregan nutrientes minerales a la planta (Sieverding, 1989).

Las hifas de HMA desempeñan una función importante en la agregación del suelo debido a un trabajo mecánico de unión de partículas que recae en el micelio externo de los hongos, el cual es un importante agente de enlace al participar en el envolvimiento de estas, también una labor cementante por la presencia de polisacáridos extracelulares (Tisdall, 1991) con enlazamiento químico debido al mucigel (glomalina) que las hifas producen y excretan en las raíces colonizadas y en el suelo. Tanto el envolvimiento hifal como la glomalina forman microagregados y macroagregados pequeños que generan condiciones adecuadas para el desarrollo de otros microorganismos de la rizosfera que están involucrados en la formación y estabilidad de agregados (González, Gutiérrez & Wright, 2004), incrementando la resistencia a la erosión pues sus hifas parecen permanecer viables por mayor tiempo (Sánchez & Gómez, 2003; Zhu & Miller, 2003; Miller & Jastrow, 1992) y la vida media de la glomalina puede ser entre siete y 42 años, tiempo superior a la vida promedio de otros productos microbianos en el suelo (Nichols, 2003). Conjuntamente, la formación de agregados en la rizosfera está influenciada por otros factores como la presencia de materia orgánica, exudados de la raíz, jaleas bacterianas y lombrices de tierra (Rillig & Mummey, 2006).
Los HMA son el mayor componente de la biomasa microbiana en los suelos aptos para cultivo, están presentes en la mayoría de los suelos, constituyendo asociaciones simbióticas con un gran porcentaje de las plantas de interés

económico productivo o forestal (Hendrix, Guo & An, 1995), (Barrer, 2009). Estos hongos no se relacionan con familias de vegetales concretas, el efecto que tienen sobre ellas puede ser diferente de acuerdo con la especie vegetal que se trate, esto quiere decir que no son específicos, lo cual puede generar una modificación en la composición de especies de HMA en ambientes determinados (Clark, Zeto, & Zobel, 1999), e incluso el número de posibles esporas (Rilling, 2004). Cada variedad de olivo se comporta de manera diferente con respecto a la colonización del sistema radicular, entonces, existen diferencias en la capacidad de formar HMA entre diferentes variedades de olivo (Chatzistathis *et al*, 2013).

En el cultivo del olivo dedicado a producción de aceite o aceitunas de mesa, se han realizado trabajos que buscan mejorar la propagación, la adaptación a condiciones adversas de clima y suelo y absorción de nutrientes, motivo por el cual, en el presente artículo se evaluará la presencia de HMA a través de dos variables, el % de colonización y los contenidos de esporas por gramo de suelo seco y su relación con las condiciones físico químicas y biológicas del suelo rizosférico.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en dos fases: una de campo y una de laboratorio, en las cuales se procesaron 24 muestras que correspondían a 12 unidades experimentales (cada unidad estaba compuesta por dos arbustos). Los arbustos fueron podados 105 días antes de la toma de las muestras de suelo y raíces, a las plantas intervenidas no se les realizó ninguna labor de fertilización, riego o controles fitosanitarios antes de ni después de la poda.

Método para extracción, conteo de esporas y estimación del porcentaje de colonización por HMA

Durante la fase de campo se recolectaron 200 gramos de suelo de la zona de plateo para cuantificar las esporas a 20 cm de profundidad por 15 cm de ancho. A la par y para observar el porcentaje de micorrización, se recolectaron de la misma zona diez submuestras hasta completar 20 gramos de raíces secundarias y terciarias jóvenes donde se encontraron pelos absorbentes, se retiró el suelo adherido y se sumergieron en alcohol. Las muestras se guardaron en termos de poliestireno con refrigerante, hasta llegar al laboratorio.

En la fase de laboratorio para evaluación de la presencia de HMA se emplearon los siguientes reactivos: alcohol al 70% como preservativos de raíces, KOH al 10% (w/v hidróxido de K), HCl al 10% (v/v de ácido clorhídrico), colorantes: azul de

tripano 0.05% (w/v) en lactoglicerol (Phillips & Hayman, 1970), Glicerina-agua (50%) y preservativo H_2O_2 (al 10 % v/v) cuando se requirió aclaramiento adicional, dependiendo del grado de pigmentación de la raíz (Kormanik & McGraw, 1982) y aceite de inmersión. Como material de laboratorio se emplearon: tubos de ensayo, cajas de Petri y Beakers de 50 ml, pipetas graduadas de 5 y 10 ml y balones aforados de 100 ml, pinzas finas y para tubo de ensayo, agujas de siembra y/o transferencia y bisturí, porta y cubreobjetos, gradilla para tubos de ensayo, malla (100µm de poro) para transferir muestras, viales de plástico con tapa para almacenamiento de muestras, marcador y cinta de papel. También fueron empleados los siguientes equipos: estereoscopio, microscopio, balanza, baño maría, gradilla para muestras y plancha de calentamiento.

La extracción de esporas se desarrolló empleando los reactivos: solución de sacarosa al 70%, PVLG (Koske & Tessier, 1983) y PVLG: Melzer (Morton & Benny, 1990), también materiales como: jeringa normal para limpieza estereoscópica de las esporas, porta y cubreobjetos, gotero, espátula de punta fina, tubos para centrífuga de 50 ml y frasco lavador y equipos como: juego de tamices Nº. 10, 35, 125 y 325 (2 mm – 450 µm – 120 µm y 40 µm, respectivamente), microscopio, estereoscopio, centrífuga a 3350 rpm. en ángulo libre, jeringa para sacarosa, dispositivo colector de esporas y balanza con dos cifras significativas.

El método para extracción de esporas empleado fue el de Sieverding (1984), el cual consistió en la utilización de tres tamices superpuestos (710 µm, 45 µm y 38 µm respectivamente), en el tamiz superior (710 µm) se depositó cada muestra de 50 gramos de suelo, se lavó con abundante agua hasta que se estimó incolora al fluir por el último tamiz (38 µm), el material que quedó filtrado en el tamiz de 45 µm se depositó en dos tubos de centrifugado con capacidad para 13ml, del mismo modo se hizo con el que quedó acumulado en el de 38 µm; luego se agitó el fondo de cada tubo con ayuda de una espátula de punta fina, en seguida, con la jeringa para sacarosa se tomaron aproximadamente 40 ml de sacarosa al 70% y se adicionó a presión al fondo de cada tubo preparado hasta completar 13 ml. La jeringa se lavó superficialmente con agua, después de cada adición. A continuación, se llevaron los tubos a una centrífuga con ángulo libre, se equilibraron los pesos de los tubos con agua y se centrifugaron a 3600 rpm durante 4 minutos. Pasado este tiempo se extrajo con la jeringa para sacarosa la fase intermedia de los tubos llevando la manguera hasta este nivel y tomando todo lo existente hasta la unión de la fase acuosa con el suelo, principalmente el material contenido en el límite sacarosa–agua, donde se acumulan las esporas, el contenido de la jeringa se pasó por un tamiz de 45 y otro de 38 µm, se lavó con agua de grifo y con frasco lavador se pasó el material restante a cajas de Petri para limpieza y extracción manual de las esporas, las fracciones extraídas de cada tamiz se procesaron por separado.

El conteo de esporas de HMA se realizó en cajas de Petri con cuadrícula de 5 mm x 5 mm, en la que se depositaron las esporas de HMA en poca agua para reducir su movimiento, se ubicaron en el estereoscopio recorriendo toda la caja con objetivo 10X, cambiando a mayor aumento cuando hubo necesidad de distinguirlas claramente.

Para el procesamiento de raíces, se tomó el material recolectado y se lavó con agua de grifo para eliminar todo el suelo e impurezas, se tomaron sólo raíces finas menores de 1 mm de diámetro para facilitar la penetración de los reactivos y se extendieron de manera que no quedaran apretadas dentro del tubo de ensayo, se cubrieron completamente con KOH al 10% para que el aclaramiento fuera homogéneo. A continuación se llevaron los tubos de ensayo a baño maría a una temperatura de 90 ºC durante 15min; se pasaron por H_2O_2 por dos min. y enseguida se lavaron con agua del grifo. Se mantuvieron en HCl al 10% por 10 min. a temperatura ambiente y se lavaron nuevamente con agua del grifo. Una vez las raíces estuvieron blanqueadas se procedió a la tinción con azul de tripano al 0.05% al baño maría a 90 ºC durante 15 min; por último, se lavaron con agua para eliminar los excesos de tinción.

La estimación del porcentaje de colonización radical por HMA se efectuó por intersección de campos en placa montando 10 fracciones en paralelo de aproximadamente un centímetro de longitud sobre el portaobjetos para su observación en microscopio con objetivo 40X. Se recorrió cada portaobjetos en sentido horizontal y perpendicular de acuerdo a lo que sugieren Sánchez de P. *et al*. (2010). De cada muestra se reportaron campos negativos (sin presencia de estructuras colonizantes) y positivos (con presencia de estructuras colonizantes), con los reportes se efectuó el cálculo de porcentaje de colonización total por HMA con la fórmula:

$$\%\ colonización\ total\ por\ HMA = \left(\frac{C}{T}\right) x100$$

Donde:

C: Número de campos colonizados por cualquier estructura de HMA

T: Número total de campos observados

Método para análisis físicos y químicos del suelo rizosférico y de calles en el huerto

Como referente del suelo donde se plantaron los olivos se tomaron muestras de suelo de las calles del huerto así: primero se limpió la superficie del terreno para tomar a 20 y 30 cm de profundidad 5 submuestras de la rizósfera alrededor de la zona de plateo, se depositaron en un balde y se mezclaron para finalmente empacar 1 kg de suelo por arbusto.

Los materiales de laboratorio empleados fueron: vasos de precipitado, agitador, erlenmeyers, probeta, buretas, etc y reactivos, espectrofotómetro de absorción atómica, centrífuga, kit de textura, agua destilada, fosfato de sodio secundario, fosfato de potasio, CaCl2, Ca(OH)2, agua caliente, fosfato monocálcico, papel de filtro Whatman, embudos de porcelana, KCL, potenciómetro, electrodo de referencia, vasos de cartón, espátula de madera, acetato de amonio 1N, neutro, ácido clorhídrico, agua regia en la relación 1:3 de HNO3: HCl, espectrofotómetro de llama, fenolftaleína, bromocresol, ácido fosfórico, gotas de difenilamina, gotas de ortofenantrolina, cápsula de evaporación Coors, balón aforado y galvanómetro.

El método de laboratorio para análisis químico fue: pH: Relación 1:1, Acidez intercambiable: KCl 1 N, Materia Orgánica: Walkley–Black, Fósforo disponible: Bray II – Colorimetría, Ca – Mg –K – Na: Ext NH4Ac – Abs Atómica, C.E extracto de saturación (Conductivimetro), CIC: Método del acetato de sodio a pH 8.2, Bases intercambiables: eliminación de sales amoniacales por extracción, Determinación de Ca y Mg por complexometria, Diferenciación entre Al y H intercambiables.

El análisis físico se basó en los siguientes métodos**:** Textura: bouyoucos, estructura: tamizado de Yoder densidad real: picnómetro, densidad aparente: cilindro de volumen conocido, coeficiente de expansión lineal: saran, consistencia: límites líquido y plástico, porosidad total calculada, color: tabla Munsell.

Diseño experimental

El estudio se realizó en Colombia, departamento de Boyacá, municipio de Sutamarchán, vereda Roa, en el huerto “Olivanto”. Se implementó un diseño completamente al azar (DCA) como lo muestra la tabla 3.

Tabla 3. Diseño experimental del ensayo

Tratamiento	Poda	Repeticiones	Unidades experimentales	Edad de las plantas
T1	Vaso	4	2	5 años
T2	Globo	4	2	5 años
T3	Crecimiento libre	4	2	5 años
Variables dependientes	% colonización HMA. número de esporas, propiedades físicas y químicas del suelo rizosférico			

Análisis estadístico

Los datos fueron sometidos a comprobación de supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad de residuales; para aquellos que no violaban dichos supuestos se hizo ANOVA y para los que no, se realizó la prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis. En ambos casos para aquellos que presentaron diferencia significativa se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey (post ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de Kruskal-Wallis.

Para las variables de conteo como fijadores de nitrógeno, celulolíticos, solubilizadores de fosfatos, % de colonización y número de esporas, se utilizaron Modelos Lineales Generalizados (GLM) utilizando software estadístico R.
Con la finalidad de determinar posibles correlaciones entre las variables medidas (Características físicas, químicas y microbiológicas de la rizosfera de los olivos), además de reducir la dimensionalidad de los datos, se realizó un análisis de componentes principales empleando el software estadístico JMP 13, versión de prueba.

Las variables %MO y P al violar los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad de residuales se analizaron utilizando la prueba de Kruskal-Wallis software estadístico R.

El análisis estadístico se realizó a través de componentes principales que recoge el % de los datos con mayor variabilidad y se muestran los de mayor % de variabilidad.

El análisis muestra las correlaciones positivas y negativas que tienen las variables en cada tratamiento, entonces si la correlación es positiva significa que al aumentar una variable la que está en correlación también aumenta es decir que estas tienen sinergia, mientras que cuando la correlación es negativa indica que al aumentar una variable, la que está correlacionada disminuye es decir son antagónicas; para esto de toman valores superiores a 0,5 para variables positivas y –0,5 para variables negativas.

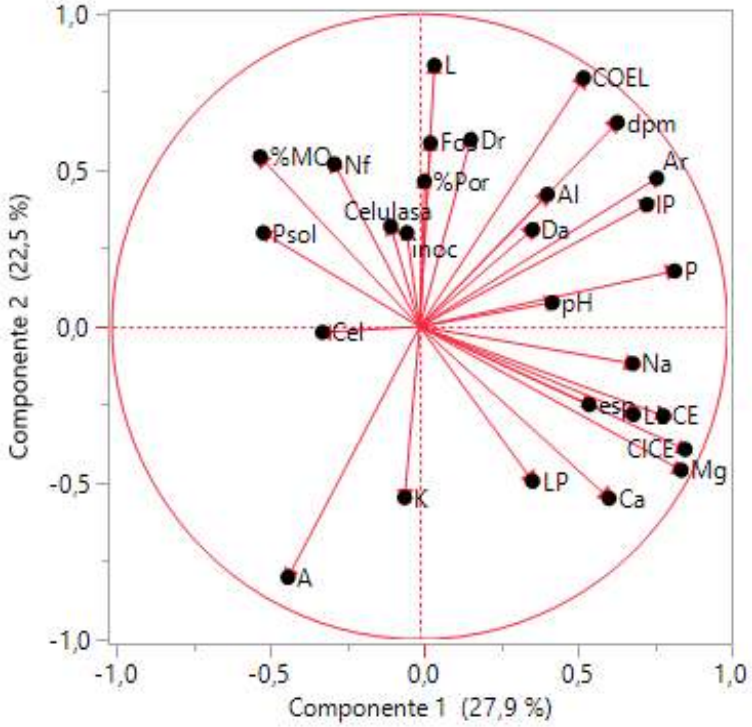
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de componentes principales

Los componentes principales indican el % de variabilidad de los datos de cada tratamiento respecto a las variables medidas, las gráficas muestran los componentes que mayor variabilidad tuvieron (fig. 2).

Para el caso de T1, se encontró que el componente 1 recoge el 27,9% de la variabilidad de los datos y el componente 2 el 22,5%, es decir que entre estos componentes se recoge el 50,4% de la variabilidad de los datos y se observa en este tratamiento que hay una correlación directa alta entre el % de colonización y la densidad real 0,76, % de poros 0,77, Al 0,60 y celulasa 0,62; mientras que para la variable número de esporas hay relación directa alta con el pH 0,83, Ca 0,83, Mg 0,71 y la CICE 0,66; por el contrario existe una relación inversa alta de la variable número de esporas con el % de MO de cuyo valor fue de -0,83.

Fig. 2. Componentes principales T1, poda en vaso



Cel= celulolíticos, Psol= solubilizadores de fosfatos, % MO= porcentaje de materia orgánica, Nf= fijadores de nitrógeno, inoc= % de colonización, %Por= porcentaje de poros, Fos= fósforo, Dr= densidad real, Da= densidad aparente, COEL= coeficiente de expansión lineal, Al= aluminio, dpm= diámetro ponderado medio, CE= conductividad eléctrica, IP= índice de plasticidad, Na= sodio, esp= % de esporas, CICE= capacidad de intercambio catiónica efectiva, Mg= magnesio, Ca= calcio, K= potasio.

Tabla 3. Matriz de correlación T1, poda en vaso

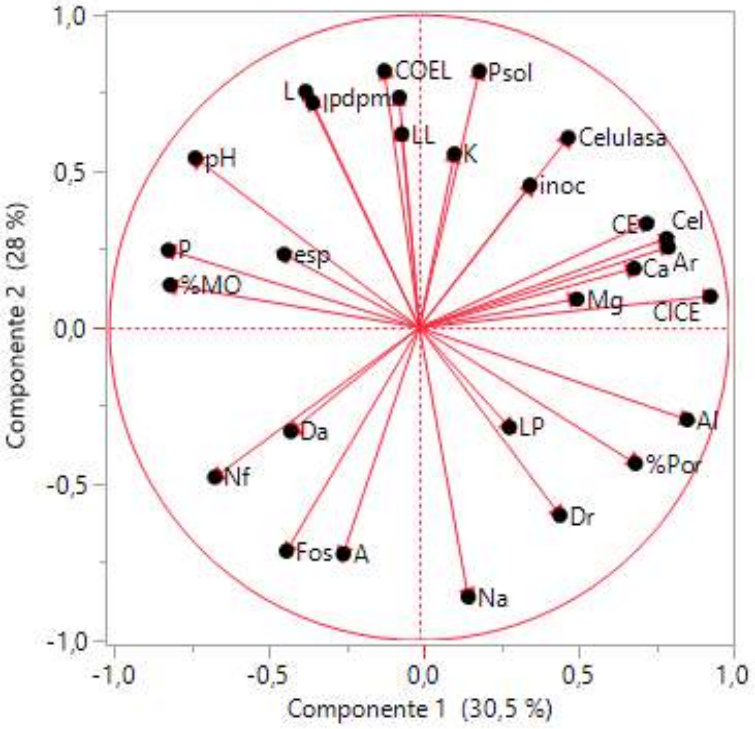
	% colonización	Número de esporas
% colonización	1	0,0685
Número de esporas	0,0685	1
Dr	0,7643	0,0493
Da	0,0379	-0,3745
A	0,1089	0,1076
L	-0,264	-0,2196
Ar	0,1309	0,0758
Dpm	0,2683	0,3418
LL	-0,0201	0,1942
LP	0,1294	0,1264
IP	-0,3005	0,1591
COEL	0,1928	-0,0103
%Por	0,7746	0,164
pH	0,2394	0,8377
Al	0,6023	-0,201
%MO	-0,0447	-0,8303
P	-0,3913	0,2559
Ca	-0,3019	0,8328
K	-0,0287	-0,1419
Mg	-0,0557	0,7139
Na	-0,0057	0,2896
CICE	0,0462	0,6697
CE	-0,3399	0,5121
Nf	0,3213	0,2236
Psol	0,094	-0,0818
Cel	-0,0212	-0,4889
Fos	0,0096	0,3281
Celulasa	0,6282	0,0735

Correlación positiva Correlación negativa

Dr= densidad real, Da=densidad aparente, A= arena, L0 Limo, Ar= arcilla, dpm= diámetro ponderado medio, LL= límite líquido, LP= límite plástico, COEL= coeficiente de expansión lineal, %Por= porcentaje de poros, Al= aluminio, % MO= porcentaje de materia orgánica, P= fósforo, Ca= calcio, K= potasio, Mg= magnesio, Na= sodio, CICE= capacidad de intercambio catiónica efectiva, CE= conductividad eléctrica, Nf= fijadores de nitrógeno, Psol= solubilizadores de fosfatos, ,cel= celulolíticos, Fos= fosfatasa.

La fig. 3 muestra que en T2 el componente 1 recoge el 30,5% de los datos y el componente 2 el 28%, es decir, estos dos componentes muestran que en este tratamiento la variabilidad de los datos para fue de 58,5% donde se aprecia que hay relación relación directa alta positiva entre % colonización y solubilizadores de fosfatos 0,75 y relación inversa alta de esta variable con la densidad aparente 0,74 y media con el % de MO de 0,58; para el número de esporas se observa una correlación directa alta entre estas y el límite líquido (LL)de 0,76 y con el pH de 0,69, correlación media con el % de MO en 0,55 e indirecta con el Al en -0,62.

Fig. 3. Componentes principales T2, poda en globo



% MO= porcentaje de materia orgánica, Nf= fijadores de nitrógeno, Psol= solubilizadores de fosfatos, cel= celulolíticos, inoc= % de colonización, %Por= porcentaje de poros, Fos= fósforo, Dr= densidad real, Da=densidad aparente, Al= aluminio, dpm= diámetro ponderado medio, CE= conductividad eléctrica, IP= índice de plasticidad, LL= límite líquido, LP= límite plástico, COEL= coeficiente de expansión lineal, Na= sodio, esp= número de esporas, CICE= capacidad de intercambio catiónica efectiva, Mg= magnesio, Ca= calcio, K= potasio, Fos= fosfatasa.

Tabla 4. Matriz de correlación T2, poda en globo

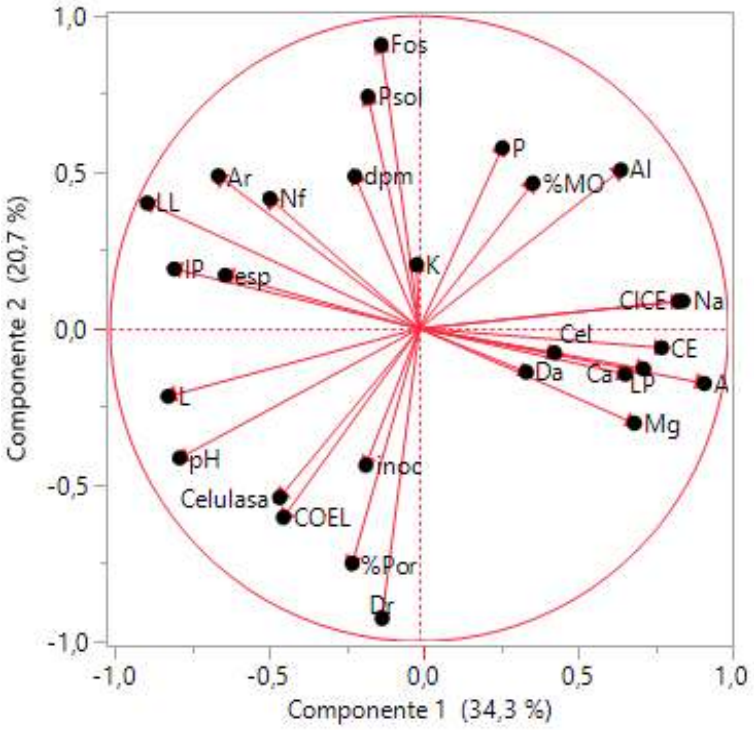
	% colonización	Número de esporas
% colonización	1	-0,1476
Número de esporas	-0,1476	1
Dr	-0,3192	-0,1876
Da	-0,7448	-0,1379
A	-0,2805	-0,3586
L	0,346	0,4172
Ar	0,0615	-0,3862
dpm	0,2258	0,1138
LL	0,304	0,7652
LP	0,307	0,3057
IP	-0,1416	0,1417
COEL	0,2436	-0,0829
%Por	0,1	-0,1079
pH	0,1441	0,6973
Al	0,016	-0,6256
%MO	-0,5829	0,5564
P	-0,4538	0,2858
Ca	0,3256	0,2446
K	0,3068	-0,2662
Mg	0,2619	-0,4261
Na	-0,3995	-0,3834
CICE	0,3118	-0,2433
CE	0,0424	-0,2566
Nf	-0,4584	0,3493
Psol	0,7552	0,239
Cel	0,1588	-0,1717
Fos	-0,4098	0,3859
Celulasa	0,3571	0,0058
Correlación positiva	Correlación negativa	

Dr= densidad real, Da=densidad aparente, A= arena, L0 Limo, Ar= arcilla, dpm= diámetro ponderado medio, LL= límite líquido, LP= límite plástico, COEL= coeficiente de expansión lineal, %Por= porcentaje de poros, Al= aluminio, % MO= porcentaje de materia orgánica, P= fósforo, Ca= calcio, K= potasio, Mg= magnesio, Na= sodio, CICE= capacidad de intercambio catiónica efectiva, CE= conductividad eléctrica, Nf= fijadores de nitrógeno, Psol= solubilizadores de fosfatos, ,cel= celulolíticos, Fos= fosfatasa

El análisis de componentes principales (figura 4) muestra que en T3 el componente 1 recoge una variabilidad de los datos de 34,3%, mientras que en el componente 2 la variabilidad fue del 20,7% para un total de variabilidad del 50,7% de ambos componentes, se observa que existe una relación directa alta del

porcentaje de colonización con la densidad aparente de 0,69 y media con la celulasa de 0,57 e indirecta media con el Al de -0,55 y los solubilizadores de fosfatos con -0,59. Para la variable número de esporas la relación directa alta se da así: L 0,74, LL 0,65 e índice de plasticidad (IP) 0,66 y es inversa alta con A -0,72 y límite plástico (LP) -0,63 e indirecta media con Mg -0,50.

Fig. 4. Componentes principales T3, crecimiento libre



Cel= celulolíticos, Psol= solubilizadores de fosfatos, % MO= porcentaje de materia orgánica, Nf= fijadores de nitrógeno, inoc= % de colonización, %Por= porcentaje de poros, Fos= fósforo, Dr= densidad real, Da= densidad aparente, Al= aluminio, dpm= diámetro ponderado medio, LL= límite líquido, LP= límite plástico, IP= índice de plasticidad, COEL= coeficiente de expansión lineal,CE= conductividad eléctrica, IP= índice de plasticidad, Na= sodio, esp= número de esporas, CICE= capacidad de intercambio catiónica efectiva, Mg= magnesio, Ca= calcio, K= potasio.

Tabla 5. Matriz de correlación T3, crecimiento libre

	% colonización	Número de esporas
% colonización	1	-0,0639
Número de esporas	-0,0639	1
Dr	0,3032	-0,4131
Da	0,3315	-0,4398
A	0,103	-0,2771
L	-0,3788	-0,5349
Ar	0,1941	0,6713
dpm	0,3952	-0,0006
LL	0,0105	0,3193
LP	0,062	0,3298
IP	-0,0121	0,2036
COEL	-0,2256	-0,5382
%Por	-0,3405	0,474
pH	-0,5407	0,3202
Al	0,405	-0,0726
%MO	0,0414	-0,3324
P	0,2321	-0,0578
Ca	-0,5346	0,1539
K	-0,2779	0,0032
Mg	-0,2873	0,8154
Na	-0,5624	0,2101
CICE	-0,5132	0,2077
CE	0,442	0,0142
Nf	-0,4478	0,0625
Psol	-0,591	0,049
Cel	-0,2059	-0,2658
Fos	-0,4985	0,0556
Celulasa	0,5717	-0,1369

Correlación positiva Correlación Negativa

Dr= densidad real, Da=densidad aparente, A= arena, L0 Limo, Ar= arcilla, dpm= diámetro ponderado medio, LL= límite líquido, LP= límite plástico, COEL= coeficiente de expansión lineal, %Por= porcentaje de poros, Al= aluminio, % MO= porcentaje de materia orgánica, P= fósforo, Ca= calcio, K= potasio, Mg= magnesio, Na= sodio, CICE= capacidad de intercambio catiónica efectiva, CE= conductividad eléctrica, Nf= fijadores de nitrógeno, Psol= solubilizadores de fosfatos, ,cel= celulolíticos, Fos= fosfatasa

En la tabla 6, se aprecian las variables significativas con análisis de Kruskal-Wallis, el valor de una distribución de H2 con 2 y 21 grados de libertad respectivamente, los 2 de tratamientos y 21 de residuales, donde el valor de probabilidad muestra significancia a un nivel de 0,01. Los valores del análisis de la prueba post hoc Dwass-Steel-Critchlow Fligner que es una prueba de comparación pareada que muestran la evidencia de la diferencia significativa entre T1 y T3 para %MO y los tratamientos T2 y T3 para P.

Tabla 6**.** Resumen del análisis Kruskal-Wallis y la prueba *post hoc* para las variables significativas

Variable dependiente	**Kruskal-Wallis H**	**Rango medio**	**Valor [1]DSCF**		**[2]*Pr* >DSCF**
%MO	$H_{2, 21}$=11,475; *p*=0,0032	T1=7,25	T1 vs. T2	1,639	0,478
		T2=11,25	T1 vs. T3	4,618	0,003
		T3=19,0	T2 vs. T3	3,124	0,070
P	$H_{2, 21}$=10,291; *p*=0,0058	T1= 13,94	T1 vs. T2	0,966	0,773
		T2= 17,31	T1 vs. T3	2,673	0,141
		T3= 6,25	T2 vs. T3	4,753	0,002

[1]DSCF Dwass-Steel--Critchlow-Fligner prueba para análisis de comparación múltiple para prueba de Kruskal-Wallis, [2]Pr probabilidad

De otra parte y de acuerdo con el análisis Modelo Lineal Generalizado (GLM) se observa que hay efecto de los tratamientos en las UFC/g de solubilizadores de fosfatos (SP) y fijadores de nitrógeno (FN), se realizó un ajuste a una regresión Poisson con una función de enlace logarítmica, los resultados de la regresión Poisson mostraron diferencias altamente significativas con (P<0,0001) entre los tratamientos T1 Vs T2 y T1 Vs T3. Para la variable número de esporas se hizo igualmente una regresión Poisson con una función de enlace logarítmica y los resultados de la regresión indicaron diferencia significativa con (P<0,0001) entre T1 Vs T2, T2 Vs T3 y T1 Vs T3. Para la variable % de colonización no se detectó diferencia significativa entre los tratamientos evaluados.

El estudio halló un alto porcentaje de colonización radicular de olivo por HMA, alcanzando un promedio de 72,5, 76 y 76,2% respectivamente en todos los tratamientos, bajo unas condiciones de baja precipitación y temperatura promedio día 29,9 y noche 12,8ºC (figura 1) situación que no parece estar influenciada por el factor poda, estos datos coinciden con lo reportado por Mekahlia *et al*. (2013) quienes encontraron que en clima semiárido y húmedo el porcentaje fue de 67%, el cual varió en el tiempo entre 67,92% en 2010, 60,52% en 2011 y 65,87% en 2012 y también en las estaciones con 57,04% en invierno y 72,50% en primavera. Esto indica que los hongos pueden ser abundantes en suelo seco porque ayudan en la toma de agua y pueden abundar en suelo húmedo para ayudar en la toma de nutrientes. Por su parte, Medad-Hamza *et al*. (2010) encontraron que el olivo

muestra una alta dependencia por las micorrizas con 51,06% para *G. mosseae* y 69,96% para *G. intraradices*, mostrando un marcado efecto sobre el crecimiento de la planta olivarera. Por su parte, Warda *et al*. (2012) en su trabajo en Marruecos encontraron que los porcentajes de colonización estaban relacionados con el contenido de fósforo disponible en el suelo y las frecuencias e intensidades de infección micorrícica. Según sus investigaciones con diferentes variedades de olivo y en diferentes lugares, el porcentaje de colonización oscila entre una media de 30% (Tamzazit) a 96% (Khnichat) y de 0% (Tamzazit) a 30% (Khnichat) respectivamente.

El conteo de esporas por cada 50 g de suelo seco reportó el valor más bajo para T1 con 3557, T2 con 4551 y T3 con 4538 el más alto, lo cual es un número elevado comparado con lo reportado por Warda *et al*. (2012) quienes encontraron que el número de esporas por cada 100 g de suelo extraído de la rizósfera de los olivos fue diferente según el suelo, así por ejemplo en algunos sitios encontraron entre 100 y 160 esporas mientras que en otros las cantidades estuvieron entre 30 y 80 por cada 100g de suelo rizosférico.

De otra parte, y respecto a los resultados de las propiedades físicas (tabla 7), la densidad real y la densidad aparente (DA) no mostraron diferencia entre tratamientos, la DA tiene un valor de 1.1g/cm^3, considerada friable es decir son suelos porosos que mostraron valores de 47,2, 48,1 y 47,9% para T1, T2 yT3 respectivamente, está propiedad que tampoco mostró diferencias entre tratamientos al igual que el diámetro ponderado medio (dpm) de los agregados del suelo, cuyos valores fueron de 3,2, 3,4 y 3,3mm respectivamente, valores considerados, moderadamente estable, de acuerdo con parámetros del IGAC, entonces y teniendo en cuenta que los HMA producen exudados proteicos (Glomalinas), estos están correlacionados positivamente con la estabilidad de los agregados (Tekaya *et al.,* 2016). Aunque en el presente ensayo no hay correlación de componentes principales respecto a esta variable, se aprecia buena estabilidad estructural favorecida por la presencia del micelio fungoso teniendo en cuenta el alto porcentaje de colonización. En esta simbiosis de hongo raíz también intervienen las bacterias del suelo que se asocian al micelio externo de los HMA y están embebidas en la capa externa de la pared, la cual es mucilaginosa. Lo que puede estar ocurriendo en el suelo rizosférico del olivo debido a la presencia de microorganismos celulolíticos, fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos, medidos en el presente ensayo. Se conoce poco acerca de las propiedades de este mucigel, pero se ha observado que este material es acumulable y que el grosor de la pared hifal se incrementa con la edad (González *et al*., 2004).

Al encontrar un dpm de partícula estable se ve favorecido el valor de la densidad aparente que corresponde a un suelo agrícola entre 1.0 y 1.2 g/cm^3, esto hace que el valor de % poros totales esté por encima del 50%, características que facilitan la

infiltración, profundidad radical efectiva y circulación de aire, razón por la cual se encuentra una correlación directa alta entre el % de colonización y el % de poros totales en T1, sin embargo no ocurre así para T2 y T3, lo que puede explicarse debido a que igualmente hay una correlación alta con la enzima celulasa que favorece la degradación de celulosa y contribuye a la estabilidad de los agregados. La función de los microorganismos además de segregar enzimas para degradar moléculas es por ejemplo, estimular la secreción en las raíces, en particular en los pelos radicales, de este modo las hifas de los hongos exudan polisacáridos y otros compuestos orgánicos formando una malla pegajosa que une a las partículas individuales del suelo y micro agregados para formar macro agregados (González *et al*., 2004).

En lo referente a las condiciones químicas se observó lo siguiente (tabla 5): el pH no mostró diferencias estadísticas, los valores para T1 y T2 están catalogados como muy fuertemente ácidos, mientras que para T3 como fuertemente ácido. En los tres casos este nivel de pH limita la toma de nutrientes y provoca fijación de P a causa del Al, que tampoco reportó diferencias significativas; contrario a lo ocurrido en el Alto Ricaurte, en los ensayos realizados por Warda *et al*. (2012) existen reportes de suelos alcalinos con pH entre 7,7 y 8,3 donde los niveles de fósforo se bloquean por Ca, razón por la cual los HMA muestran altos niveles de colonización. Troncoso de Arce *et al.* (2005), demostraron un efecto positivo de la colonización con HMA superior al 69%, donde con un pH 7 la planta tuvo un buen desempeño en la absorción de P, Fe y agua.

La variable % de M.O. mostró que hay diferencia estadística significativa de acuerdo con la prueba DSCF posterior a un Kruskal-Wallis con un (Pr>DSCF 0,003) entre los tratamientos T1 y T3, lo que seguramente puede estar relacionado con la pérdida de hojas del centro del arbusto en crecimiento libre, que caen en la zona de plateo y se incorporan como materia orgánica, esta caída de hojas puede obedecer a que el olivo con más hojas jóvenes en las ramas altas, pierde las hojas del centro de la copa por poca entrada de luz y hojas de mayor edad, un mecanismo de la planta para mantener la dominancia apical en la cual emplea la mayor cantidad de nutrientes absorbidos. Por otro lado, en las plantas intervenidas, la pérdida de hojas es baja dado que el flujo de savia determinado por la cantidad de hojas presentes en una rama, está sincronizado con el diámetro del sistema conductor encargado del transporte de flujos en sentido acrópeto, de la base hacia el ápice, además la radiación solar está penetrando de forma más uniforme, lo que favorece la fotosíntesis de hojas al medio de la copa (García-Ortiz *et al.,* 2009) (Casierra- Posada & Fischer, 2012).

Tabla 7. Resultados promedio de análisis físico del suelo rizosférico de olivo por tratamiento de las unidades experimentales

Tratamiento	[1]Dr g/cm^3	[2]Da g/cm^3	[3]A %	[4]L %	[5]Ar %	[6]Dpm (mm)	[7]%Por
T1 (poda en vaso)	2,21375	1,17	32,88	38,5	28,495	3,2175	47,2160895
T2 (poda en globo)	2,2175	1,15125	34,63	37,25	28,12	3,45625	48,1390342
T3 (C. libre)	2,26	1,1775	31,63	39	29,12	3,36625	47,9548857

[1]Densidad real, [2]Densidad aparente, [3]Arena, [4]Limo, [5]Arcilla, [6]Diámetro ponderado medio, [7]Porcentaje de poros

En los reportes de análisis químicos (tabla 8), para la variable % MO los valores más bajos estuvieron en 0,19 y 0,24 y fueron mostrados por T1R4b y T2R1a respectivamente, calificados como bajos; mientras que el valor más alto con 3,22 lo obtuvo T3R1a seguido de T3R2b con 2,76% y 2,7% de T3R3b, que se encuentran entre el rango medio.

Para el caso de la variable P, se mostró una diferencia significativa a un Pr>DSCF de 0,002 entre los tratamientos T2 y T3, lo que indica que fue afectado por la poda, dado que la no intervención del arbusto y su mayor tamaño implican mayor consumo de P para mantener ramas y hojas, no obstante, los requerimientos de P por el olivo son bajos; vale la pena resaltar que los valores reportados en el análisis de suelo muestran que en general el P en los tres tratamientos está en exceso (243, 291,3 y 235.4ppm respectivamente); valores extremadamente altos teniendo en cuenta que el fósforo reportado en el análisis del suelo de las calles del cultivo (tabla 1) tiene un valor de 6,08 ppm, de esta diferencia se presume que el P reportado para la zona rizosférica puede tener origen en la materia orgánica y las adiciones de fertilizante con altos niveles de P durante el tiempo de crecimiento y desarrollo del arbusto en razón de 2000 g por planta/año.

Por su parte, el Ca no mostró diferencias entre tratamientos y se halló con valores ideales para este elemento en el suelo. EL K tampoco mostró diferencias respecto de los tipos de poda y reportó valores altos en todos los tratamientos dado que el valor límite en el suelo es de 0,4 meq/100g. y en el suelo se encuentra entre 1,3 y 1,4 meq/100g.

Todos los valores del Na estuvieron por debajo de 1 meq/100g (tabla 6) considerado ideal y en ningún caso mostró diferencia con los tratamientos; de otra parte, la variable CICE tampoco mostró diferencia para ningun tipo de poda y se encontró un comportamiento ideal para todos los tratamientos con valores entre 10 y 20 meq/100g, al igual que la CE que corresponde a un suelo normal con valores inferiores a 2 dS/m donde T2R1a reportó el valor más bajo con 0,32 dS/m y T3R2b el más alto con 1,1 dS/m.

Tabla 8. Resultados promedio de análisis químico del suelo rizosférico por tratamiento de las unidades experimentales

Tratamiento	pH	[1]Al	[2]%MO	[3]P	[4]Ca	[5]K	[6]Mg	[7]Na	[8]CICE
T1 (poda en vaso)	4,8075	0,9875	1,69875	243	8,29625	1,451	3,54	0,10875	14,3475
T2 (poda en globo)	4,9625	1,1	2,49625	291,375	8,1425	1,32625	3,69625	0,11375	14,37875
T3 (C. libre)	5,4125	0,15	2,53875	235,425	9,76625	1,4475	3,7475	0,10875	15,22

[1]Aluminio, [2]%de materia orgánica, [3]fósforo, [4]calcio, [5]potasio, [6]magnesio, [7]sodio, [8]capacidad de intercambio catiónico efectiva.

De los microorganismos asociados a la rizósfera (tabla 9), los fijadores de nitrógeno de vida libre mostraron el valor más bajo en T2, al igual que los solubilizadores de fosfatos, entre tanto, los reportes para microorganismos celulolíticos mostraron las poblaciones más bajas de todos los microorganismos evaluados. En este sentido, se considera que existen interacciones microbianas cuya finalidad es el abastecimiento de nutrientes para los microorganismos que participan en la misma, y la presencia de fijadores de nitrógeno (FN) en suelo rizosférico parece estar asociada con la presencia de micorriza, dado que esta demanda N para aportar a la planta (Atlas & Bartha, 2001).

El comportamiento de la actividad enzimática de la fosfatasa (tabla 6) registró el valor más bajo para T2 con 57,03µM/min*g y la mayor actividad en T3 con 178,9 µM/min*g. Para el caso de la actividad de la celulasa se reportaron valores de 1,3, 1,5 y 1,6, 6 µM/min*g. La actividad enzimática está directamente relacionada con la cantidad de materia orgánica presente en el suelo y como se aprecia en los resultados, la actividad de la celulasa fue mayor en T3 y mostró además diferencia estadística con los demás tratamientos respecto al % de M.O., a pesar de no mostrar diferencia con la actividad de la celulasa si fue el tratamiento que mostró mayor actividad de esta enzima. Igualmente ocurrió con la fosfatasa que muestró mayor actividad en T3, pero en este caso el P fue menor, es decir, esta enzima contribuye a mineralizar el elemento presente en la M.O.

Tabla 9. Resultados promedio de microorganismos y enzimas por tratamiento de las unidades experimentales

Tratamiento	[1]Nf	[2]Psol	[3]Cel	[4]Fos	[5]Celulasa
T1 (poda en vaso)	170500	316000	6,25	77,969625	1,39125
T2 (poda en globo)	47625	57625	13,75	57,03325	1,55725
T3 (C. libre)	152000	131625	5	178,9185	1,6405

[1]Fijadores de Nitrógeno, [2]Solubilizadores de Fósforo, [3]Celulolíticos, [4]Fosfatasa, [5]Celulasa

CONCLUSIONES

En lo que concierne al número de esporas encontradas en suelo rizosférico se aprecia que hay efecto del factor poda, al igual para la variable % de colonización de raíces solo se aprecia el efecto del factor y en ambos casos no se aprecia diferencia entre tratamientos, dado que para ambas variables la presencia es alta en cada tratamiento, sin embargo el impacto del factor poda puede obedecer a que el sistema radicular de las plantas intervenidas tengan exudados diferentes en cantidad y calidad por el impacto que genera el corte de la copa y pérdida de material vegetativo

No hay relación entre la colonización de HMA y las formas de poda en el olivo, sin embargo, para el caso del número de esporas encontradas en suelo rizosférico se aprecia que hay efecto del factor poda,

El estudio halló un alto porcentaje de colonización radicular de olivo por HMA, alcanzando un promedio por tratamiento de 72,5, 76 y 76,2% respectivamente, situación que no parece estar influenciada por el factor poda.

En lo referente a las propiedades físicas ninguna variable mostro diferencias estadísticas, solo se muestra diferencia significativa entre T1 y T3 para %MO y entre T2 y T3 para P.

En lo referente a las condiciones químicas, se observó que el pH tuvo relación positiva en los tratamientos poda en vaso y globo con número de esporas; por otro lado, el Al tuvo relación positiva en poda en vaso con % de colonización y negativa en globo con número de esporas, además, el Ca, Mg y CICE tuvieron relación positiva en poda en vaso con número de esporas y el Mg relación negativa en crecimiento libre con número de esporas.

Para los microorganismos se encontró relación positiva de solubilizadores de fosfato en poda en globo con % de colonización, y negativa con crecimiento libre, mientras que para la actividad de la celulasa se observó relación positiva para vaso y crecimiento libre.

BIBLIOGRAFÍA

Allen, M. (1991). The Ecology of Mycorrhizae. Reino Unido: University Press, Cambridge.

Barranco, D. Escobar Fernández, R. & Rallo, L. (2008). El cultivo de Olivo. ED., Mundi-prensa. España. 799 pp

Barrer, S. (2009). El uso de Hongos Micorrízicos Arbusculares como una alternativa para la agricultura. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander, Escuela de Biología, Facultad de Ciencias.

Bueno, M. (2011). Aceite de oliva y salud. Universidad de Zaragoza. Disponible En:http://www.scptfe.com/inic/download.php?idfichero=547.>Citado el 13 de Julio de 2014].

Cardoso, I y Kupier, T. (2006). Mycorrhizas and tropical soil fertility. Agric. Ecosyst. Environ. 116:72 – 84.

Clark, R., Zeto, S., & Zobel, R. (1999). Arbuscular mycorrhizal fungal isolates effectiveness on growth and root colonization of panicun virgatum in acidic soil. Pennsylvania: Biochem.

Coyne, M. (2000). *Microbiología del Suelo: Un Enfoque Exploratorio.* Editorial Paraninfo. España 416 p.

Colozzi, A., & Cardoso, E. (2000). Detecção de fungos micorrízicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalária cultivada na entrelinha. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2033-2042.

García, F. (2012) Acercamiento a la olivicultura en Boyacá. Cultura Científica *ISSN:* 1657-463X *ed:* JOTAMAR LTDA. *v.*8 p.8 - 14

García, F., Gil, P., & Carrillo, A. (2009). Caracterización y calidad de un abono orgánico fermentado aof preparado con residuos del proceso de industrialización de la papa (Solanum tuberosum L). Revista Logos, Ciencia & Tecnología, 1(1).

González, M., Gutiérrez, M., & Wright, S. (2004). Hongos Micorrízicos Arbusculares en La Agregación Del Suelo y Su Estabilidad. Terra Latinoamericana, 507 - 514.

Hendrix, J.W., Guo, B.Z., AN, Z.-Q., (1995). Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems. Plant and Soil. 170, 131-140

Jaizme, V. y Rodríguez, A. (2008). Integración de microorganismos benéficos (hongos micorríticos y bacterias rizosféricas) en agrosistemas de las Islas Canarias. Agroec. 3:33 – 39.

Meddad-Hamza, A., Beddiar, A., Gollotte, A., Lemoine, M., Kuszala, C. & Gianinazzi, S. (2010). Los hongos micorrízicos arbusculares mejoran el crecimiento de los olivos y su resistencia al estrés del trasplante. African Journal of Biotechnology. Doi**:** http://dx.doi.org/10.5897/AJB09.1282

Miller, R., & Jastrow, J. (1992). The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. American Society of Agronomy, 247-251.

Morton, J., & Benny, J. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes), A new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, ando two new families, Acaulosporacea and Gigasporeceae, with an emendation of glomeceae. Virginia: West Virginia University.

Nichols, K. (2003). Characterization of glomalin, a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi. PhD dissertation. University of Maryland. College Park, MD.

Reyes, J.I., (2002). Asociaciones biológicas en el suelo: la micorriza arbuscular (MA). Contactos 44, 5-10.

Rilling, M. C. (2004). Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil aggregation. Canadian Journal of Soil Science, 178-185.

Sánchez De Prager, M., Posada, R., Velázquez, D., & Narváez, M. (2010). Metodologías básicas para el trabajo con micorriza arbuscular y hongos formadores de micorriza arbuscular. *Universidad Nacional de Colombia sede Palmira*.

Sánchez, P., & Gómez, E. (2003). El suelo: Las micorrizas, los fijadores de nitrógeno y la economía en los agroecosistemas. Cuadernos ambientales No. 8. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.

Sieverding, E. (1989). La micorriza un componente biotecnológico en la producción forestal ciencia y tecnología. Colombia: Facultad de Ciencias Agronómicas.

Sieverding, E. (1991) Vesicular –arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystem. GTZ Federal Republic of Germany. 330 pp

Tisdall, T. (1991). Fungal hyphae and structural stability of soil. Aust. J. Soil Res, 729-743.

Troncoso de Arce, A., Liñán Benjumea, J., Carretero, M. C. L., García Fernández, J. L., Troncoso Mendoza, J., García Liñán, M., & Cantos, M. (2005). Influencia de la micorriza vesículo arbuscular Glomus Fasciculatum, sobre el desarrollo de plantas jóvenes de olivo. *XII Simposium Científico-Técnico Expoliva*, Recuperado en 4 de abril de 2018, de: http://hdl.handle.net/10261/71560

Warda K, Amina O, Abdelkarim F, Cherkaoui E, Abdelmajid M, Ahmed O, Rachid B. & Allal D. Analysing natural diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in olive tree (Olea europaea L.) plantations and assessment of the effectiveness of native fungal isolates as inoculants for commercial cultivars of olive plantlets

Zhu, Y.G., Miller, R.M. (2003). Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. Trends in Plant Science, 8, 407-409.

CAPÍTULO III

MICORRIZAS ARBUSCULARES Y ABSORCIÓN DE NUTRIENTES POR EL OLIVO BAJO DOS TIPOS DE PODA

ARBUSCULAR MYCORRHIZAE AND ABSORPTION OF NUTRIENTS THROUGH THE OLIVE TREE UNDER TWO TYPES OF PRUNING

Resumen

Entre algunos hongos del suelo y las raíces de aproximadamente el 90% de los vegetales ocurre la micorrización, en la que el hongo obtiene exudados de la raíz para su metabolismo y en la planta se modifica la absorción de nutrientes con la disponibilidad a elementos que están presentes en el suelo en concentraciones bajas, inmovilizados o en zonas inaccesibles para sus raíces; en los olivos del trópico existe un alto porcentaje de micorrización no obstante la presencia de P, Ca, Mg y B en cantidades excesivas, pero con pH fuertemente ácido, razón por la cual, se evaluó la presencia de HMA y su relación con la absorción de nutrientes en olivos con dos tipos de poda cultivados en el alto Ricaurte mediante un diseño completamente al azar, como variables independientes se manejaron tres tratamientos: poda en vaso, poda en globo y crecimiento libre, como variables dependientes: número de esporas de HMA, % de colonización en suelo y raíz y en la hoja: composición química, FDA, FDN, LDA, ácidos grasos, proteína y N orgánico. Se realizaron: pruebas paramétricas de normalidad de Shapiro Wilk, coeficiente de correlación de Pearson, análisis de varianza y pruebas de comparación de promedios de Tukey. El análisis de componentes principales fue realizado con el paquete estadístico SAS. Los resultados indican que la presencia de micorrizas en la rizósfera del olivo en el alto Ricaurte está relacionada con la disponibilidad de nutrientes.

Palabras clave

Ácidos grasos, fosfatos en olivos, nitrógeno orgánico en olivos, nutrientes en hojas de *Olea europaea* L

Abstract

The Mycorrhization occurs among roots of approximately 90% of the vegetables and fungi from the soil. In doing so, the fungus obtains exudates from the root for its metabolism and the other hand the plant transforms the absorption of nutrients and the elements that are in the soil at low concentrations. Immobilized or inaccessible areas for its roots. The Olive trees in the tropic has a high percentage of mycorrhization. However, elements as P, Ca, Mg, and B are present in excessive amounts, but a strongly acid pH. Therefore, the presence of HMA was evaluated and the relation with the absorption of nutrients in olive trees with two types of pruning which are grown in the Alto Ricaurte through a completely random design. Thus, three treatments was carried out on independent variables as "goblet" pruning, "balloon" pruning and free growth, On the other hand, dependent variables as the HMA spores percentage, percentage of colonization in the soil, roots and leaves. And chemical composition: FDA, NDF, LDA, fatty acids, protein and organic N. Moreover it was made parametric tests of normality of Shapiro Wilk, Pearson's correlation coefficient, analysis of variance and Tukey averages comparison tests, which was done with the statistical package SAS. As a result, the presence of mycorrhizae in the rhizosphere of the olive tree in the high Ricaurte is related to the scarcity of water and the availability of nutrients, even though these are in the soil they are not available for the plant.

Key words
Fatty acid, phosphates in olive trees, organic nitrogen in olive trees, nutrients in leaves of *Olea europaea* L.

INTRODUCCIÓN

Entre algunos hongos del suelo y las raíces de aproximadamente el 90% de las plantas (Simon *et al*., 1993), transcurre una asociación mutualista conocida como micorrización, en la que las dos partes se proveen recíprocamente de beneficios. El hongo muestra dependencia de la planta para obtener los exudados de nutrimentos orgánicos útiles para su metabolismo, mientras que la morfología del sistema radicular se modifica por el intercambio bidireccional de carbono y fósforo (Ducic *et al*., 2008), también se modifica la absorción de nutrientes por las plantas (Malusa *et al*., 2007) Citernesi, Vitagliano & Giovannetti (2015), con la exudación al medio de auxinas giberelinas y citoquininas que favorecen la elongación de la raíz para la toma de Ca, B, K (Marulanda *et al*., 2007; Dag *et al*., 2009), Fe, Mn, N, K y Zn, también acceden a otros elementos que están presentes en el suelo en concentraciones bajas, como NH_4, Cu y Mo (Orlowska *et al*., 2011; Cavagnaro *et al*., 2010; Dag *et al*., 2009; Sheng *et al*., 2009; Shokri & Maadi, 2009; Sudova, 2009; Ducic *et al*., 2008; Pasqualini *et al*., 2007), lo anterior es favorecido por el

aumento de las raíces laterales, dando lugar a un sistema de raíces más ramificado resultado de la mejora en la nutrición de la planta que sería favorecida por las micorrizas (Citernesi *et al*., 2015), en razón a que el micelio externo y las hifas absorbentes pueden penetrar en los microporos del suelo gracias al menor diámetro que presentan respecto a las raíces y pelos radicales de las plantas, facilitando así la exploración a mayor volumen de suelo con la consecuente accesibilidad a nutrientes por parte de la planta.
En esta asociación se presenta un mayor crecimiento de las plantas especialmente en aquellos suelos donde los nutrientes son escasos, se muestra también mayor tolerancia al déficit hídrico e incluso la planta se ve protegida frente al ataque de patógenos por mecanismos como: micoparasitismo, lisis enzimática, antibiosis, competencia por espacio o nutrientes e inducción de resistencia en la planta (Whipps, 2001).

El carbono que intercambian estos dos organismos, aflora con la descarga de carbohidratos desde el floema de la planta en la interface apoplástica que se forma, donde queda a disposición de ambos asociados, allí se hidrolizan por acción de la invertasa y son absorbidos por el hongo como hexosas, a partir de estas produce lípidos y glucógeno (Sánchez, 1999), manteniéndose de esta manera un gradiente de concentración de carbohidratos entre los simbiontes de tal forma que la transferencia neta ocurra hacia el micosimbionte, el cual los distribuye haciendo uso de aquellos que requiere para crecer y llevar a cabo su actividad metabólica normal. La translocación de compuestos carbonados al micelio externo que se desarrolla en el suelo contribuye también a mantener un gradiente favorable a nivel de la interface apoplástica. Del 4 al 20% del carbono fijado en la fotosíntesis puede ser exportado hacia las raíces micorrizadas, en consecuencia, las actividades fisiológicas como la tasa fotosintética, transpiración, conductancia estomática (Wu & Zou, 2010; Dag *et al*., 2009; Sheng *et al*., 2009; Shokri & Maadi, 2009; Pasqualini *et al*., 2007; Sánchez, 1999) y capacidad de acumulación de diferentes cantidades de nutrientes son estimuladas (Chatzistathis *et al.,* 2009).

Algunos estudios demuestran que las plantas micorrizadas son mucho más eficientes en la absorción de P, nutriente limitante en la mayoría de los suelos, en relación a plantas no micorrizadas (Tekaya *et al*. 2016; Abdel-Fattah *et al*. 2014; Mechri *et al*. 2014; Bücking & Heyser, 2003). Las hifas externas de los HMA tienen la habilidad de captar el fosfato y transportarlo a los tejidos radicales actuando como vía de acceso a este nutriente al extenderse más allá de la zona de agotamiento de la raíz (Dag *et al*., 2009; Marulanda *et al*., 2007). El efecto de los HMA en plantas se ha sustentado con base en el mejoramiento en la nutrición por P, elemento implicado directamente en la regulación de la fotosíntesis, utilización y posterior almacenamiento de los fotosintatos (Gianinazzi-Pearson & Azcón, 1991), aumento de la tasa de transpiración y mayor conductancia estomática en comparación con controles no micorrizados (Wu & Zou, 2010; Caravaca *et al*., 2003).

En lo referente al K y Mg, estos dos elementos son encontrados en mayor cantidad en plantas micorrizadas, esto se explica como efecto indirecto de la simbiosis al mejorar su absorción. La habilidad de las hifas de los HMA para soportar y concentrar Ca y otros cationes puede mejorar la cantidad de estos elementos en la fracción biológicamente activa. Los gránulos de polifosfato presentes en las vacuolas de los HMA pueden llevar Ca asociado lo cual puede conducir a que haya alguna movilidad de este elemento en plantas micorrizadas (Sánchez, 1993; Tester, 1992). Micronutrientes como Zn, Cu y Mo son tomados activamente por las hifas de HMA y transportados a la planta hospedera. Igualmente, otros micro elementos esenciales para la planta como el Fe y Mn se encuentran en mayores concentraciones en plantas micorrizadas; en algunos micorrizógenos hay evidencia de la formación de algunos sideróforos que los capacita para tomar Fe (Barea & Jeffries 1995; Varma, 1995; Sieverding, 1991).

Existen reportes del incremento en la absorción de Na, Co, y Si, los cuales no son esenciales para el crecimiento de todas las plantas. Se conoce que algunos metales pesados y algunos tóxicos como el Cd, Ni, Sr y Ce pueden ser absorbidos y transportados a la planta por vía micorrícica, sin embargo, la fitotoxicidad que podría esperarse de este hecho no ocurre, gracias a la compensación que se presenta al mejorar la absorción y el equilibrio de macronutrientes. A pesar de ello, la micorriza puede ser inhibida por la presencia de metales pesados como el Zn, Cd y Cu en dosis menores a las necesarias para causar depresión en el crecimiento (Sánchez, 1993; Azcón, 1991). Otros estudios describen mejora en la absorción de CO_2 inducida por HMA (Boldt *et al*., 2011).

Por otro lado, el rol del transporte micorrícico de Mg, muestra un efecto estimulante en la biosíntesis de los glicolípidos (Awai *et al*., 2006). Por su parte Jordan *et al*. (2001) han demostrado que esto es esencial para la biogénesis del cloroplasto, la formación de la membrana de los tilacoides y la actividad fotosintética; así mismo, Mechri *et al*. (2014) determinaron que los ácidos grasos con tres enlaces dobles (18:3) en los glicolípidos de plantas micorrizadas fueron más altos que los de las plantas no micorrizadas y que el grado de insaturación del glicolípido afecta la capacidad fotosintética, el contenido de clorofila y los complejos fotosintéticos.

Existen también registros del incremento en la actividad de enzimas como la nitrato reductasa y la glutamina sintetasa que participan en la asimilación de nitrógeno; del mismo modo, del aumento de arginina y citrulina, utilizadas para mantener el equilibrio iónico en las vacuolas ricas en polifosfato en plantas micorrizadas (Smith & Read, 2008). Bajo las anteriores consideraciones, el propósito del presente escrito fue evaluar la presencia de HMA y su relación con la absorción de nutrientes en olivos con dos tipos de poda cultivados en el trópico alto andino.

El estudio se realizó en Colombia, departamento de Boyacá, municipio de Sutamarchán, vereda Roa, en el huerto “Olivanto” en dos fases: una de campo y

una de laboratorio, en las cuales se procesaron 24 muestras que correspondían a 12 unidades experimentales (cada unidad estuvo compuesta por dos arbustos).

Extracción, conteo de esporas y estimación del porcentaje de colonización por HMA

Materiales

Etanol (70%) como preservativos de raíces, KOH al 10% (w/v hidróxido de K), HCl al 10% (v/v de ácido clorhídrico), Colorantes: azul de tripano 0.05% (w/v) en lactoglicerol (Phillips & Hayman, 1970), Glicerina-agua (50%) y preservativo H_2O_2 (al 10 % v/v) cuando se requirió aclaramiento adicional, dependiendo del grado de pigmentación de la raíz (Kormanik & McGraw, 1982) y aceite de inmersión. Como material de laboratorio se emplearon: tubos de ensayo, cajas de Petri y Beakers de 50 ml, pipetas graduadas de 5 y 10 ml y balones aforados de 100 ml, pinzas finas y para tubo de ensayo, agujas de siembra y/o transferencia y bisturí, porta y cubreobjetos, gradilla para tubos de ensayo, malla (100µm de poro) para transferir muestras, viales de plástico con tapa para almacenamiento de muestras, marcador y cinta de papel. También fueron empleados los siguientes equipos: estereoscopio, microscopio, balanza, baño maría, gradilla para muestras y plancha de calentamiento.

La extracción de esporas se desarrolló empleando los reactivos: solución de sacarosa al 70%, PVLG (Koske & Tessier, 1983) y PVLG: Melzer (Morton, 1991-1992), también materiales como: jeringa normal para limpieza estereoscópica de las esporas, porta y cubreobjetos, gotero, espátula de punta fina, tubos para centrífuga de 50 ml y frasco lavador y equipos como: juego de tamices Nº. 10, 35, 125 y 325 (2 mm – 450 µm – 120 µm y 40 µm, respectivamente), microscopio, estereoscopio, centrífuga a 3350 rpm. en ángulo libre, jeringa para sacarosa, dispositivo colector de esporas y balanza.

Métodos

Durante la fase de campo se recolectaron 200 gramos de suelo de la zona de plateo para cuantificar las esporas a 20 cm de profundidad por 15 cm de ancho. A la par y para observar el porcentaje de micorrización, se recolectaron de la misma zona diez submuestras hasta completar 20 gramos de raíces secundarias y terciarias jóvenes donde se encontrarán pelos absorbentes, se retiró el suelo adherido y se sumergieron en alcohol. Las muestras se guardaron en termos de poliestireno con refrigerante, hasta llegar al laboratorio.

El método para extracción de esporas empleado fue el de Sieverding (1984), el cual consistió en la utilización de tres tamices superpuestos (710 µm, 45 µm y 38 µm respectivamente), en el tamiz superior (710 µm) se depositó cada muestra de 50 gramos de suelo, se lavó con abundante agua hasta que se estimó incolora al fluir por el último tamiz (38 µm), el material que quedó filtrado en el tamiz de 45 µm

se depositó en dos tubos de centrifugado con capacidad para 13ml, del mismo modo se hizo con el que quedó acumulado en el de 38 µm; luego se agitó el fondo de cada tubo con ayuda de una espátula de punta fina, en seguida, con la jeringa para sacarosa se tomaron aproximadamente 40 ml de sacarosa al 70% y se adicionó a presión al fondo de cada tubo preparado hasta completar 13 ml. La jeringa se lavó superficialmente con agua, después de cada adición. A continuación, se llevaron los tubos a una centrífuga con ángulo libre, se equilibraron los pesos de los tubos con agua y se centrifugaron a 4000 rpm durante 4 minutos. Pasado este tiempo se extrajo con la jeringa para sacarosa la fase intermedia de los tubos llevando la manguera hasta este nivel y tomando todo lo existente hasta la unión de la fase acuosa con el suelo, principalmente el material contenido en el límite sacarosa–agua, donde se acumulan las esporas, el contenido de la jeringa se pasó por un tamiz de 45 y otro de 38 µm, se lavó con agua de grifo y con frasco lavador se pasó el material restante a cajas de Petri para limpieza y extracción manual de las esporas, las fracciones extraídas de cada tamiz se procesaron por separado.

El conteo de esporas de HMA se realizó en cajas de Petri con cuadrícula de 5 mm x 5 mm, en la que se depositaron las esporas de HMA en poca agua para reducir su movimiento, se ubicaron en el estereoscopio recorriendo toda la caja con objetivo 10X, cambiando a mayor aumento cuando hubo necesidad de distinguirlas claramente.

Para el procesamiento de raíces, se tomó el material recolectado y se lavó con agua de grifo para eliminar todo el suelo e impurezas, se tomaron sólo raíces finas menores de 1 mm de diámetro para facilitar la penetración de los reactivos y se extendieron de manera que no quedaran apretadas dentro del tubo de ensayo, se cubrieron completamente con KOH al 10% para que el aclaramiento fuera homogéneo. A continuación, se llevaron los tubos de ensayo a baño maría a una temperatura de 90 ºC durante 15min; se pasaron por H_2O_2 por dos min. y enseguida se lavaron con agua del grifo. Se mantuvieron en HCl al 10% por 10 min. a temperatura ambiente y se lavaron nuevamente con agua del grifo. Una vez las raíces estuvieron blanqueadas se procedió a la tinción con azul de tripano al 0.05% al baño maría a 90 ºC durante 15 min; por último, se lavaron con agua para eliminar los excesos de tinción.

La estimación del porcentaje de colonización radical por HMA se efectuó por intersección de campos en placa montando 10 fracciones en paralelo de aproximadamente un centímetro de longitud sobre el portaobjetos para su observación en microscopio con objetivo 40X. Se recorrió cada portaobjetos en sentido horizontal y perpendicular de acuerdo a lo que sugieren Sánchez de P. *et al.* (2010). De cada muestra se reportaron campos negativos (sin presencia de estructuras colonizantes) y positivos (con presencia de estructuras colonizantes), con los reportes se efectuó el cálculo de porcentaje de colonización total por HMA con la fórmula:

$$\%\ colonización\ total\ por\ HMA = \left(\frac{C}{T}\right) x100$$

Donde:

C: Número de campos colonizados por cualquier estructura de HMA

T: Número total de campos observados

Análisis químicos foliares

Se recolectaron 300 g de hojas en las condiciones que sugieren Fernández-Escobar *et al.* (1999).

Los análisis fueron realizados por el laboratorio del grupo de investigación en estudios moleculares (GIEM) de la universidad de Antioquia, para lo cual emplearon las siguientes metodologías:

Calcio total: electroforesis capilar, *Magnesio total:* electroforesis capilar, *Potasio total:* electroforesis capilar, *Sodio total:* electroforesis capilar, *Zinc total:* electroforesis capilar, *Cobre:* absorción atómica, *Hierro*: absorción atómica, *Boro*: espectrofotometría.

Bromatológicos

El análisis de FDN, FDA, LDA y ácidos grasos, se realizó por Gravimetría

Diseño experimental

Se implementó un diseño completamente al azar (DCA) como lo explica la tabla 10.

Tabla 10. Diseño experimental del ensayo

Tratamiento	Poda	Repeticiones	Unidades experimentales	Edad de las plantas
T1	Vaso	4	2	5 años
T2	Globo	4	2	5 años
T3	Crecimiento libre	4	2	5 años
Variables dependientes	% colonización HMA, número de esporas, solubilizadores de fósforo, celulolíticos, proteolíticos, fosfatasa, celulasa y composición química de las hojas.			

N=24

Análisis estadístico

A los datos obtenidos se les realizaron: pruebas paramétricas de normalidad de Shapiro Wilk, coeficiente de correlación de Pearson, análisis de varianza para las variables que mostraron más correlación y pruebas de comparación de promedios de Tukey.

El análisis de componentes principales (CP) fue realizado con la ayuda del paquete estadístico SAS University Edition (SAS Institute INA, 2017), los componentes se seleccionaron con base en el criterio de Kaiser, reteniendo factores con autovalores mayores que 1. Buscando establecer las correlaciones de interés para la investigación se analizaron los coeficientes de correlación de Pearson junto con el gráfico de los patrones de los componentes mediante la siguiente escala:

90–100	Muy alta
70-90	Alta
50-70	Media
<50	Baja

Se utilizó la prueba de Kruskal–Wallis para evaluar las diferencias entre los rangos de medias de las variables evaluadas. Las comparaciones pareadas se realizaron con el análisis post hoc utilizando el análisis de comparación múltiple de Dwass, Steel, Critchlow-Fligner (DSCF). Todos los análisis de realizaron utilizando el software SAS 9.4 (Cary, NC, USA). Las diferencias significativas se definieron cuando $p<0,05$.

RESULTADOS

La relación entre la colonización del hongo micorrícico arbuscular, los contenidos foliares de nutrientes y las características bromatológicas (Tabla 11, 12 y 13) se efectuó por medio de análisis de componentes principales utilizando el SAS. Los autovalores del primer y segundo CP fueron: para T1 0,24 y 0,22, para T2 0,28 y 0,20 y para T3 0,25 y 0,24 respectivamente, como se aprecia en las figuras 2, 3 y 4.

Para el caso del número de esporas respecto a la colonización (Tabla 9), en T1 se presentaron valores cercanos a cero para CP 1 y 2, positiva baja, es decir, el número de esporas respecto a la colonización es independiente. Igualmente ocurre en T2, donde los CP 1 y 2 son negativos cercanos a cero, de forma similar a T3. Al parecer el tipo de poda no afecta el comportamiento de estas dos variables.

Tabla 11. Resultados promedio % colonización y número de esporas por tratamiento de las unidades experimentales

Tratamiento	%	
	Colonización [2]HMA	[3]esp/50g s.s.
T1 (poda en vaso)	72,5	3557,5
T2 (poda en globo)	76	4551,25
T3 ([1]C. libre)	76,25	4538,25

[1]Crecimiento libre, [2]Hongos micorrícicos arbusculares, [3]esporas por 50 gramos de suelo seco

Tabla 12. Resultados promedio de elementos en hojas por tratamiento de las unidades experimentales del ensayo en el alto Ricaurte comparados con estudios realizados por Rotundo *et al.* (2007) y Beutel *et al.* (1983).

Tratamiento	[1]%				[2]ppm			%			
	Ca	Mg	K	P	Fe	B	Cu	[3]Hum.	[4]N org.T.	[5]%Col. HMA	[6]esp/100g s.s.
T1 ([7]P.Vaso.)	0,73	0,37	1,27	0,16	0,005	15,94	0,000	52,53	2,16	72,5	3557,5
T2 ([8]P.Globo.)	0,71	0,30	1,09	0,11	0,005	15,52	0,000	50,23	1,76	76	4551,25
T3 ([9]C.Libre.)	0,76	0,18	0,98	0,03	0,008	12,39	0,001	44,48	1,52	76,25	4538,25
Rotundo *et al.*, 2007	1,5 a 2,5	0,1 a 0,2	1,2 a 1.5	0,1 a 0,2	-	-	-	-	1,8 a 2,2	-	-
Beutel *et al.*,1983	>1	>0,1	>0,8	0,1 a 0,3	-	19 a 150	>4	-	1,5 a 2,0	-	-

[1]Porcentaje, [2]partes por millón, [3]Humedad, [4]Nitrógeno orgánico total, [5]porcentaje de colonización de Hongos micorrícicos arbusculares, [6]esporas por 100 gramos de suelo seco, [7]poda en vaso, [8]poda en globo, [9]crecimiento libre

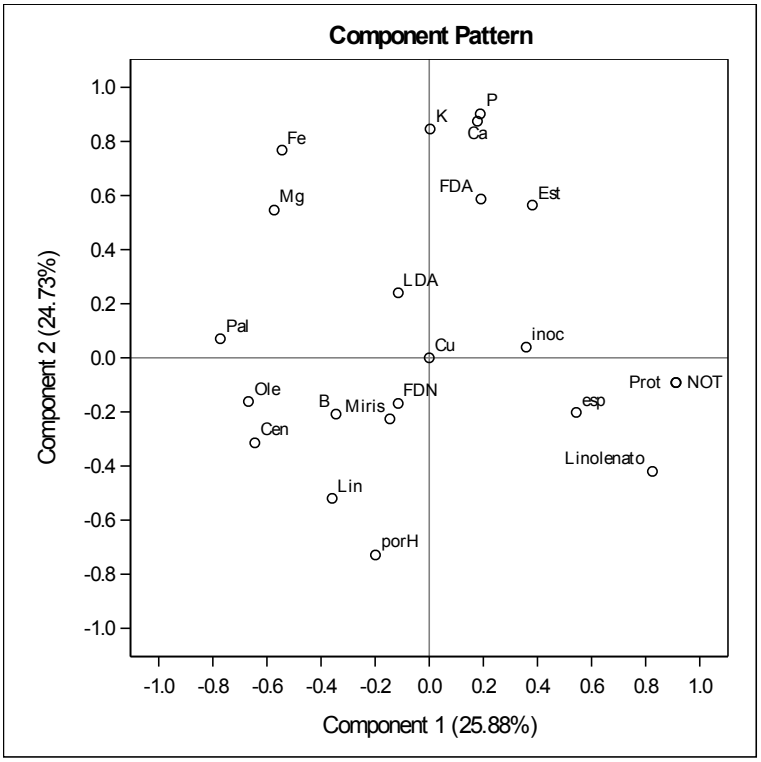
Tabla 13. Resultados promedio análisis bromatológico de las hojas de olivo por tratamiento de las unidades experimentales

Tratamiento	%											[11] esp/50g s.s.
	[1] Prot.	[2] FDN	[3] FDA	[4] LDA	[5] Miris.	[6] Pal.	[7] Est.	[8] Ole.	[9] Lin.	Linolenato	Colonización [10] HMA	
T1 ([12]P.V.)	13,57	46,58	40,46	17,45	0,65	16,20	3,21	11,34	6,81	28,68	72,5	3557,5
T2 ([13] P.C.)	10,99	49,23	37,79	17,02	0,70	14,17	2,70	11,49	7,25	27,38	76	4551,25
T3 ([14]C. L)	9,54	42,78	37,21	17,30	1,08	14,37	2,83	10,10	6,23	24,85	76,25	4538,25

[9]Proteína, Fibra [10] detergente neutra, Fibre detergente [11] acida, Lignina detergente ácida Acido mirístico, Acido palmítico, Acido esteárico, Acido oleico, Acido linoleico, Hongos micorrícicos arbusculares, esporas por 50 gramos de suelo seco, [12] poda en vaso, [14]poda en copa, [15]crecimiento libre.

La relación entre la colonización del hongo micorrícico arbuscular, los contenidos foliares de nutrientes y las características bromatológicas se efectuó por medio de análisis de componentes principales (CP) utilizando el SAS. Los autovalores del primer y segundo CP fueron: para T1 0,24 y 0,22, para T2 0,28 y 0,20 y para T3 0,25 y 0,24 respectivamente, como se aprecia en las figuras 5, 6 y 7.

Figura 5. Componentes principales tratamiento 1, poda en vaso



Pal= ácido palmítico, LDA= lignina detergente ácida, Mg= magnesio, Fe= hierro, K= potasio, FDA= fibra detergente neutra, Ca= calcio, P= fósforo, Est= esteárico, inoc= % de colonización, Prot= proteína, esp=número de esporas, por H= % de humedad, Lin= linoléico, Miris= mirístico, B= boro, Cen= cenizas, Ole= oleico.

Para el caso del número de esporas respecto al porcentaje de colonización, en T1 se presentaron valores cercanos a cero para CP 1 y 2, positiva baja, es decir, el número de esporas respecto a la colonización es independiente. Igualmente ocurre en T2, donde los CP 1 y 2 son negativos cercanos a cero, de forma similar a T3. Al parecer el tipo de poda no afecta el comportamiento de estas dos variables.

El Cu y FDA reflejaron correlación positiva media con el % de colonización en T1 (figura 5 y tabla 14).

De otra parte, la variable B presentó correlación positiva media con número de esporas en el mismo tratamiento y para el caso de los ácidos grasos el miristato mostró correlación negativa media con número de esporas mientras que oleato y

linoleato tuvieron correlación positiva media, entre tanto la variable FDA respecto a número de esporas presentó correlación negativa media.

Tabla 14. Matriz de correlación tratamiento 1, poda en vaso

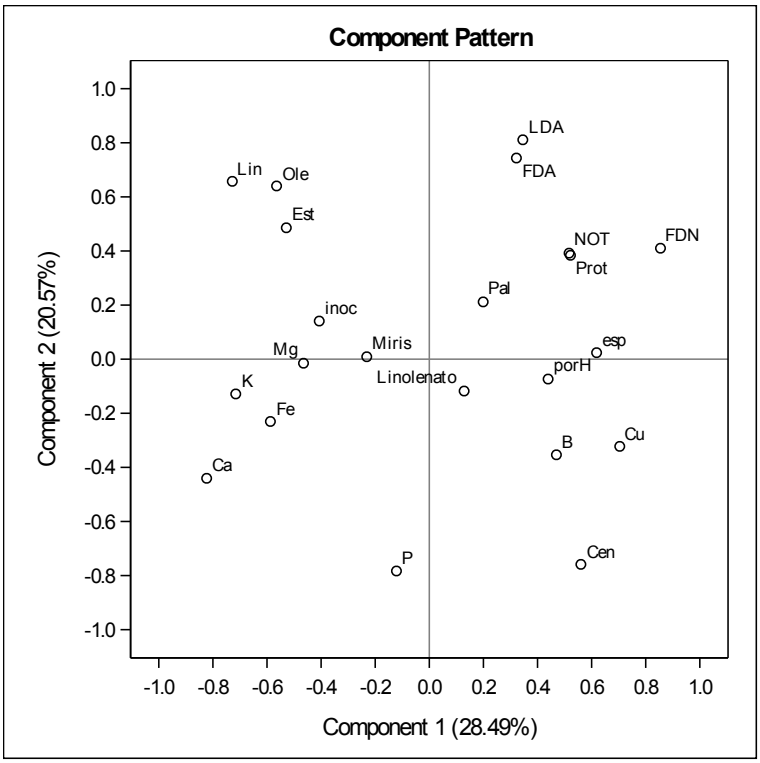
	% colonización	Número de esporas
% colonización	1	0.0685
Número de esporas	0.0685	1
Ca	0.0489	-.0228
Mg	-.3590	-.1996
K	0.2579	0.3548
Cu	0.6448	0.2867
Fe	-.3433	-.4585
B	0.0443	0.6194
Cen	0.2244	0.1704
P	0.0460	0.3377
porH	-.4540	0.0208
NOT	0.3051	-.0902
Prot	0.3061	-.0919
FDN	-.0855	-.5072
FDA	0.7178	-.0092
LDA	-.2087	0.1600
Miris	0.4857	-.7124
Pal	0.2606	-.2878
Est	-.0299	-.2135
Ole	-.2606	0.7807
Lin	-.3088	0.7433
Linolenato	-.4771	-.0215

Correlación Positiva Correlación negativa

Pal= ácido palmítico, LDA= lignina detergente ácida, Mg= magnesio, Fe= hierro, K= potasio, FDA= fibra detergente neutra, Ca= calcio, P= fósforo, Est= esteárico, inoc= % de colonización, Prot= proteína, esp=número de esporas, por H= % de humedad, Lin= linoléico, Miris= mirístico, B= boro, Cen= cenizas, Ole= oleico.

El segundo tratamiento, poda en globo T2 (figura 6 y tabla 15), reportó una correlación negativa media con N orgánico Total al igual que con proteína y Fe, mientras que con K la correlación negativa fue alta.

Figura 6. Componentes principales tratamiento 2, poda en globo.



Ca= calcio, Mg= magnesio, K= potasio, Cu= cobre, Fe= hierro, B= boro, Cen= cenizas, P= fósforo, porH= porcentaje de humedad, NOT= nitrógeno orgaánico total, Prot= proteína, FDN= fibra detergente neutra, FDA= fibra detergente ácida, LDA= lignina detergente ácida, Miris= ácido mirístico, Pal= ácido palmítico, Est= ácido esteárico, Ole= ácido oleico, Lin= ácido linolénico.

Tabla 15. Matriz de correlación tratamiento 2, poda en globo

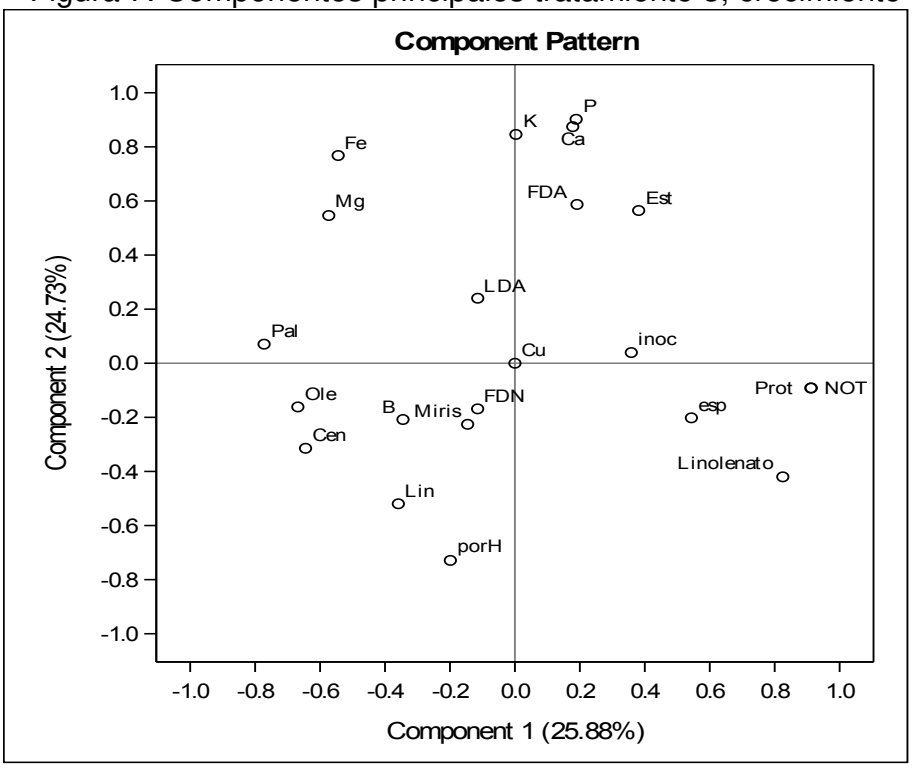
	% colonización	Número de esporas
% colonización	1	-.1476
Número de esporas	-.1476	1
Ca	0.1285	-.4520
Mg	0.3269	-.2891
K	0.1303	-.8046
Cu	-.4270	0.4897
Fe	-.2307	-.7804
B	-.1700	-.0038
Cen	-.1563	0.2696
P	-.3992	0.1293
porH	0.1266	0.1143
NOT	-.6556	0.1013
Prot	-.6620	0.1031
FDN	-.3452	0.4405
FDA	-.0632	0.0772
LDA	0.1812	0.3473
Miris	-.0398	-.0614
Pal	-.2025	-.1036
Est	-.0167	-.1885
Ole	0.3566	-.2073
Lin	0.4514	-.3847
Linolenato	0.1293	0.0813

Correlación positiva Correlación negativa

Pal= ácido palmítico, LDA= lignina detergente ácida, Mg= magnesio, Fe= hierro, K= potasio, FDA= fibra detergente neutra, Ca= calcio, P= fósforo, Est= esteárico, inoc= % de colonización, Prot= proteína, esp=número de esporas, por H= % de humedad, Lin= linoléico, Miris= mirístico, B= boro, Cen= cenizas, Ole= oleico.

En el T3, crecimiento libre (figura 7 y tabla 16), el ácido palmítico mostró una correlación negativa media con el % de colonización, mientras que en la variable numero de esporas la correlación con FDN fue positiva media y con LDA negativa media, pero con respecto al B la correlacion resultó negativa alta.

Figura 7. Componentes principales tratamiento 3, crecimiento libre



Pal= ácido palmítico, LDA= lignina detergente ácida, Mg= magnesio, Fe= hierro, K= potasio, FDA= fibra detergente neutra, Ca= calcio, P= fósforo, Est= esteárico, inoc= % de colonización, Prot= proteína, esp=número de esporas, por H= % de humedad, Lin= linoléico, Miris= mirístico, B= boro, Cen= cenizas, Ole= oleico.

Tabla 16. Matriz de correlación tratamiento 3, crecimiento libre

	% colonización	Número de esporas
% colonización	1	-.0639
Número de esporas	-.0639	1
Ca	0.0304	0.1894
Mg	-.3224	-.2641
K	0.2124	-.4155
Cu	0.0000	0.0000
Fe	-.1385	-.5723
B	0.0605	-.8050
Cen	-.4523	-.1484
P	0.3516	-.2027
porH	0.2663	-.1473
NOT	0.1249	0.5195
Prot	0.1197	0.5264
FDN	-.3512	0.6276
FDA	-.0949	0.4433
LDA	0.6319	-.6463
Miris	-.1826	0.0961
Pal	-.6810	-.1004
Est	-.4444	0.1062
Ole	-.5311	-.0665
Lin	-.1398	-.0536
Linolenato	0.1369	0.4431

Correlación Positiva Correlación negativa

Pal= ácido palmítico, LDA= lignina detergente ácida, Mg= magnesio, Fe= hierro, K= potasio, FDA= fibra detergente neutra, Ca= calcio, P= fósforo, Est= esteárico, inoc= % de colonización, Prot= proteína, esp=número de esporas, por H= % de humedad, Lin= linoléico, Miris= mirístico, B= boro, Cen= cenizas, Ole= oleico.

La prueba Kruskal-Wallis reveló que hubo efecto significativo de la poda en los contenidos de P (χ^2= 13,64, *p*<0,001), Cu (χ^2= 10,44, p<0,005) y FDN (χ^2= 7,29, p<0,05) en las hojas de plantas de olivo tomadas. Las pruebas DSCF para P mostraron diferencias significativas entre T1 y T3 (*p*=0,0021), para Cu diferencias significativas entre T1 y T3 (*p*=0,001) y para FDN diferencias entre T2 y T3 (*p*=0,0416).

Para la determinación de diferencias entre los efectos y los tratamientos en los contenidos de ácidos grasos (mirístico, palmítico, oleico, linoleico y esteárico) se realizó un Anova y una prueba de comparación de Tukey; así mismo en los casos en los cuales los datos no satisficieron los supuestos de normalidad y de varianza se realizó análisis de varianza no paramétrico.

Para la variable Fibra Detergente Neutra (FDN) se usó la prueba no paramétrica por la violación del supuesto de homocedasticidad (homogeneidad de varianzas), el reporte mostró diferencia significativa a nivel de 0,005 entre T2 y T3; mientras que para la Fibra Detergente Ácida (FDA) y la Lignina Detergente Acida (LDA) no hubo diferencia significativa.

Tabla 17. Efectos de los tipos de poda en los contenidos de elementos, bromatológicos y contenidos de ácidos grasos en hojas de plantas de olivo (*Olea Europaea* L.).

Variable	**Tipo de poda**		
	Vaso	**Globo**	**Crecimiento libre**
Contenidos de elementos			
K (%)	1,27±0,10^{a}	1,09±0,12^{b}	0,98±0,10^{b}
Mg (%)	0,37±0,11^{a}	0,30±0,17^{ab}	0,19±0,11^{b}
***B (ppm)	15,94±1,24^{a}	15,53±1,33^{a}	12,39±0,76^{b}
Análisis bromatológico (%)			
N orgánico total	2,17±0,21^{a}	1,76±0,30^{b}	1,52±0,29^{b}
Humedad	52,54±0,90^{a}	50,24±1,13^{b}	44,49±1,13^{c}
Proteína	13,58±1,33^{a}	11,00±1,88^{b}	9,55±1,85^{b}
Ácidos grasos (%)			
Ácido mirístico	0,66±0,16^{a}	0,71±0,21^{ab}	1,09±0,46^{b}
Ácido linolénico	28,68±2,09^{a}	27,39±2,66^{ab}	24,86±2,43^{b}

Medias (± desviación estándar con n= 8 por tratamiento) con la misma letra no son significativamente diferentes (*p*-valor < 0,05) al ser analizadas con un ANOVA de una vía y una prueba de TUKEY.

Para el caso del ácido Mirístico hubo efecto de los tratamientos respecto del contenido, las pruebas de Comparación Múltiple (CM) mostraron que los contenidos de este ácido graso fueron mayores en T3 que en T1 y T2; sin embargo, para los ácidos: palmítico, esteárico, oleico y linóleo no hubo diferencia. Por su parte, el ácido linolenico mostró diferencia significativa así: fueron menores

los contenidos en T3 con respecto a T1, pero T3 Vs T2, y T1 Vs T2 no mostraron diferencia.

Respecto al porcentaje de humedad, se encontró diferencia significativa alta entre T3 Vs T1 y T2 a un P valor menor de 0,0001 con significancia alta. Para T1 y T2 hubo diferencia significativa alta a un P menor de 0,0001; así se tiene que: T1>T2>T3 en contenido de humedad con valores de: 52,5--50,2--44,49 respectivamente; la diferencia entre T1 y T3 fue muy alta.

En la variable contenido de proteína hubo diferencia significativa entre T1 y T3 a nivel de P< 0.001 y para T1 Vs T2 a un nivel de P< 0,05. Para la variable Nitrógeno orgánico total se encontró diferencia altamente significativa, donde T1 Vs T3 muestran diferencia significativa a un nivel P< 0,001. Para T1 Vs T2 significativa a un nivel P< 0,05; T1>T2>T3.

Por otro lado, en las variables porcentaje de colonización de raíz y número de esporas en suelo rizosférico no se encontraron diferencias significativas, y los reportes de elementos como Ca no mostraron diferencias para los tratamientos, no obstante, el Mg mostró diferencia significativa en T1 Vs T3 a un P < 0,05, pero para T1 Vs T2 y T2 Vs T3 no hubo diferencias; en los contenidos de Mg hubo diferencia significativa en T1 Vs T3 a P < 0,05 y T1 Vs T2; T2 Vs T3 no mostraron diferencia, los contenidos de Mg T1 0,37 > T2 0,30 y T2 > T3 0,18.
Con referencia al K, se reportó diferencia significativa entre T1 y T2 a P < 0,01 y entre T1 y T3 a P< 0,0001 altamente significativa; no obstante entre T2 y T3 no hubo diferencia T1>T2>T3.

En razón a que la variable Cu no cumplió con los supuestos, se realizó el análisis no paramétrico que expresó diferencia significativa entre T1 y T3 a P< 0,001; mientras que T1 Vs T2 y T3 no mostraron diferencia (T1 0,00038, T2 0,00054 y T3 0,001). Por su parte, el Fe no mostró diferencia entre tratamientos, al igual que la variable cenizas. Así mismo, el B mostró diferencia significativa entre T1 Vs T3 a P< 0,0001 y T2 Vs T3 a P < 0,0001, mientras que en T1 Vs T2 no hubo diferencia. Por último, para la variable P que no cumplió los supuestos de homocedasticidad se usó la prueba no paramétrica la cual arrojó diferencias significativas entre T1 y T3, pero no entre T1 Vs T2 y T2 Vs T3 donde los valores fueron: T1 0,16; T2 0,09 y T3 0,003.

DISCUSIÓN

La colonización radicular en todos los tratamientos estuvo en un promedio superior al 70%, sin embargo, no mostró relación ni con la presencia de esporas en el suelo, ni con la absorción de P, Ca, B, K, N, Fe, Mn, Zn y Cu, así por ejemplo, el elemento P, en el tratamiento poda en vaso (T1) estuvo en un promedio de 0.16%,

considerado adecuado para los niveles de P en la hoja, mientras que en el tratamiento poda en globo (T2) en un promedio de 0.009% y en el tratamiento con crecimiento libre (T3) en 0.003%; lo que de acuerdo con Rotundo *et al*. (2007), corresponde a una cantidad muy baja; Abdel-Fattah *et al.* (2014) explican que la presencia de P está directamente relacionada con la presencia de HMA en razón al intercambio bidireccional de C y P que ocurre entre el hongo y la raíz. De otra parte, la absorción de fosfato por los HMA ocurre contra un gradiente de concentración, el transporte de P ocurre por un gradiente de protones creado por el ATP que demanda el transporte de ellos fuera de la célula del hongo (Pasqualini *et al.,* 2007).

Sin embargo, se infiere de este estudio que la asociación no necesariamente se da para el favorecimiento de la búsqueda de este nutriente, en este sentido, Palase *et al*. (2000) afirman que los requerimientos de P por la planta son menores que los de N, K, y Ca en cualquier estado fenológico, y para el estado de los olivos en el presente estudio, poda y producción, los requerimientos de acuerdo con estos autores serian para N: 231,2; P: 42,1; K: 223,8; Mg: 18,6 y Ca: 124,6 g/planta.

De otra parte, los niveles de P, mayores a 40 ppm, encontrados en la rizosfera de las plantas muestreadas son altos, además el pH está entre 4.46, extremadamente ácido, y 5.71, moderadamente ácido, el cual impide la absorción de este elemento por precipitación con Fe y Al (Castro & Gómez, 2014), lo que puede explicar los bajos niveles de P en el área foliar y la razón por la cual no hay correlación con la colonización radicular de HMA; lo que coincide con Tekaya *et al.* (2016), quienes consideran que el contenido de P en hojas de plantas micorrizadas aumenta, especialmente si crecen en suelos de baja disponibilidad del nutriente.

Adicionalmente, los cambios generados en la rizosfera por la presencia de HMA afectan directamente los procesos de fijación y solubilización de P, así como la mineralización de la materia orgánica y la presencia de otras poblaciones microbianas como actinomicetos de esta zona (Mechri *et al*., 2014) y diazótrofos, celulolíticos y solubilizadores de fosfatos también encontrados en el presente ensayo. En este sentido, Welch *et al.* (2002), Hamdali *et al*. (2008a).y Hamdali *et al*, (2008b) demostraron que la presencia de las cepas de actinomicetos en el suelo excretan sustancias quelantes, como los sideróforos, que forman complejos estables con adsorbentes de fósforo; si se considera que para la época del estudio la precipitación en la región estuvo en 598,6 mm en promedio (IDEAM, 2016), por debajo de los requerimientos del olivo y que las plantas mostraron estrés hídrico, se presume entonces que los bajos niveles de agua impidieron la absorción de P que es tomado por las plantas por difusión, puesto que el fósforo es un nutriente de baja movilidad en el suelo y la raíz debe llegar a él para absorberlo.

En algunos estudios se reporta que la colonización micorrícica puede aumentar la absorción del Ca (Liu *et al*., 2002), del Mg (Liu *et al*., 2002; Jentschke *et al*., 2001),) y del K (Giri *et al*., 2007;). No obstante, los niveles de P en el suelo de este ensayo pueden estar generando antagonismo con Ca, Fe, Zn, Cu y B. (Castro & Gómez, 2014), así, para el caso del Ca, el cual se encuentra en niveles apropiados en la rizósfera (5,57 a 11,34 meq/100g de suelo), está por debajo del nivel adecuado en el área foliar de acuerdo con los reportes en todos los tratamientos, y debe ser de 1,5% como mínimo (Fernández, 2009; Rotundo *et al*., 2007). Por su parte, en los estudios de Mechri *et al*. (2014), la cantidad de Mg en las hojas de las plantas micorrizadas aumentó en un 17% en comparación con las plantas no micorrizadas por lo que concluyeron que el aumento de glicolípidos en las plantas micorrizadas de olivo obedeció a la presencia del catión. Por su parte, Gaude *et al*. (2007) encontraron una disminución de glicolípidos cuando faltaba el Mg.

El K, cuyo nivel ideal es 1,2%, en T1 estuvo en 1,27%, pero T2 y T3 esuvieron por debajo de este valor, mientras que el Mg tuvo un comportamiento diferente y T1 reporta una media de 0,37, T2 de 0,30% considerado alto y T3 de 0,19%, estimado como nivel adecuado; al respecto Jentschke *et al.* (2001), indicaron que el aumento de las concentraciones de Mg y K en las plantas puede ser consecuencia del aumento de la disponibilidad del P por la actividad micorrícica, también demostraron que la translocación de K y Mg a la planta micorrizada se reduce al bajar la actividad de P-hifal, como parece ocurrir en el presente estudio donde el K que está en exceso en la rizosfera, muestra niveles bajos en las hojas para T3 y T2 < 1 % y en el límite inferior 1,20 %, ideal para T1.

En relación al N, para T1 se reportó un valor de 2,17, considerado adecuado, para T2 1,76 y para T3 1,52, considerados bajos. La mayor participación de HMA en la captación de N ocurre en la absorción de amonio que es poco móvil y constituye la forma de N en suelos con acidez moderada, (Smith and Read 2008) encontraron enzimas responsables de la absorción del N, nitrato reductasa y glutaminasa sintetasa, sin embargo, las tasas de absorción de N por parte de las hifas de HMA son pequeñas para contribuir sustancialmente a la nutrición de las plantas micorrizadas.

Respecto al B, en T1 se presentó un nivel promedio de 15,94; en T2 de 15,53 y en T3 de 12,39 considerado deficiente, sin embargo, no hubo correlación con el % de colonización, aunque si se presentó correlación positiva media en T1 con el número de esporas y negativa alta en el T3; este elemento participa en la inducción ontogénica, germinación del polen, fecundación, reproducción celular elongación celular, y desarrollo radicular, entre otras funciones fisiológicas, el B forma complejos con manitol, mananos, ácido polimanurónico y otros constituyentes de las paredes celulares, también actua en el metabolismo de los

ácidos nucleicos; interviene en la síntesis de hormonas, azucares, proteínas y carbohidratos, transporta carbohiratos y regula la maduración.

En el presente estudio, el B estaría afectado por antagonismo con el P, Ca, K y NO^{-}_{3}, razón por la cual el ciclo reproductivo de la planta se encontraría alterado, y por ello su floración se presenta de forma irregular.
Investigadores como Barranco *et al.* (2008) y Alcanzar *et al*. (2014) han reportado niveles de elementos como P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Si, Na, Cl y S en hojas, considerados similares a los reportados en la literatura especializada. Una mayor concentración de Cl, P y K se observó en las hojas más jóvenes porque estos elementos son móviles y se mueven a los puntos de mayor intensidad metabólica; por el contrario, mientras que el Mg también es un elemento móvil, su concentración es mayor en las hojas maduras y para el caso del tropico la situación es diferente dado que para el mediterráneo el nivel óptimo es de 0,2% y lo encontrado en la región del Alto Ricaurte fue mayor a este valor para las plantas podadas con 0,37% en promedio, mientras que en las de crecimiento libre fue de 0,19%, en consecuencia este elemento que muestra sinergismo con el B, Ca K y P, participando en la síntesis de proteínas, azúcares y transporte de carbohidratos, también puede estár generando desbalance al interior de la planta, pero además puede estar contribuyendo en la transferencia de grupos fosfato dado que es un cofactor enzimático (Mengel & Kirkby 2000).

Respecto a los contenidos en las hojas se establecen diferencias entre lo reportado por Rotundo *et al.* (2007) y lo encontrado en el trópico en el presente ensayo, así por ejemplo, el P adecuado sería > 0,3%, y lo encontrado en el trópico fue 0,1%; para el K en el mediterráneo es 0,9% mientras que en el trópico fue de 0,1%; para el Ca lo reportado por estos dos autores es de 1,9% y en el trópico 0,7%; respecto al K que mostró diferencia de T1 con T2 y T3, la mayor demanda ocurrió en T1 debido seguramente a que este elemento es el principal catión en el establecimiento de la turgencia celular y al ser el tratamiento que por su forma de poda presentaría mayor entrada de luz al interior de la planta, debió requerirlo para garantizar la apertura y cierre de estomas.

Finalmente, para el N, el porcentaje adecuado reportado por Barranco *et al.* (2008) es de 2,0% mientras que Rotundo *et al.* (2007) presentan un valor de 2,2% y el reporte para el trópico en las plantas podadas fue entre 1,72 y 2,17% y para los no intervenidos 1,52%; en consecuencia, se infiere que el T1 tuvo una mayor demanda de N mientras que en T2 y T3 los olivos no están supliendo sus demandas respecto a los de zonas productoras, esto resulta relevante teniendo en cuenta la participación del N en funciones fisiológicas importantes como la reproducción celular, el desarrollo radicular, la síntesis de hormonas, proteínas, azucares, carbohidratos y amino ácidos; lo que puede explicar el hecho de no tener un comportamiento reproductivo normal.

En la correlación establecida entre el porcentaje de colonización y las variables: %H, N orgánico total, proteína, FDN, FDA, LDA, ácidos mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolenico, el T1 solo mostró relación positiva media con FDA, el T2, negativa media con N org.total, proteína y FDA, mientras que T3 negativa media con número de esporas, acido palmítico y oleico y positiva media con LDA. Respecto al % de colonización, se evidenció correlación positiva alta de T1 con FDA y de T3, media con LDA.

Hubo diferencia significativa respecto al % H, lo que explicaría el alto porcentaje de colonización de HMA, teniendo en cuenta que las plantas presentaron un porcentaje de humedad de 52,5, 50,2 y 44,49% para T1, T2 y T3 respectivamente, lo que llevó a presumir que la alta colonización puede obedecer a las bajas precipitaciones, ocurridas en los años 2012 al 2016 en la zona de estudio, lo cual coincide con el planteamiento de Mekahlia (2013). Los parámetros micorrícicos del olivo plantado en zonas áridas son muy importantes desde el punto de vista de la frecuencia e intensidad micorrícica, desarrollada en climas adversos, lo que permite a los HMA realizar una especie de adaptación en condiciones difíciles.

Los mecanismos de tolerancia de las plantas micorrizadas a la escases de agua en el suelo, se relacionan con el P y el K que regulan la apertura y cierre de estomas, también a los efectos de las hormonas y al incremento de la exploración de la raíz mediante el micelio externo de la HMA que funciona como puente externo estrechando el contacto entre la raíz y el agua del suelo de tal manera que se forma una película de agua con flujo hacia la raíz (Sánchez, 1999), de esta manera se da una contribución para tolerar el estrés hídrico al mejorar la hidratación de los tejidos y la fisiología de las plantas Mekahlia *et al.* (2013), y esto puede explicarse por el hecho de que los olivos presentan una mayor colonización micorrícica en condiciones adversas para compensar el déficit hídrico.

En relación a los ácidos orgánicos, T1 y T2 no mostraron correlación con el % de colonización, mientras que T3 presentó correlación negativa media del % de colonización con los ácidos palmítico y oleico; los ácidos grasos se sintetizan en el cloroplasto, desde aquí se trasladan al retículo endoplasmático donde son modificados químicamente tras hidroxilación y/o epoxidación, después son transferidos hasta la membrana plasmática y desde aquí a la pared celular y la cutícula (López, 2006), ejerciendo un mecanismo de protección.

Además de ser una barrera física, la cutícula es una estructura que cumple funciones importantes en la fisiología de la planta, como: mantener limpia y seca la superficie de la planta o del fruto, y así evitar la acumulación de agua, partículas de polvo y esporas; también influyen en las interacciones planta-plaga, mediante el reconocimiento de señales de patógenos e insectos; sirven de soporte mecánico; y son termorreguladores importantes en las interacciones de las plantas con el ambiente, además sirven de protección contra la radiación UV muy fuerte, como la que ocurre en el alto Ricaurte, por otra parte, tienen participación indirecta

en la correcta formación de los órganos en las primeras fases de desarrollo de la planta, ya que impide la adhesión incontrolada de las células epidérmicas de los órganos en formación (Tafolla, González, Zacarías & Báez, 2013).
Estos ácidos componen y dan la calidad del aceite de oliva, pero no son traslocados de las hojas al fruto, sino que allí se sintetizan a partir sus precursores acetil CoA, aminoácidos y ácidos orgánicos, que pueden provenir de las hojas producto del anabolismo de los ácidos grasos en un proceso reversible.

CONCLUSIONES

El tratamiento poda en vaso fue el que mostró mejor absorción de Mg, K, P, B y N, siendo además el de menor % de colonización y menor número de esporas, lo que indica que este tipo de poda afecta estas variables.

En todos los tratamientos la disponibilidad de nutrientes como P, K, Mg y B que están en el suelo en exceso, no son disponibles para la planta debido a que el pH estuvo en el nivel “muy fuertemente ácido” y también al desbalance ocasionado por las relaciones catiónicas, sin embargo, la poda en vaso, logró absorber las cantidades requeridas por la planta a excepción del B.

El B fue el elemento que mostró relación en los tratamientos y diferencia significativa, lo que seguramente ocurrió debido a los bajos niveles de absorción que tuvieron todos los tratamientos.

Las plantas de olivo requieren poco P en su nutrición, sin embargo, el alto % de colonización puede ser la razón para que la micorriza contribuya con su absorción debido a que este P está fijado por Al y Fe que reportan los análisis del suelo rizosferico

BIBLIOGRAFÍA

Abdel-Fattah, G. M., Asrar, A. A., Al-Amri, S. M., & Abdel-Salam, E. M. (2014). Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization on the gas exchange, growth and phosphatase activity of soybean (Glycine max L.) plants. *Photosynthetica*, *52*(4), 581-588. Recuperado en 10 febrero de 2018, de: https://link.springer.com/article/10.1007/s11099-014-0067-0

Alcázar, R., Amorós, J., Pérez-de-los-Reyes, C., Navarro, F., & Bravo, S. (2014). Major and trace element content of olive leaves Doi: 10.13140/2.1.3712.5766

Awai, K., Kakimoto, T., Awai, C., Kaneko, T., Nakamura, Y., Takamiya, K. I.,... & Ohta, H. (2006). Comparative genomic analysis revealed a gene for monoglucosyldiacylglycerol synthase, an enzyme for photosynthetic membrane lipid synthesis in cyanobacteria. *Plant physiology*, *141*(3), 1120-1127. Recuperado en 10 febrero de 2018, de: http://www.plantphysiol.org/content/141/3/1120

Boldt K, Pörs Y, Haupt B, Bitterlich M, Kühn C, Grimm B, Franken P. Photochemical processes, carbon assimilation and RNA accumulation of sucrose transporter genes in tomato arbuscular mycorrhiza. J Plant Physiol 2011; 168:1256–1263. Doi: https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.01.026

Bücking, H., & Shachar-Hill, Y. (2005). Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus intraradices is stimulated by increased carbohydrate availability. New Phytologist, 165(3), 899-912. Doi: https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01274.x

Bücking, H., & Heyser, W. (2003). Uptake and transfer of nutrients in ectomycorrhizal associations: interactions between photosynthesis and phosphate nutrition. Mycorrhiza, 13(2), 59-68. Recuperado en 18 febrero de 2018, de: https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-002-0196-3

Cavagnaro, T. R. (2008). The role of arbuscular mycorrhizas in improving plant zinc nutrition under low soil zinc concentrations: a review. Plant and Soil, 304(1-2), 315-325. Recuperado en 1 marzo de 2018, de: https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-008-9559-7

Chatzistathis, T., Therios, I., & Alifragis, D. (2009). Differential uptake, distribution within tissues, and use efficiency of manganese, iron, and zinc by olive cultivars kothreiki and koroneiki. HortScience, 44(7), 1994-1999. Recuperado en 5 febrero de 2018, de: http://hortsci.ashspublications.org/content/44/7/1994

Citernesi, AS, Vitagliano, C., y Giovannetti, M. (1998). Crecimiento de las plantas y morfología del sistema radicular de los esquejes enraizados de Olea europaea L. influenciados por micorrizas arbusculares. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *73* (5) 647-654. Doi: doi.org/10.1080/14620316.1998.11511028

Dag, A., Yermiyahu, U., Ben-Gal, A., Zipori, I., & Kapulnik, Y. (2009). Nursery and post-transplant field response of olive trees to arbuscular mycorrhizal fungi in an arid region. Crop and Pasture Science, 60(5), 427-433. Doi: https://doi.org/10.1071/CP08143

Dučić, T., Parladé, J., & Polle, A. (2008). The influence of the ectomycorrhizal fungus Rhizopogon subareolatus on growth and nutrient element localisation in two varieties of Douglas fir (Pseudotsuga menziesii var. menziesii and var. glauca) in response to manganese stress. Mycorrhiza, 18(5), 227. Recuperado en 6 febrero de 2018, de: https://link.springer.com/article/10.1007/s00572-008-0174-5

Fernández-Escobar R. 1997. Fertilización. In: Barranco D, Fernández-Escobar R, Rallo L, editores. El cultivo del olivo. Madrid: Mundi-Prensa-Junta de Andalucía. p. 229- 249.

Gaude, N., Bréhélin, C., Tischendorf, G., Kessler, F., & Dörmann, P. (2007). Nitrogen deficiency in Arabidopsis affects galactolipid composition and gene expression and results in accumulation of fatty acid phytyl esters. The Plant Journal, 49(4), 729-739. Doi: https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02992.x

Hamdali, H., Bouizgarne, B., Hafidi, M., Lebrihi, A., Virolle, M. J., & Ouhdouch, Y. (2008). Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines. Applied Soil Ecology, 38(1), 12-19. a. Doi: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.08.007

Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M. J., & Ouhdouch, Y. (2008). Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphate solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions. Applied soil ecology, 40(3), 510-517. Doi: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.08.001

Jentschke, G., Brandes, B., Kuhn, A. J., Schröder, W. H., & Godbold, D. L. (2001). Interdependence of phosphorus, nitrogen, potassium and magnesium translocation by the ectomycorrhizal fungus Paxillus involutus. New Phytologist, 149(2), 327-337. Doi: https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00014.x

López Casado, G. M. (2006). Biomecánica de la epidermis y la cutícula del fruto de tomate (Solanum lycopersicum L.) y su relación con el agrietado. Recuperado en 6 febrero de 2018, de: http://hdl.handle.net/10630/2522

Tekaya, M., Mechri, B., Mbarki, N., Cheheb, H., Hammami, M., & Attia, F. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungus Rhizophagus irregularis influences key physiological parameters of olive trees (Olea europaea L.) and mineral nutrient profile. Photosynthetica, 55(2), 308-316. Doi: 10.1007/s11099-016-0243-5

Malusa, E., Sas-Paszt, L., Popińska, W., & Żurawicz, E. (2007). The effect of a substrate containing arbuscular mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms (Trichoderma, Bacillus, Pseudomonas and Streptomyces) and foliar fertilization on growth response and rhizosphere pH of three strawberry cultivars. International Journal of Fruit Science, 6(4), 25-41. Doi: https://doi.org/10.1300/J492v06n04_04

Marulanda, A., Porcel, R., Barea, J. M., & Azcón, R. (2007). Drought tolerance and antioxidant activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive Glomus species. Microbial ecology, 54(3), 543. https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-007-9237-y

Mechri, B., Manga, A. G., Tekaya, M., Attia, F., Cheheb, H., Meriem, F. B.,... & Hammami, M. (2014). Changes in microbial communities and carbohydrate profiles induced by the mycorrhizal fungus (Glomus intraradices) in rhizosphere of olive trees

(Olea europaea L.). Applied soil ecology, 75, 124-133. Doi: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.11.001

Mekahlia, M. N., Beddiar, A., & Chenchouni, H. (2013). Mycorrhizal dependency in the olive tree (Olea europaea) across a xeric climatic gradient. Advances in Environmental Biology, 7(9), 2166-2174. Recuperado en 16 febrero de 2018, de: https://www.researchgate.net/profile/Haroun_Chenchouni/publication/256841170_Mycorrhizal_dependency_in_the_olive_tree_Olea_europaea_across_a_xeric_climatic_gradient/links/00b7d523e03fc88195000000.pdf

Mengel, K., Kirkby, E. 2000. Principios básicos de nutrición vegetal. International Potash Institute. Basel, Swiitzerland. 692p.

Orłowska, E., Przybyłowicz, W., Orłowski, D., Turnau, K., & Mesjasz-Przybyłowicz, J. (2011). The effect of mycorrhiza on the growth and elemental composition of Ni-hyperaccumulating plant Berkheya coddii Roessler. Environmental Pollution, 159(12), 3730-3738. Doi: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.07.008

Palese A.M., Celano G., Xiloiannis C. 2000. Le esigenze nutrizionali dell olivo. Rivista di Frutticoltura, LXII, 10, 50-54

Pasqualini, D., Uhlmann, A., & Stürmer, S. L. (2007). Arbuscular mycorrhizal fungal communities influence growth and phosphorus concentration of woody plants species from the Atlantic rain forest in South Brazil. Forest Ecology and Management, 245(1-3), 148-155. Doi: https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.04.024

Rotundo, A. Lombardo, N. Marone E. y Fiorino P (2007). La nutrizione minerale e le concimazioni. EN Olea Trattato di olivicoltura, Fiorino P edagricole Bologna Italia.

Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F., & Huang, Y. (2009). Influence of arbuscular mycorrhizae on the root system of maize plants under salt stress. Canadian journal of microbiology, 55(7), 879-886. Doi: https://doi.org/10.1139/W09-031

Shokri, S., & Maadi, B. (2009). Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on the mineral nutrition and yield of Trifolium alexandrinum plants under salinity stress. J Agron, 8(2), 79-83. Recuperado en 1 de octubre de 2017, de: http://www.docsdrive.com/pdfs/ansinet/ja/2009/79-83.pdf

Simon, L., Bousquet, J., Lévesque, R. C., & Lalonde, M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. Nature, 363(6424), 67. Doi: 10.1038/363067a0

Smith S.E, Read D.J.: Mycorrhizal symbiosis. London: Academic Press. (2008). Doi: https://doi.org/10.1023/A:1000902213906

Sudová, R. (2009). Different growth response of five co-existing stoloniferous plant species to inoculation with native arbuscular mycorrhizal fungi. Plant Ecology, 204(1), 135-143. Doi: https://doi.org/10.1007/s11258-009-9576-5

Tafolla-Arellano, J. C., González-León, A., Tiznado-Hernández, M. E., Zacarías García, L., & Báez-Sañudo, R. (2013). Composición, fisiología y biosíntesis de la cutícula en plantas. Revista fitotecnia mexicana, 36(1), 3-12. Recuperado en 10 de mayo de 2018, de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802013000100001&script=sci_arttext&tlng=en

Welch, S. A., Taunton, A. E., & Banfield, J. F. (2002). Effect of microorganisms and microbial metabolites on apatite dissolution. Geomicrobiology Journal, 19(3), 343-367. Doi: https://doi.org/10.1080/01490450290098414

Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. Journal of experimental Botany, 52(suppl_1), 487-511. Doi: https://doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl_1.487

Wu, Q. S., & Zou, Y. N. (2010). Beneficial roles of arbuscular mycorrhizas in citrus seedlings at temperature stress. Scientia Horticulturae, 125(3), 289-293. Doi: https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.04.001

CAPÍTULO IV

IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN LA RIZOSFERA DEL OLIVO

GENUS OF ARBUSCULAR MICORRÍZIC FUNGI IDENTIFIED ON THE RHIZOSPHERE OF THE OLIVE TREE

Resumen

El olivo es una planta micotrófica y se presume que la existencia de la micorrización ocurre como una estrategia de la planta para su adaptación a las condiciones de clima y suelo difíciles, situación que se ve incrementada en el trópico. La colonización micorrícica observada en regiones tropicales es abundante, presentando además diversidad de géneros y especies de acuerdo a lo observado a partir de la identificación de algunos géneros de hongos micorrícicos en los olivos cultivados en el Alto Ricaurte a través de parámetros morfológicos, actividad que permitió encontrar quince géneros y algunas especies que corresponden igualmente a los que colonizan el olivo en regiones del mediterraneo: *Glomus, Acaulospora, Sclerocystis, Funeliformis, Paraglomus, Claroideoglomus, Intraspora* y *Diversispora* entre los más abundantes. Sin embargo, se encontró que bajo las condiciones edafo climáticas del trópico, Glomus Intraradices es más abundante en esta zona geográfica respecto a Jaén España; y que otras especies de *Glomus* referenciadas en distintas regiones no estaban presentes en el trópico; de otra parte, las condiciones de pH fuertemente ácido limitan la actividad de los hongos presentes y no permiten la presencia de otros géneros por el bloqueo de nutrientes como el P, Mg, Ca y B. No obstante, es preciso efectuar a partir de la identificación mediante técnicas de morfología realizada en este estudio, una caracterización con técnicas moleculares que permita mayor precisión en la identificación de las especies presentes en esta zona para avanzar en el conocimiento de su relación con los olivos en esta región en particular.

Palabras Clave
Acaulospora, fosfatos, géneros, *glomus*, trópico.

Abstract

The olive tree is a mycotrophic plant and, the existence of mycorrhization might occur as strategic of the plant to adapt itself to the climate conditions and difficult soils, and this situation is increased in the tropic. Therefore, in tropical regions the mycorrhizal colonization is abundant also, it has diversity of species according to what the research observed from the identification of some genera of mycorrhizal fungi in the olive trees grown in the Alto Ricaurte through morphological parameters. Hence this activity allowed to find fifteen genera and some species which also, they are who colonize the olive tree in Mediterranean regions as they are *Glomus, Acaulospora, Sclerocystis, Funeliformis, Paraglomus, Claroideoglomus, Intraspora* and *Diversispora* among the most abundant. However, under the edaphoclimatic conditions of the tropics the Glomus Intraradices is more abundant in this geographical area compared to Jaen in Spain moreover, other *Glomus* species referenced in different regions were not present in the tropics. From elsewhere, the strongly acids conditions of pH. restrict the activity of the fungi present and do not allow the presence of other genera by blocking nutrients such as, P, Mg, Ca and B. Nevertheless the identification by morphology techniques are carried out in this study and, characterization with molecular techniques that allows greater precision in the identification of the species present in this area to move along knowing the relation of the olive trees in this region particularly.

Key words
Acaulospora, phosphates, genera, *Glomus*, tropics

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) están presentes en la mayoría de los suelos y su distribución puede ser muy heterogénea en un mismo sitio en cuanto a diversidad y número (Sieverding, 1986). Se sabe que la micorriza no solo contribuye en la nutrición de la planta al explorar mediante su micelio un mayor área de suelo del que está al alcance de la raíz, facilitando así la adquisición de minerales por la planta (Smith & Read, 1997), sino que además aumenta la actividad microbiana, mejorando la nutrición del suelo (Bethlenfalvay & Linderman, 1992), sin embargo, su presencia puede alterarse por los fosfatos de hierro y aluminio que tienden a formarse con mayor frecuencia en suelos extremadamente ácidos y que afectan la esporulación de los HMA (Peña *et al*., 2007).

Los HMA tienen un efecto diferente de acuerdo con la especie vegetal a la que estén asociados, es decir, no son específicos (Rodríguez *et al*., 2004; Posada, 2001; Clark *et al*., 1999; Smith *et al*., 1997;), sin embargo, los efectos que los HMA causan sobre el crecimiento de las plantas, indican que responden a especies concretas de HMA (Van Der Heijden, *et al*., 1998;) y consecuentemente, hay un aumento en la diversidad y productividad de los vegetales en un ecosistema determinado (Van Der Heijden, 1998), entre variedades de olivo se presentan diferencias con respecto a la colonización del sistema radicular (Chatzistathis *et al*, 2013). Esta planta, que se adaptó a las condiciones del trópico alto andino, produce frutos de alta calidad organoléptica, aunque su estado siempre verde propio en este ambiente, probablemente haya impactado su actividad fisiológica, situación que redunda en la microbiología del suelo.

Entre las particularidades de la simbiosis HMA-planta se consideran: su beneficio para equilibrar el estrés salino (Sheng *et al*., 2009) y edáfico (Doubková *et al*., 2012), protección contra nematodos (Castillo *et al*., 2006), mejora de la eficiencia en el uso del agua (Boland Nazar *et al*., 2007, González, *et al*., 2004) y la captura de nutrientes del suelo, especialmente del fósforo, mediante la producción de exudados, compuestos de naturaleza volátil o difusible, para la elongación hifal que es mayor en plantas deficientes en fósforo (Elías & Safir, 1987), el cual es solubilizado y transferido a la planta por algunos HMA, dado que en los suelos del trópico, tiende a inmovilizarse por las condiciones propias de la zona (Warda *et al*., 2012; Cardoso & Kuyper, 2006; Colozzi & Cardoso, 2000; Sieverding, 1991; Allen, 1991), circunstancias que repercuten en la calidad del fruto (Nzanza *et al*., 2012). Entonces, teniendo en cuenta las anteriores consideraciones, se presume que la naturalización de estas plantas al medio obedece a la existencia de HMA, encontrados por Sánchez (2014) en los olivos en el Alto Ricaurte, en un periodo en el que la precipitación en los tres últimos años ha sido de menos del promedio anual (IDEAM, 2013); adicionalmente no se observan síntomas de carencia nutricional.

De acuerdo a Ruíz *et al*. (2012), las plantas micorrizadas requieren de un suministro de nutrientes para garantizar sus requerimientos, este efecto fue observado tanto en condiciones de micorrización efectiva vía colonización de especies eficientes, como en situaciones de menor efectividad como la obtenida a través de la colonización nativa, sin embargo, dosis altas de fertilizantes disminuyen fuertemente la eficiencia de la micorrización e inclusive inhiben este proceso, aplicaciones altas de fertilizantes minerales, por encima del 50 % NPK conllevan a inhibiciones crecientes de la simbiosis, la cual prácticamente desaparece en presencia de la dosis de 100 % NPK, probablemente en razón a que si el nivel de P en el suelo es alto, la raíz de la planta puede absorberlo por si misma (Blanco & Salas, 1997).

En otros trabajos, como el del CIAT (1981) existen reportes de que *Glomus* es el género que mejor se adapta a suelos ácidos de baja fertilidad, por su parte, Ruíz

et al. (2012) encontraron que el tipo de suelo parece ser el factor fundamental que gobierna la efectividad de la colonización con una u otra especie, siendo por tanto este, el criterio fundamental para seleccionar los hongos más eficientes, ya que de forma general todo parece indicar que los mismos serán efectivos para muchas de las especies vegetales que se cultiven y que establezcan este tipo de simbiosis.
En este sentido, Gianinazzi & Diem (1982), determinaron que las bacterias de vida libre como *Azotobacter* y *Azospirillum* aumentaron su población en la rizosfera de la planta hospedera al estar micorrizadas las raíces. Por su parte, Edwards *et al*. (1998) señalan que las micorrizas podrían captar los iones fosfato que se liberan por acción de las bacterias solubilizadoras de fósforo, debido a la mayor capacidad que poseen para explorar el suelo a través de las hifas.

Considerando la micotrofia de esta planta, ha surgido la necesidad de identificar morfológicamente los géneros de HMA nativos habitantes de su rizósfera y conocer el porcentaje de colonización, así como el número de esporas presentes, ahondando tanto en sus estrategias para tolerar las condiciones edáficas y climáticas del trópico alto andino dentro de prácticas de poda: vaso y globo, y crecimiento libre, que alteran la composición de los exudados de la raíz, pero que hacen parte del manejo agronómico requerido por los olivos para conseguir producción más constante y exuberante, como en su diversidad en esta zona geográfica en particular, con el fin de proyectar un manejo que favorezca a esta población nativa identificada.

La medición del número de esporas de HMA y los géneros presentes en la raíz de olivos se realizó en el departamento de Boyacá, en el municipio de Sutamarchán, vereda Roa, en el huerto “Olivanto”, en plantas de 5 años de edad. Las observaciones se realizaron en olivos podados en vaso y globo y en crecimiento libre. Durante la fase de campo se recolectaron 200 gramos de suelo de la zona de plateo para cuantificar las esporas a 20 cm de profundidad por 15 cm de ancho en cuatro submuestras.

El método de laboratorio para la extracción de esporas se desarrolló empleando los siguientes reactivos: solución de sacarosa al 70%, PVLG (Koske & Tessier, 1983) y PVLG: Melzer (Morton & Benny, 1990), también materiales como: jeringa normal para limpieza estereoscópica de las esporas, porta y cubreobjetos, gotero, espátula de punta fina, tubos para centrífuga de 50 ml y frasco lavador y equipos como: juego de tamices Nº. 10, 35, 125 y 325 (2 mm – 450 µm – 120 µm y 40 µm, respectivamente), microscopio, estereoscopio, centrífuga a 3350 rpm. en ángulo libre, jeringa para sacarosa, dispositivo colector de esporas y balanza con dos cifras significativas.
El método para extracción de esporas empleado fue el de Sieverding (1984), el cual consistió en la utilización de tres tamices superpuestos (710 µm, 45 µm y 38 µm respectivamente), en el tamiz superior (710 µm) se depositó cada muestra de 50 gramos de suelo, se lavó con abundante agua hasta que se estimó incolora al fluir por el último tamiz (38 µm), el material que quedó filtrado en el tamiz de 45 µm

se depositó en dos tubos de centrifugado con capacidad para 13 ml, del mismo modo se hizo con el que quedó acumulado en el de 38 µm; luego se agitó el fondo de cada tubo con ayuda de una espátula de punta fina, en seguida, con la jeringa para sacarosa se tomaron aproximadamente 40 ml de sacarosa al 70% y se adicionó a presión al fondo de cada tubo preparado hasta completar 13 ml. La jeringa se lavó superficialmente con agua, después de cada adición. A continuación, se llevaron los tubos a una centrífuga con ángulo libre, se equilibraron los pesos de los tubos con agua y se centrifugaron a 3600 rpm durante 4 minutos. Pasado este tiempo se extrajo con la jeringa para sacarosa la fase intermedia de los tubos llevando la manguera hasta este nivel y tomando todo lo existente hasta la unión de la fase acuosa con el suelo, principalmente el material contenido en el límite sacarosa–agua, donde se acumulan las esporas, el contenido de la jeringa se pasó por un tamiz de 45 y otro de 38 µm, se lavó con agua de grifo y con frasco lavador se pasó el material restante a cajas de Petri para limpieza y extracción manual de las esporas, las fracciones extraídas de cada tamiz se procesaron por separado.

La identificación de los géneros de HMA por morfología de las esporas se llevó a cabo mediante la observación de las características morfológicas, en cajas de Petri se efectuó la limpieza de las esporas (eliminación de restos de otros materiales). Se separaron las esporas en dos grupos, por tamaño 38 y 45 µm.
Se tomaron cada uno de los dos grupos sobre portaobjetos y se secaron al ambiente, se les agregó una o dos gotas de PVLG.

Después de 2 minutos se cubrieron con cubreobjetos y se rotularon las placas.
Para la identificación de los géneros de HMA, se buscó reconocer las estructuras morfológicas y características de desarrollo de las esporas, así como sus variaciones, teniendo en cuenta lo siguiente: hifa de conexión o soporte, sáculo esporífero, formación, pared y capa, tallo, cicatriz, escudo de germinación, células auxiliares, vesículas, ornamentación y color (INVAM, 2009).

Tradicionalmente, los estudios de identificación de HMA se han fundamentado en la morfología y en las características de las esporas y, a pesar de que en la actualidad se hace uso de técnicas moleculares, no se puede desconocer el valor de los métodos morfológicos en la identificación y caracterización de géneros. Existen reportes de la presencia de diversos géneros de HMA que colonizan de manera abundante a los olivos de suelos tropicales como lo demostró Sánchez (2012) en plantas de tres años de edad que mostraron una colonización entre 68 y 98%, también reportó niveles de nutrientes en la rizósfera para P de hasta 753 ppm en promedio, para Ca entre 35.9 Cmol/Kg y 46.1 Cmol/Kg y para K 2,36 Cmol/Kg, lo que representa exceso de estos elementos y como consecuencia, entre los olivos y los HMA no existiría asociación en razón a que la raíz tomaría directamente los nutrientes; de la misma manera, determinó que en 50 g de suelo hubo una media de 290 esporas, valor catalogado como alto y coincide con el presente estudio donde el promedio para cada uno de los tratamientos en una

muestra de 50 g mostró lo siguiente: en 50 g de suelo hubo un promedio de 4215, es decir; para poda en vaso 1799, para poda en globo 2276 y para crecimiento libre 2269 esporas, y la media de colonización en 74.9% donde en T1 (poda en vaso) se encontraron 1779 esporas, en T2 (poda en globo), 2276 y en T3 (crecimiento libre), 2269.

Teniendo en cuenta que por la misma condición existe una alta colonización y un alto contenido de esporas, a partir del análisis morfológico de las esporas se lograron identificar 15 géneros de HMA asociados al olivo, siendo G*lomus* el más común con presencia en la totalidad de los tratamientos, seguido por *Acaulospora,* presente en seis repeticiones de T1, en cinco de T2 y en tres de T3.
El género *Glomus* del orden glomerales familia glomeraceae tiene formación de esporas terminales en las hifas, la espora muestra una pared, tiene un tubo germinal a través de hifas¸ y dentro de la planta se logran identificar vesículas arbúsculos e hifas teñidas con azul de tripano. A este género pertenecen varios grupos que se diferencian como grupos Aa, Ab y Ac, así: *Glomus* Grupo Aa: muestra esporas solitarias e hifa de soporte del mismo color de la espora además, hifa de conexión tipo glomoide, *Glomus* Grupo Ab: Esporas agregadas y desarregladas y Glomus Grupo Ac: tiene esporas agregadas alrededor de un punto central, característico en Glomus taiwanense (Sánchez de P. *et al.,* 2010).

En la rizósfera de los olivos cultivados en el Alto Ricaurte se identificaron 15 géneros (figura 8) dentro de los cuales, el que estuvo presente en mayor medida fue *Glomus,* identificado en todos los tratamientos, *Glomus intraradices* solo se halló en una de las ocho repeticiones del tratamiento T3 (crecimiento libre), siendo esta situación muy diferente a lo encontrado por Calvente *et al*. (2004), quienes reportaron que *G. intraradices* en la variedad de olivo Arbequino y Lechino mostró el nivel de colonización más alto, influyendo en la respuesta de crecimiento considerable (33% de la eficacia del inóculo) en este cultivar, en la provincia de Jaén en España en olivos de cinco años de edad.
Por su parte Meddad-Hamza *et al*. (2010) encontraron que *G. mosseae*, aunque con un nivel significativamente más bajo de colonización (51,06%) que *G. intraradices* (69,96%), tuvo efecto sobre el crecimiento de la planta del olivo. Los valores del aumento de peso total en fresco fue de 376% en el caso de *G. mosseae* y de 226% para *G. intraradices*, lo que puede explicar la participación del hongo en la recuperación de las plantas con poda.
También fue identificado *Glomus brohultii* en tres plantas con poda en vaso (T1), en cuatro con poda en globo (T2) y en cuatro también en crecimiento libre (T3), el que representa el mayor número de esporas por cada 50 g de suelo en esas condiciones de poda, lo que puede estar relacionado con que este tipo de poda permite la mayor área foliar de estas plantas. Boldt *et al*. (2011) y Harris *et al*. (1985) encontraron que la tasa de fotosíntesis en las plantas micorrizadas fue significativamente más alta que la de las plantas no micorrizadas, la clorofila aumentó cuando era colonizada por *Rhizophagus irregularis*, un hongo que no se encontró en el trópico.

Por otra parte, *Glomus brohultii* forma esporas elipsoides a subglobosas o irregulares o globosas, de color marrón amarillento a marrón, con tamaño entre 95 y 105 µm de diámetro, la pared laminada lisa de 3,5-16 µm de grosor con dos capas que son las delgadas externas. La conexión de las hifas suele ser recurvada, frecuentemente tiene una forma bulbosa o bifurcada, o es recta. El poro de la conexión de hifas a menudo está cerrado por un tabique. La forma de la conexión de hifas diferencia a esta especie de otras especies de Glomerales.
Por su parte, Kachkouch *et al*. (2012) encontraron varias especies pertenecientes al género *Glomus* (*G. clarum, G. etunicatum* y *G. versiforme*), pero diferentes a las presentes en el trópico.

El género *Acaulospora***,** del orden *Diversisporales*, familia *Acaulosporaceae*, tiene formación de esporas acaulosporoide, la mayoría de las esporas son ornamentadas, solo cinco especies, no lo son. Las especies se diferencian por la ornamentación de la pared, presenta tres paredes externas con tres capas, mediana, delgada y hialina con dos capas, la interna con 2-3 capas; la germinación ocurre a través de la pared; se diferencian por la tinción con azul de tripano, presentan hifa, vesícula y arbúsculo, hay presencia de sáculo, pero es lateral y no terminal, por lo tanto no presentan tallo. Este género se encontró en el tratamiento con poda en vaso (T1) en seis repeticiones, en cinco con poda en globo (T2) y en tres con crecimiento libre (T3).
De este género se encontraron: *A. mellea* en tres plantas con manejo de poda en vaso (T1), en cuatro con poda en globo (T2) y en cuatro también en plantas con crecimiento libre (T3), lo que también parece estar relacionado con la mayor área foliar consecuencia de la mayor densidad de hojas, mayor presencia de esporas por cada 50 g de suelo; de este género también se reportan *A. paulinae*, encontrado en una de las plantas en poda en vaso, *A. scrobiculata* con cuatro en el tratamiento poda en globo y *A. denticulata*, con una en poda en globo, varios factores (prácticas agrícolas como aplicación de pesticidas, fertilizantes, fungicidas, podas, etc.) pueden afectar el desarrollo de los HMA y sus relaciones con las plantas hospedadoras (Moreira & Siquiera, 2006), no obstante, tanto los altos niveles de P en la rizósfera de los olivos muestreados en el Alto Ricaurte, el % de colonización, el número de esporas y la diversidad presentes en el trópico son altos respecto a estudios en el mediterráneo.

En estudios de Kachkouch *et al*. (2012), el género *Acaulospora*, caracterizado por presentar esporas que se vuelven sésiles después del desprendimiento de su saco esporífero, encontraron solo una especie, pero no la identificaron, diferente a lo observado en el Alto Ricaurte, donde existe una importante presencia de este género llegando a 31 individuos de diferente especie, lo que puede estar relacionado con la afinidad de estos con los exudados de la raíz en el trópico; Tekaya *et al*. (2016) comenta de su trabajo que los azúcares exudados por la raíz son disímiles en las diferentes variedades de olivo y que esto es dependiente de las condiciones edáficas y climáticas del lugar, para el caso del trópico en

particular y debido a que no se conoce con certeza la variedad, ser presume por el resultado del porcentaje de colonización que existe afinidad entre hongos y raíz.

En lo referente al género *Sclerocystis*, el cual pertenece al orden glomerales, familia *glomeracea*e, con la especie *coremioides*, las esporas están dispuestas en una capa hemisférica, formando una "cabeza" y un tallo corto; no se forman esporas en la base del esporocarpo. El género *Sclerocystis* se mantiene con una especie, *S. coremioides, S. coccogena, S. dussii* y *S. alba.* Se consideran sinónimos de *S. coremioides*. Otras cinco especies de *Sclerocystis* se trasladan a los géneros *Glomus, G. clavisporum, G. liquidambaris, G. rubiforme, G. sinuosum* y *G. taiwanense*. Las cinco especies restantes de *Sclerocystis* descritas se consideran sinónimas de una de estas últimas especies (Rogerico, 1990). En el trópico este hongo se encontró en cinco olivos podados en vaso, cinco en globo y cuatro en crecimiento libre del cual no se identificaron especies.

El género *Funneliformis* pertenece al orden *Glomerale*s, familia *Glomeraceae*, sus esporas tienen de 18 a 370 µm de diámetro, forman esporas agregadas, de color claro a oscuro, unida a la hifa en forma de V invertida, la espora tiene una pared de varias capas (Sánchez de P. *et al*., 2010), su estructura germinativa es el tubo germinal y desarrolla hifa, vesícula y arbúsculo (Oehl *et al*. 2011). En el presente estudio se identificó *Funneliformis mosseae* en cuatro olivos podados en vaso, en uno podado en globo y en dos con crecimiento libre

El género *Entrophospora* (*Acaulosporaceae*) se caracteriza generalmente por esporas formadas dentro de una hifa en forma de embudo que termina en una vesícula. Este género solo se identificó en un olivo con poda en vaso lo que coincide con Kachkouch *et al*. (2012), quienes identificaron una sola especie: *Entrophospora kentinensis*, caracterizada por esporas globosas a subglobosas. Las paredes de estas esporas están compuestas de dos capas: la capa externa es hialina y la capa interna (capas) es amarillo - marrón.

El género *Paraglomus*, orden *Paraglomeromycetes*, familia *Paraglomeraceae*, presenta una pared con varias capas, la externa se desprende, la media es laminada y la interna lisa u ornamentada, tiene esporas de hialinas a colores muy pálidos, pequeñas y presencia de hifa de conexión en forma de colita de marrano. Germinan por la luz de la hifa de soporte. No producen vesículas, las esporas miden entre 50-130 µm de diámetro. *P. brasilianum*, *P. laccatum*, *P. occultum* forman hifa y arbúsculo. En los olivos del Alto Ricaurte están presentes en los tratamientos de manejo con poda en vaso en seis repeticiones, en poda en globo en una y en crecimiento libre en tres, como se aprecia, tiene un comportamiento similar a *Funneliformis*, así mismo se puede inferir que la mayor presencia está en un pH promedio de 4,89, catalogado como muy fuertemente ácido.

El género *Claroideoglomus*, del orden *Glomerales*, familia *Claroideoglomeraceae*, es un hongo simbiótico del filo *Glomeromycota*. Estos hongos son todos

mutualistas biotrópicos. La mayoría forman micorrizas arbusculares para intercambiar nutrientes con las plantas. La formación de esporas presenta una pared, tiene una estructura germinativa a través de las hifas, se encontró en olivos con poda en vaso en tres repeticiones, en globo en cuatro y en crecimiento libre en dos.

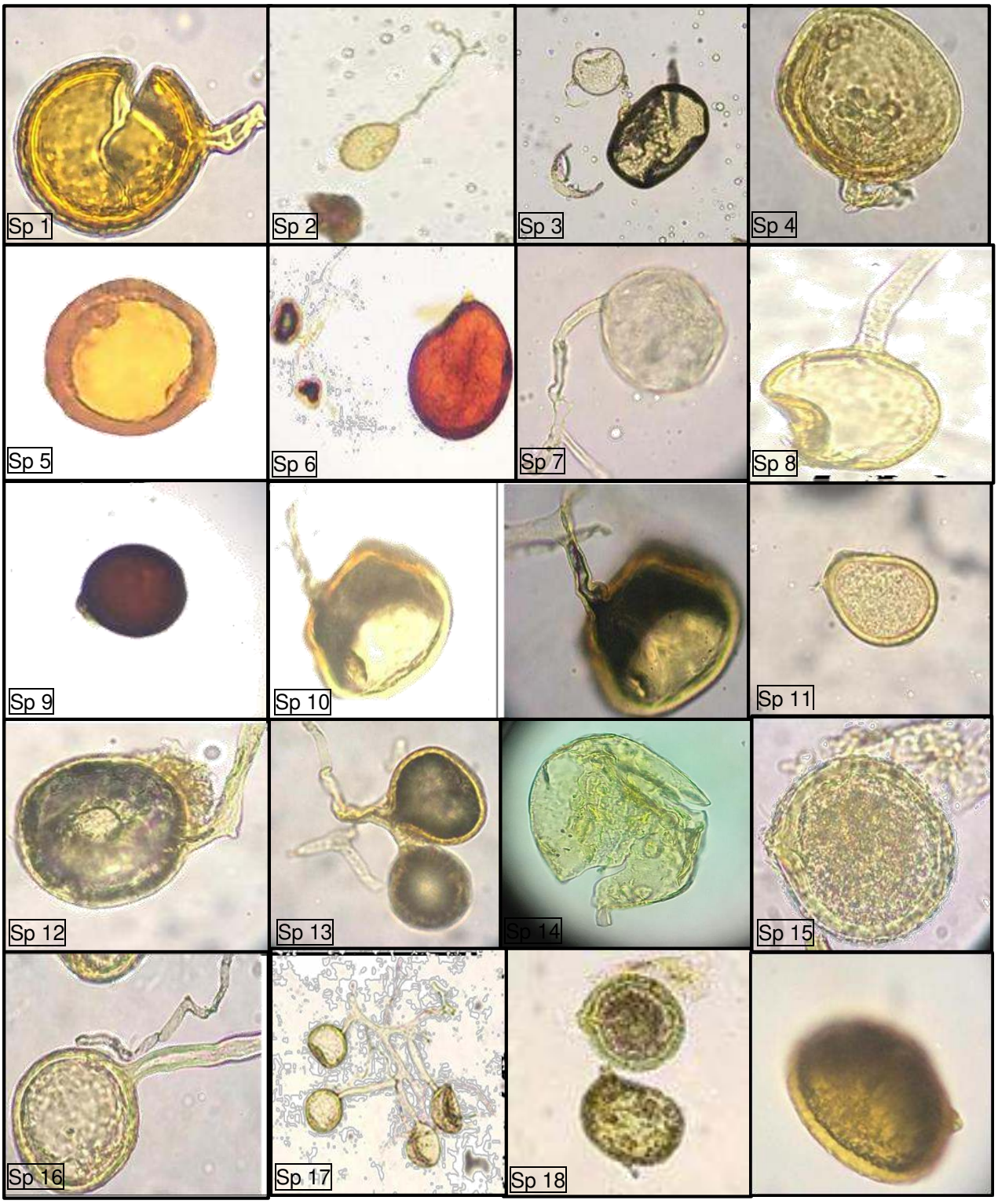
Intraspora, pertenece al orden *Archaeosporomycetes Archaeosporales*, Familia *Archaeosporaceae*; Formación de esporas: Bimorfo: Entropho-& Glomo-intrasporoide globosas a subglobosas, usualmente piriformes como en *I. schenkii*. Con espora de dos paredes (Ac) 1 (Gl); no se conoce estructura germinativa específica, forma arbúsculo e hifas. En el estudio se encontraron dos en poda en vaso, en globo cuatro y en crecimiento libre cuatro.

El género *Diversispora*, pertenece al orden *Diversisporales*, familia *Diversisporaceae*, Formación de esporas: Glomoide Diversisporoide sensu stricto; sus esporas presentan una pared; su germinación se da a partir de una estructura germinativa específica o tubo germinal a través de hifas; forma vesícula y arbúsculo, se conocen: *Glomus* grupo *diversispora*. *D. eburnea, D. spurca* y *D. versiforme*. En la rizosfera de los olivos en el Alto Ricaurte se identificó uno en olivo podado en vaso, tres en poda en globo y cuatro en crecimiento libre, lo que puede estar relacionado con que la mayor presencia está asociada al % de materia orgánica que está en 1,8%, mientras que en las otras dos condiciones de poda está en 0,76 para vaso y 0,77% para globo.

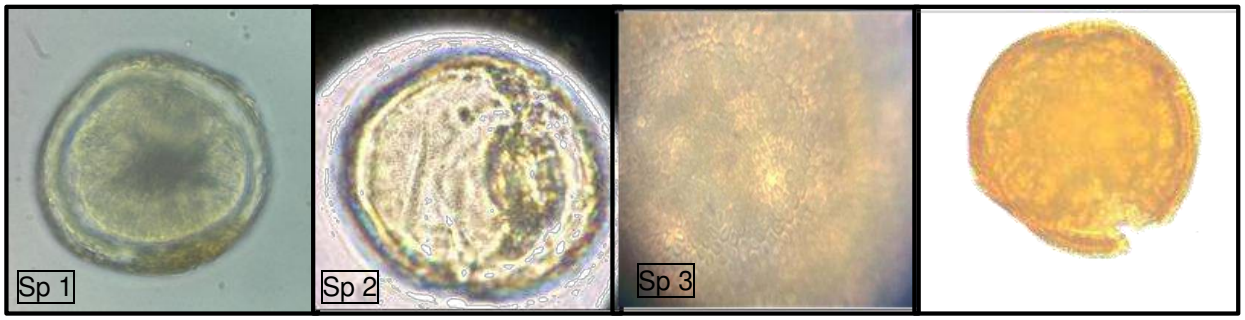
Se hallaron otros géneros en pocas cantidades, lo que puede deberse a la condición de pH, al contenido de materia orgánica y el de fósforo del suelo; estos son parámetros que definen en gran parte la eficiencia de los HMA que se desarrollan (Williams *et a*l., 1992; Schweiger *et al*., 2007). Así por ejemplo, se encontraron *Ambispora*, la cual estuvo presente en cinco olivos, de ellos, dos con poda en vaso, uno en globo y dos en crecimiento libre, lo que sugiere que las condiciones abióticas del trópico no permiten una mayor proliferación. También fueron identificados dos *Tricispora*, dos *Archaeospora*, dos *Kuklospora* y un *Scutellospora*; este último género se caracteriza por esporas que tienen una hifa expandida hasta la salida de la espora con la presencia de un escudo de germinación (Kachkouch *et. al*., 2012), de acuerdo a los trabajos de este investigador este género fue reportado con una sola especie que no fue identificada.

Figura 8. Géneros identificados

Glomus

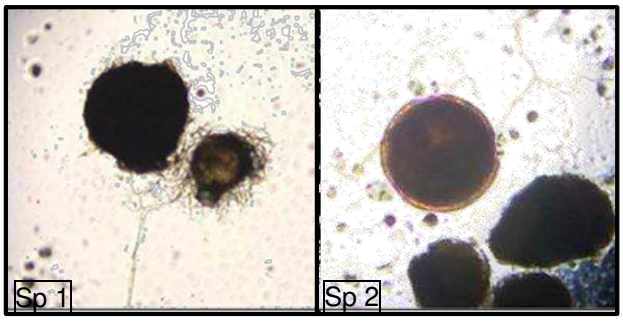


Acaulospora

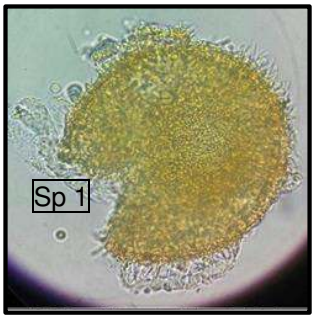


Sclerocystis

Funneliformis



Entrophospora



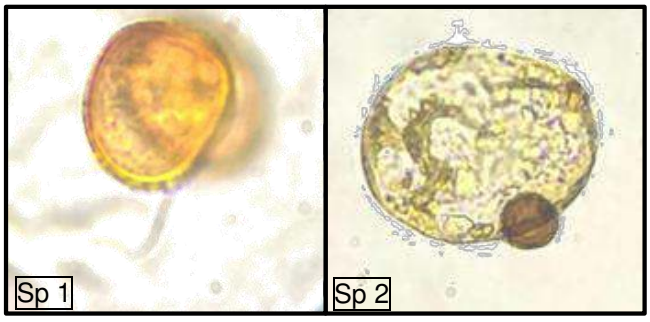
Paraglomus

Claroideoglomus

Intraspora

Diversispora

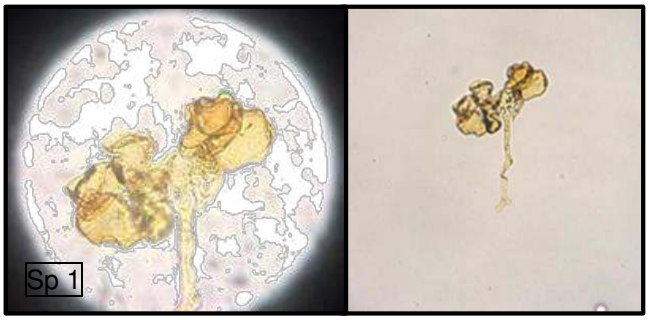
j. *Ambispora*



Tricispora

Archaeospora

Kuklospora



CONCLUSIONES

La mayor diversidad de géneros se encontró en el tratamiento poda en vaso y la menor en el tratamiento poda en globo.

Se encontraron 15 géneros, el más abundante fue *Glomus* que estuvo presente en todos los tratamientos, de este se destaca *G. Broultii* presente en todos los tratamientos y *G. intraradices* con un solo hallazgo en crecimiento libre.

De *Acaulospora,* se encontraron cuatro especies, de las cuales se identificaron tres especies (*A. mellea, A. paulinae, A. scrobiculata* y *A. denticulata*).
Sclerocystis estuvo presente en todos los tratamientos al igual que *Paraglomus*, *Claroideoglomus* e *Intraspora*.

BIBLIOGRAFÍA

Almeida, R. T., & Schenck, N. C. (1990). A revision of the genus Sclerocystis (Glomaceae, Glomales). *Mycologia*, 703-714. Recuperado 8 de mayo de 2018, de: http://www.jstor.org/stable/3760157

Bethlenfalvay, G. J. (1993). Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. Symbiosis. Recuperado: 10 de mayo de 2018, de: http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301769894

Blanco, F., & Salas, E. (1997). Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía costarricense*, *21*(1), 55-67. Recuperado: 10 mayo de 2018, de: http://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Micorrizas%20y%20nutricion%20mineral.pdf

Boldt, K., Pörs, Y., Haupt, B., Bitterlich, M., Kühn, C., Grimm, B., & Franken, P. (2011). Photochemical processes, carbon assimilation and RNA accumulation of sucrose transporter genes in tomato arbuscular mycorrhiza. *Journal of plant physiology*, *168*(11), 1256-1263. Doi: https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.01.026

Calvente, R., Cano, C., Ferrol, N., Azcón-Aguilar, C., & Barea, J. M. (2004). Analysing natural diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in olive tree (Olea europaea L.) plantations and assessment of the effectiveness of native fungal

isolates as inoculants for commercial cultivars of olive plantlets. *Applied Soil Ecology*, *26*(1), 11-19. Doi: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2003.10.009

CIAT (CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL). Programa de yuca. Proyecto Micorrizas. Informe anual—Cali: CIAT, 1981—p. 57-87.

Clark, R. B., Zeto, S. K., & Zobel, R. W. (1999). Arbuscular mycorrhizal fungal isolate effectiveness on growth and root colonization of Panicum virgatum in acidic soil. *Soil Biology and Biochemistry*, *31*(13), 1757-1763. Doi: https://doi.org/10.1016/S0038-0717(99)00084-X

Edwards, S. G., Young, J. P. W., & Fitter, A. H. (1998). Interactions between Pseudomonas fluorescens biocontrol agents and Glomus mosseae, an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere. *FEMS Microbiology Letters*, *166*(2), 297-303. Doi: https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13904.x

Elias, K. y Safir, G. (1987). Hyphal elongation of Glomus fasciculatus in response to root exudates. Applied and Environmental Microbiology, 53(8), 1928-1933. Recuperado: 8 de mayo de 2018, de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC204027/pdf/aem00125-0216.pdf

Gianinazzi, V., Diem, T. Clerver Y y Loquers S. Relation between the critical concentration of nitrogen, phosphorus and potassium in 17 different vegetables crops and duration of growth. J. Sci. Food. Agric 31(12):1343-1353, 1982.

Harris, D., Pacovsky, R. S., & Paul, E. A. (1985). Carbon economy of soybean–Rhizobium–Glomus associations. *New Phytologist*, *101*(3), 427-440. Doi: https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1985.tb02849.x

Herrera-Peraza R. Ferrer R. Sieverding E. (2003). Glomus brohultii: una nueva especie en la micorriza arbuscular que forma glomerales

International collection of Arbuscular & vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi. (INVAM,). 20. URL disponible en: https://invam.wvu.edu/

Kachkouch, W., Ouazzani A. Touhami, Filali-Maltouf, A. Cherkaoui Modafar, E. Moukhli, A. Oukabli, A. Benkirane R. & Douira A. (2102) Arbuscular mycorrhizal fungi species associated with rhizosphere of Olea europaea L. in Morocco Journal of Animal & Plant Sciences, 2012. Vol.15, Issue 3: 2275-2287

Mechri B, Attia F, Tekaya M, Cheheb H, Hammami M, Colonisation of olive trees (Olea europaea L.) with the arbuscular mycorrhizal fungus Glomus sp modified the glycolipids biosynthesis and resulted in accumulation of unsaturated fatty acids, Journal of Plant Physiology (2014). Doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2014.04.005

Meddad-Hamza, A., Beddiar, A., Gollotte, A., Lemoine, M. C., Kuszala, C., & Gianinazzi, S. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth of olive trees and their resistance to transplantation stress. African Journal of Biotechnology, 9(8). Doi: http://dx.doi.org/10.5897/AJB09.1282

Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., & Ineichen, K. (2011). Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA fungus*, *2*(2), 191-199. Doi: https://doi.org/10.5598/imafungus.2011.02.02.10

Oliveira Santana Carvalho, N., Pelacani, C. R., Oliveira de Souza Rodrigues, M., & Crepaldi, I. C. (2006). Crescimento inicial de plantas de licuri (Syagrus coronata (Mart.) Becc.) em diferentes níveis de luminosidade. *Revista Árvore*, *30*(3). Recuperado: 9 de mayo de 2018, de: http://www.scielo.br/pdf/rarv/v30n3/a05v30n3

Peña, C., Cardona, G., Argüelles, J., y Arcos, A. (2007). Micorrizas arbusculares del sur de la amazonia colombiana y su relación con algunos factores fisicoquímicos y biológicos del suelo. Acta Amazónica, 37(3), 327-336. Doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672007000300003

Posada, R. Presencia de propágulos de hongos de micorriza arbuscular en muestras de hojarasca alrededor de dos especies arbóreas en un bosque húmedo tropical. *Acta biológica colombiana*, 6(1): 47-55. (2001). Recuperado en 11 de mayo de 2018, de: https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/63467/pdf

Rodríguez Y., Noval B., Fernández F. y Rodríguez P. (2004). Comparative study of behaviour of six arbuscular mycorrhizal fungi when colonize tomato plants (Lycopersicon esculentum M. var “Amalia”). *Ecología Aplicada*, *3*(1-2), 162-171. Recuperado en 11 de mayo de 2018, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-2162004000100023&lng=es&tlng=en.

Rougemont, M. (2007). Les mycorhizes et l’olivier: Effets sur le développement des plants en pépinière et en verger. *Proc Journées Méditerranéennes de l’Olivier, Meknès (Morocco), Oct*, 22-26.

Ruiz, L. Simo, J. Rodriguez, S. y Espinosa, R. (2012) SN - 978-3-8484-5382-5. Las micorrizas en cultivos tropicales. Una contribución a la sostenibilidad agroalimentaria. Primera edición. ISBN 978-3-8484-5382-5. Publisher: Editorial Académica Española. Recuperado 10 mayo 2018, de: https://www.researchgate.net/profile/Ramon_Espinosa/publication/299979733_Las_micorrizas_en_cultivos_tropicales_Una_contribucion_a_la_sostenibilidad_agroalimentaria/links/575f128a08ae414b8e5488dd.pdf

Sanchez. M., (2014). Evaluación Del Estado Micorrícico De La Planta De Olivo (*Olea Europaea* L.) Cultivado En La Región Del Alto Ricaurte En Boyacá trabajo de grado Fundación Universitaria Juan de Castellanos. 76p.

Sieverding, E. (1986). El papel de las micorrizas en la agricultura. *Suelos ecuatoriales*, *16*(1), 52-59.

Smith, S. Read D. (1997). Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. *Academic Press,* San Diego, CA, USA.

Smith, S., Read, D., (2008). Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, 3ª ed. Londres, 605 pp. Recuperado: 11 de mayo de 2018, de: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=qLciOJaG0C4C&oi=fnd&pg=PP1&dq=Smith,+S.,+Read,+D.,+(1997).+Mycorrhizal+Symbiosis.+Academic+Press,+2da+ed.+Londres,+605+pp.&ots=zqtWgVUAlI&sig=h2mqd1KHWJWhGKfy4TEhUdJXMtU#v=onepage&q&f=false

Tekaya, M., Mechri, B., Mbarki, N., Cheheb, H., Hammami, M., & Attia, F. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungus Rhizophagus irregularis influences key physiological parameters of olive trees (*Olea europaea* L.) and mineral nutrient profile. *Photosynthetica*, *55*(2), 308-316. Doi: 10.1007/s11099-016-0243-5

Van Der Heijden, M., Klironomos, J., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., y Sanders, I. (1998). Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, *396*(6706), 69. Doi: 10.1038/23932

Vianchá, D., 2015 Efecto De La Poda Sobre El Comportamiento Fisiológico Del Olivo (*Olea Europaea* L.) En La Zona Del Alto Ricaurte Boyacá Colombia Fundación Universitaria Juan De Castellanos Tunja 67p.

CONCLUSIONES GENERALES

El % de colonización de HMA y las formas de poda en el olivo no mostraron relación entre si, sin embargo, para el caso del número de esporas encontradas en suelo rizosférico se aprecia que hay efecto del factor poda, que además mostró diferencia significativa entre T1 y T3 para %MO, y entre T2 y T3 para P.

El pH tuvo relación positiva en T1 y T2 con número de esporas; por otro lado ,el Al tuvo relación positiva en T1 con % de colonización y negativa en T2 con número de esporas, además, el Ca, Mg y CICE tuvieron relación positiva en T1 con número de esporas y el Mg relación negativa en T3 con la misma variable.

Para los microorganismos se encontró relación positiva de solubilizadores de fósforo en T2 con % de colonización, y negativa con T3, mientras que para la actividad de la celulasa se observó relación positiva en T1 y T3.

Respecto a la absorción de nutrientes, el tratamiento poda en vaso fue el que mostró mejor absorción de Mg, K, P, B y N, siendo además el de menor % de colonización y menor número de esporas, lo que indica que este tipo de poda afecta estas variables; no obstante, en la poda en vaso, hubo absorción de las cantidades requeridas por la planta a excepción del B.

El B fue el elemento que mostró relación positiva en T1 y negativa en T3 y diferencia significativa en los mismos tratamientos lo que seguramente ocurrió debido a los bajos niveles de absorción que tuvieron todos los tratamientos.

De los ácidos orgánicos, miristato tiene relación negativa con número de esporas en poda en T1, palmítico en T3 tiene relación negativa con inoculación. Oleato tiene relación positiva con número de esporas en T1 y negativa con inoculación en T3, linoleato tiene relación positiva en T1 con número de esporas y negativa con % de colonización en T3, Tambien se encontró diferencia significativa de T1 y T3 de ácido miristico y linoleato.

La mayor diversidad de géneros se encontró en el tratamiento poda en vaso y la menor en el tratamiento poda en globo. Se encontraron 15 géneros, el más abundante fue Glomus que estuvo presente en todos los tratamientos, de este se destaca *G. Broultii* presente en todos los tratamientos y *G. intraradices* con un solo hallazgo en crecimiento libre. De Acaulospora se encontraron cuatro especies, de las cuales se identificaron tres (*A. mellea, A. paulinae, A. scrobiculata y A. denticulata*). *Sclerocystis* estuvo presente en todos los tratamientos al igual que *Paraglomus, Claroideoglomus* e *Intraspora*.

RECOMENDACIONES

Realizar estudios con otros tipos de poda que se asemejen más al crecimiento libre, pero que mantengan una altura de máximo tres metros.

Hacer un estudio para determinar la razón de los niveles excesivos de P en la rizósfera; así como Mg y K.

Corregir el pH para mejorar la disponibilidad de los elementos en los que la planta muestra deficiencia.

Evaluar si los HMA están relacionados con el transporte de agua para la planta teniendo en cuenta que las precipitaciones son más bajas de acuerdo a los requerimientos del olivo.

Determinar las especies de HMA presentes en la rizósfera a través de biología molecular.