

**ESTRUCTURA Y DINÁMICA DE LOS ENSAMBLES DE
CIANOBACTERIAS EN SUELOS BAJO DIFERENTES ROTACIONES QUE
INCLUYEN EL CULTIVO DE ARROZ**

por

Cecilia Isabel SÁNCHEZ

Tesis para obtener el grado académico de

DOCTOR EN INGENIERÍA

Mención en Ciencias Agropecuarias

de las Facultades de

Ciencias de la Alimentación, Ciencias Agropecuarias e Ingeniería

de la

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ENTRE RÍOS



**Universidad Nacional
de Entre Ríos**

Director de la Tesis: **Dr. Pablo Gilberto ACEÑOLAZA** (CONICET- UNER)

Co-director de la Tesis: **Dra. María Gabriela CANO** (CONICET - UNLP)

29 de julio de 2022

Resumen

Desde un punto de vista ecológico, una arrocera puede ser considerada como un ecosistema acuático somero. Las prácticas agrícolas y el desarrollo de los cultivos favorecen el crecimiento de cianobacterias adaptadas a estos sistemas acuáticos temporales. La mayoría de los trabajos sobre cianobacterias han sido realizados en arroceras de Asia tropical. La hipótesis general de esta tesis es que, los ensambles de cianobacterias que crecen en las arroceras de San Salvador (Entre Ríos) difieren de aquellas de los campos arroceros asiáticos, no solamente por las diferencias latitudinales o climáticas, sino también por las distintas prácticas agrícolas realizadas: rotaciones de cultivos que incluyen maíz y soja en la secuencia. El objetivo de esta tesis es estudiar la estructura y composición de los ensambles de cianobacterias, bajo diferentes tipos de rotaciones, su relación con las variables físico-químicas del suelo y el agua, los mecanismos de resistencia que les permiten sobrevivir a condiciones desfavorables y finalmente, estimar su contribución de Carbón (C) al suelo durante el ciclo de cultivo. Los lotes evaluados fueron seleccionados según su tipo de rotación, considerando una secuencia de cultivos con tres años de antelación al año de evaluación del arroz. La serie, entonces, comprendió un lote con 4 años seguidos de arroz (MA), hasta la situación opuesta, en donde los cultivos previos al arroz fueron de secano (maíz y soja) (AS1). Las situaciones intermedias comprendieron cultivos de soja, el año previo o dos años previos, a la realización del arroz (AS2-1 y AS2-2). Los muestreos fueron coincidentes con los estadios fenológicos del cultivo de arroz, e incluyeron períodos de suelo seco, de humedad edáfica intermedia e inundación. Una parcela de suelo no laboreado (NP) fue incluida como punto de muestreo para reflejar una situación de menor perturbación. Mediciones de variables físico-químicas del suelo y, cuando correspondiere, del agua, fueron tomadas en cada ocasión de muestreo. Muestras de las comunidades algales del suelo y del agua fueron colectadas con metodologías pertinentes. En el Capítulo 1, se caracterizan cada una de las rotaciones y su variabilidad en el tiempo a través del análisis de variables físico-químicas y ambientales. La conductividad, el pH y los nutrientes (P y formas de N) mostraron marcadas variaciones, principalmente generadas por el pulso de inundación. Los análisis estadísticos separaron claramente, en principio, a NP del resto de los sitios y luego a AS1 del resto de las rotaciones. En el Capítulo 2, se presentan los morfotipos de cianobacterias halladas dentro del marco taxonómico tradicional. En todas las

muestras de campo se identificaron en total 44 taxones, correspondientes a 23 géneros. Los morfotipos no-heterocísticos prevalecieron en todas las situaciones (> 50%); un resultado contrastante con respecto al predominio de organismos heterocísticos en las arrozceras asiáticas tropicales. Los sitios MA y AS2-1 mostraron los mayores índices de diversidad, H' , debido a las relativamente elevadas riquezas específicas (SR; 20 y 23 morfotipos, respectivamente). En NP, por el contrario, un menor número de cianobacterias fueron identificadas a lo largo de todo el estudio. *Oscillatoria subbrevis* y *Gloeotrichia natans* fueron comunes y dominantes en la mayoría de las situaciones. En el Capítulo 3, se analizan las relaciones entre las cianobacterias dominantes, y las variables ambientales y las físico-químicas del suelo y el agua. En un análisis de Correlación Canónica, la irradiancia y la humedad superficial fueron las variables mejor correlacionadas con la distribución de las cianobacterias. La mayor cantidad de morfotipos se registró durante el período de inundación de las parcelas, tanto en suelo como en agua. En el Capítulo 4, se investigan los ensambles de cianobacterias desde la perspectiva del nivel de comunidad. En un modelo conceptual sobre la sucesión algal a lo largo de todo el ciclo de cultivo del arroz, se subraya el predominio de diatomeas en el suelo seco (M1), luego de la preparación de los lotes. Notablemente, en MA, también se observaron algunas cianobacterias. Luego, los ensambles algales se enriquecen progresivamente al elevarse la humedad edáfica, culminando en el período de inundación, con la presencia de cianobacterias, diatomeas, algas verdes y euglénidos. La técnica de NMP fue utilizada para explorar el potencial del inóculo de cianobacterias heterocísticas en cada muestreo. El mayor NMP, fue hallado en NP al inicio del estudio, mostrando un mayor potencial de la simiente. En el estadio de suelo seco inicial, los NMP fueron bajos en todas las rotaciones, pero luego, se elevaron con la humedad edáfica, junto con la concentración de clorofila *a* (*cla*) del suelo y el agua. Al final del estudio (M5), tanto el NMP, la *cla* del suelo y la SR de cianobacterias disminuyeron junto con la humedad, observándose valores más elevados que los del muestreo M1. Los mecanismos de resistencia observados, que permitieron a las cianobacterias sobrevivir a condiciones desfavorables, fueron: a) acinetos y heterocistos; b) vainas firmes y gruesas; c) hormogonios y fisión binaria. En el Capítulo 5, finalmente, se estiman las contribuciones de C al suelo, por las cianobacterias. Las más elevadas se registraron en MA y AS2-1 ($4,7 \cdot 10^7$ y $1,3 \cdot 10^6$ pg C.gSS⁻¹, respectivamente), mientras que en el caso del agua, los aportes en MA fueron los más altos ($6,5 \cdot 10^6$ pgC.ml⁻¹). Las arrozceras de Entre Ríos son sistemas perturbados

que favorecen el desarrollo de ensamblajes de cianobacterias, en general no-heterocísticas, especialmente cuando las rotaciones incluyen varias fases de arroz. Estos organismos, dependen en gran medida de la disponibilidad de humedad y luz y despliegan varios mecanismos para sobrevivir a las condiciones desfavorables. Contribuyen con gran cantidad de C al suelo, prestando así, un valioso servicio ecosistémico. Los valores de dichos aportes presentados en esta tesis, constituyen las primeras estimaciones de esta variable para suelos arroceros de San Salvador.

Abstract

From an ecological point of view, a rice field can be considered as a shallow aquatic ecosystem. The agricultural practices and the crops development favour the growth of cyanobacteria adapted to these temporal aquatic systems. Most works on cyanobacteria in rice fields were done in tropical Asia. The general hypothesis of this thesis is that cyanobacteria assemblages growing in rice fields of San Salvador (Entre Ríos province) differ from that of traditional asian rice field environments, not only because of latitudinal and climate characteristics, but also due to distinct agricultural practices: the rotation of crops that include maize and soybean in the cultivation cycle. The objective of this thesis is to elucidate the structure and composition of the cyanobacterial assemblages, under different type of rotation cycles, their relationship with soil and water physico-chemical variables, the mechanisms by which they resist unfavourable conditions and finally their carbon (C) contribution to the soil during the cycle. Rice plots were selected by their rotation type, determined by the crops cultivated in the last three years before this ultimate rice sowing. The series included situations from a 4-year rice cultivation (MA), to the opposite situation, where, 3-year rainfed crops (soybean and maize) preceded the last evaluated rice crop (AS1). Intermediate situations involved soybean cultivation in the previous year or the two previous years to the last rice crop (AS2-1 and AS2-2, respectively). Sampling occasions along the study, were coincident with the succesively phenologic periods of the rice and included low and intermediate soil humidity and flooding conditions. A non-worked plot (NP) was included as a sampling point to reflect a less disturbed situation. Physicochemical variables of soil and water (when corresponded) were measured at each sampling occasion. Samples of soil and water algal communities were collected with convenient methodologies. In Chapter 1, analysis of physicochemical and environmental variables was carried out to characterize the different rotation situations and their variability through the rice crop cycle. Conductivity, pH and nutrients (P and forms of N) showed marked variations, principally generated, by the flooding pulse. Statistical analysis clearly distinguished, firstly, between NP situation and the others, and secondly, AS1 from the rest of rotation situations. In Chapter 2, cyanobacterial morphotypes encountered are presented in a traditional taxonomic framework. In all field samples, 44 taxa, corresponding to 23 genera, were identified. Non-heterocistic filamentous taxa prevailed in all situations (> 50%); a highly contrasting result with respect to the predomination of heterocistic organisms in the Asian tropical rice fields. Sites, MA and AS2-1, showed the highest diversity index, H' , due to relatively high values of specific richness (SR; 20 and 23 morphotypes, respectively). In NP,

on the contrary, a lower number of cyanobacteria was identified throughout the study. *Oscillatoria subbrevis* and *Gloeotrichia natans* were common and dominant in most situations. In Chapter 3, the relationship between the dominant cyanobacteria, and soil and water physicochemical, as well as environmental variables, was analyzed. Irradiance and superficial humidity were the best correlated variables with cyanobacterial variations in a Canonical Correlation Analysis. The highest numbers of morphotypes were registered during rice field flooding, both, in the soil and the water column. In Chapter 4, Cyanobacterial assemblages were analyzed from the community level perspective. In a conceptual model of the algal succession along the rice crop cycle, it is highlighted the diatom predomination in dry soils, after plot preparation, M1. Noteworthy, in MA situation, cyanobacteria were also present. The algal assemblages progressively get richer as soil humidity increases, culminating when plots are flooded, with the presence of cyanobacteria, diatoms, green algae and euglenoids. The NMP technique was used to explore the potencial of the heterocistous cyanobacterial inocule in every sampling occasion. The highest NMP was obtained in NP at the initial sampling, showing the biggest bank of all situations. At inicial dry soil stage, NMP values were low in all rice plots, but then raised after soil humidity incremented, along with soil and water chlorophyll *a* (*chl_a*) concentrations. At the end of the study (M5), NMP, soil *chl_a*, and SR diminished altogether with soil humidity decrement, although registered values were higher than those of the dry-soil phase (M1). The resistance mechanisms observed and that helped cyanobacteria to survive unfavourable conditions were: a) acinets and heterocysts; b) firm and wide sheaths; c) hormogonia or binary fission. Finally in Chapter 5, estimations of C contributions by cynobacteria to the soil are presented. At MA and AS2-1, contributions to soil were the highest ($4,7 \cdot 10^7$ and $1,3 \cdot 10^6$ pg C.gSS⁻¹, respectively), meanwhile in the case of water, MA contributions were the highest ($6,5 \cdot 10^6$ pg C.ml⁻¹). The studied Entre Ríos rice fields are disturbed systems that, especially when rotations include succesively rice phases, they favour non-heterocistous cyanobacteria development. These mostly depend on the humidity-irradiance disponibility, and they display serveral mechanisms to survive unfavourable conditions. They contribute greatly to C soil content, rendering a valuable ecosystem service. The C contribution values presented in this thesis are the first estimations of this variable for San Salvador, Entre Ríos, rice fields.