

DIVERSIDAD DE CIANOBACTERIAS CON HETEROCISTOS EN SUELOS CULTIVADOS CON ARROZ

P. Irisarri¹, S. Gonnet¹, E. Deambrosi² y J. Monza¹.

Recibido: 25 de mayo de 1999. Aceptado: 20 de julio de 1999.

RESUMEN

Para evaluar el uso potencial de las cianobacterias fijadoras de nitrógeno con heterocistos como biofertilizantes naturales para el cultivo de arroz en Uruguay, se estudió su diversidad, cantidad y variación a lo largo del ciclo de cultivo en Paso de la Laguna (Treinta y Tres). Se comparó la diversidad y densidad de cianobacterias con heterocisto en distintos tratamientos: sin urea inoculado con cianobacterias, con urea sin inocular y un testigo sin nitrógeno y sin inocular. El inoculante comercial, mezcla seca de *Nostoc* sp. y *Tolypothrix tenuis* se aplicó al doble de la dosis recomendada. Al tratamiento que se pretendía libre de cianobacterias, se le agregó CuSO_4 (2,5 K/ha). Alrededor del 90% de las cianobacterias con heterocisto encontradas en todos los tratamientos correspondieron a los géneros *Anabaena* y *Nostoc*. *Anabaena* fue el género dominante en el testigo y *Nostoc* en el resto de los tratamientos. Los géneros menos abundantes fueron *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Nodularia*, *Scytonema* y *Tolypothrix*. Colonias macroscópicas de *Gloeotrichia* sp. aparecieron doce semanas después de la inundación en todos los tratamientos. La mayor cantidad de cianobacterias, $1,6 \times 10^5$ UFC/cm² de suelo, se encontró en el testigo ocho semanas después de la inundación. En ese momento se encontraron los mayores valores de UFC/cm² de suelo en todos los tratamientos. La aplicación de urea en cobertura y la inoculación se asociaron con un menor número cianobacterias, $1,6$ y 1×10^4 UFC/cm², respectivamente.

PALABRAS CLAVE: cianobacterias fijadoras de N₂, cultivo de arroz.

SUMMARY

DIVERSITY OF HETEROCYSTOUS CYANOBACTERIA IN RICE SOILS

To evaluate the potential use of nitrogen-fixing heterocystous cyanobacteria as natural biofertilizer for rice in Uruguay, the diversity, abundance and variation of these microorganisms along the crop cycle were studied at Paso de la Laguna (Treinta y Tres). Diversity and population density of heterocystous cyanobacteria were compared between a treatment without urea inoculated with cyanobacteria, other with urea application and without inoculum and a control without nitrogen and inoculum. The commercial inoculum used, dry mixture of *Nostoc* sp. and *Tolypothrix tenuis*, was applied at two-fold the recommended dosis. CuSO_4 (2,5 K/ha) was added to the control treatment pretending to reduce the native cyanobacterial population. About 90 % of the heterocystous cyanobacteria found in all treatments belonged to the genera *Anabaena* and *Nostoc*.

Anabaena was the dominant genus at the control treatment and *Nostoc* at the rest of the treatments. The less abundant genera were *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Nodularia*, *Scytonema* and *Tolypothrix*. Macroscopic colonies of *Gloeotrichia* sp. appeared in all the treatments twelve weeks after irrigation started. The highest value of cyanobacteria, $1,6 \times 10^5$ CFU/cm², was found at the control 8 weeks after the irrigation started. At this time of the crop cycle, the highest cyanobacterial numbers were found in all the treatments. The broadcasted application of urea and the inoculation were associated with less cyanobacterial density, $1,6$ y 1×10^4 CFU/cm², respectively.

KEY WORDS: N₂-fixing cyanobacteria, rice fields.

¹ Cátedra de Bioquímica, Area de Ciencias Biológicas, Facultad de Agronomía, Garzón 780, CP 12900 Montevideo, Uruguay.
E-mail: irisarri@fagro.edu.uy

² INIA Treinta y Tres, Ruta 8 km 281, CP 33000, Treinta y Tres, Uruguay.

INTRODUCCION

Las cianobacterias, también llamadas algas verde-azules, constituyen el grupo más diverso y abundante de procariontes que realizan fotosíntesis oxigénica. Además, varios géneros de cianobacterias pueden fijar nitrógeno atmosférico (N_2), lo que las hace uno de los seres vivos con mayor independencia trófica. El ser los únicos organismos fijadores de N_2 capaces de generar su propio fotosintato, hace que las cianobacterias sean especialmente atractivas para ser usadas como biofertilizante.

Los ensayos de inoculación de arroz con cianobacterias se justificaron inicialmente porque se creía que las cianobacterias diazotrofas eran escasas en los arrozales (Watanabe y Yamamoto, 1971). Estudios más recientes muestran sin embargo, la presencia consistente y con frecuencia abundante, de cianobacterias fijadoras de nitrógeno en suelos bajo cultivo de arroz (Roger, 1995). De todas formas, los resultados del empleo de inoculantes cianobacterianos para aumentar la fijación biológica de nitrógeno (FBN) en cultivo de arroz son dispares. Se han observado fracasos en la sobrevivencia del inoculante (Reddy y Roger, 1991) pero también aumentos significativos en el rendimiento del arroz inoculado con cianobacterias (Yanni, 1996). De hecho, Roger (1995) sugiere que el éxito o fracaso de la inoculación dependería de las condiciones locales.

Por otro lado, se ha observado con frecuencia que la fertilización nitrogenada tiene un efecto negativo sobre la flora de cianobacterias (Roger *et al.*, 1984; Carreres *et al.*, 1996). El aporte de nitrógeno por FBN en cultivos de arroz se estima en hasta 75 kg de N/ha por ciclo de cultivo, con valores medios entre 8 y 30 kg de N/ha (Quesada *et al.*, 1997). Estos datos provienen de arrozales asiáticos y europeos y hasta el presente no se contaba con información sobre las poblaciones de cianobacterias diazotrofas en arrozales uruguayos, aunque era sabido que el cultivo de arroz utiliza más nitrógeno del que se aporta como fertilizante (Deambrosi, 1998). Este nitrógeno podría provenir de la FBN realizada por distintos tipos de organismos, heterótrofos o autótrofos, que se encuentran tanto en el suelo como asociados a la planta de arroz (Roger, 1995).

Los objetivos de este trabajo fueron evaluar, en un suelo típico de cultivo de arroz de la zona Este del Uruguay, la diversidad y abundancia de cianobacterias fijadoras de nitrógeno, así como los efectos de la aplicación de urea y de la inoculación sobre la presencia de dichos organismos.

MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental

Los ensayos se realizaron en la Estación Experimental Paso de la Laguna (INIA, Treinta y Tres) en un suelo solod melánico, pH 5,3; C orgánico 1,51%, P (Bray 1): 6 ppm, K:0,26 meq/100 g, cuyo manejo previo fue laboreo de verano y ni-

velación sobre pradera de 2 años y laboreo reducido previo a la siembra. La variedad de arroz utilizada fue El Paso 144, sembrada el 28 de octubre de 1998, con una fertilización basal de 100 K/ha de 12/52/0 (N/P/K). La aplicación de los herbicidas, propanil y quinclorac, dosis 1,92 L/ha, se realizó el 26 de noviembre de 1998. La inundación se estableció el 8 de diciembre y la cosecha se realizó el 14 de abril de 1999.

Las parcelas experimentales de 13,2 m² se aislaron por taipas de 2,8 m de ancho y fueron regadas en forma independiente. El diseño fue de bloques al azar con 4 repeticiones y los tratamientos: testigo, cobre, urea e inoculado. El 30 de diciembre se realizó el tratamiento de $CuSO_4$ (1.67 K/ha) con el objetivo de reducir las cianobacterias. El tratamiento con urea correspondió el agregado de 50 K/ha el 10 de diciembre. El tratamiento inoculado consistió en el agregado de una mezcla de *Nostoc* sp. y *Tolypotrix tenuis* (Rizobacter Argentina) a razón de 127.6 g/ha (la dosis recomendada por el fabricante es de 50 g/ha). La inoculación se realizó el 10 de diciembre.

Muestreo y recuento de cianobacterias fijadoras de nitrógeno

Las muestras de suelo sumergido se tomaron en una transecta de cada parcela, intentando no modificar la interfase suelo-agua, a partir del centímetro superior de 10 submuestras colectadas con jeringas de plástico de 10 cm de largo y 2.1 cm de diámetro cortadas transversalmente. Las muestras se tomaron a las 2, 4, 8 y 12 semanas después de la inundación y se guardaron en bolsas de plástico selladas que se mantuvieron en oscuridad a 4°C por tres días hasta su procesamiento. Los recuentos de las muestras se hicieron en superficie en medio BG11 (Rippka *et al.*, 1979) agarrizado, sin nitrógeno y modificado sustituyendo el EDTA-NaMg por EDTA-Na₂. Cada muestra de suelo fue disgregada con un homogeneizador y se realizaron diluciones seriadas en suero fisiológico. El pH del medio se ajustó a 7.6 con tampón HEPES 2.5 mM y se agregó cicloheximida (20 ppm) para evitar el crecimiento de contaminantes eucariotas. Se hicieron 4 repeticiones por cada dilución. Las placas se incubaron 4 semanas a 28 ± 2 °C con iluminación continua con lámparas fluorescentes de luz blanca (irradiancia 60 E.s⁻¹m⁻²). Los recuentos de cianobacterias con heterocisto se expresaron en unidades formadoras de colonia (UFC) por cm² de suelo (Roger *et al.*, 1991).

Las cianobacterias se clasificaron en cuatro grandes grupos (Tabla 1) de acuerdo a las características morfológicas de las colonias observadas directamente en las placas con microscopio estereoscópico e identificadas con microscopio óptico según Castenholz (1984). También se consideró para agruparlas la capacidad de formar colonias mucilaginosas de forma definida, característica asociada a la resistencia frente a predadores y contra la desecación (Roger *et al.*, 1987). El conteo de UFC se realizó también con microscopio estereoscópico. Para evitar el efecto de competencia entre colonias se contaron las placas que tenían entre 3 y 30 colonias.

Aislamiento y obtención de cultivos unialgales

A partir de las placas de recuento se aislaron las cianobacterias pertenecientes a los distintos grupos según las diferencias observadas con microscopio óptico. Los sucesivos repiques se efectuaron con pipeta Pasteur a partir de filamentos en crecimiento o microcolonias, según Rippka (1988). Verificada la ausencia de otras cianobacterias, estos cultivos unialgales fueron, en primera instancia, pasados a medio líquido y luego liofilizados para su conservación.

Tabla 1. Grupos tipo de cianobacterias formadoras de heterocisto

- Grupo 1** Colonias mucilaginosas de forma definida. Al microscopio óptico presentan una cubierta gruesa y no tienen ramificaciones. El género representativo es *Nostoc*.
- Grupo 2** Colonias filamentosas de forma definida que forman curvas. Al microscopio óptico presentan Filamentos libres sin hormogonios. Los géneros representativos son *Anabaena* y *Nodularia*.
- Grupo 3** Colonias aterciopeladas con filamentos que emergen del agar. Los géneros representativos son *Scytonema*, *Tolypothrix* (presentan falsas ramificaciones) y *Calothrix* (filamentos que se afinan en forma polar).
- Grupo 4** Colonias de forma definida con filamentos cortos. Al microscopio óptico presentan heterocistos exclusivamente terminales y acinetos adyacentes. El género representativo es *Cylindrocapsa*.

Todas las características se refieren a colonias provenientes de muestras de suelo diluidas y plaqueadas en medio BG11 agazado y sin nitrógeno.

Análisis estadístico

Los estudios de la distribución de las cianobacterias en suelos inundados han demostrado que sus poblaciones tienen un patrón aproximado al logaritmo de la distribución normal (Roger *et al.*, 1991). Por esa razón, las variables estadísticas se calcularon usando los logaritmos de los datos originales y se emplearon muestras compuestas para disminuir la variabilidad de las mediciones.

RESULTADOS

El número de cianobacterias formadoras de heterocistos de cada uno de los tratamientos en muestras de suelos inundados se presentan en la Tabla 2. El testigo fue el único que presentó diferencias significativas ($P = 0,05$) en el número de UFC de cianobacterias formadoras de heterocisto/cm² de suelo. La evolución de la población total de cianobacterias con heterocisto a lo largo del ciclo del culti-

vo fue similar en todos los tratamientos con excepción del tratamiento al que se agregó CuSO₄ (Figura 1). En todos los casos, el mayor número de UFC se registró a las 8 semanas de inundado el cultivo, que se corresponde con el estado fisiológico de la planta "embarrigado". El menor número de UFC se encontró a las 12 semanas, que corresponde al fin de la floración, comienzo de llenado de granos.

Para todos los tratamientos el porcentaje de cianobacterias de los grupos 1 y 2 constituye entre el 89 y el 99 % de la población total. *Anabaena* fue el género dominante en el testigo y *Nostoc* fue el dominante en el resto de los tratamientos (Tabla 2). Los porcentajes correspondientes a cada grupo a la octava semana de inundación se muestran en la Tabla 3. Las bacterias pertenecientes al género *Nostoc* fueron las más abundantes en todos los tratamientos con excepción del testigo.

En todos los recuentos se encontraron cianobacterias que no forman heterocistos pertenecientes a los órdenes *Chroococcales*, unicelulares del género *Gloeothoece*, (Waterbury y Rippka, 1984) y *Oscillatoriales*, homocísticas, correspondientes a los géneros *Lyngbya*, *Oscillatoria*, *Pseudonabaena* (Castenholz, 1984).

Tabla 2. Población de cianobacterias (UFC x 10²/cm² de suelo)^a

Tratamiento	Grupo	2	4	8	12
Testigo	1	0	0	100	8
	2	230	55	1550	0
	3	0	0	0	5,5
	4	0	0	0	15
	Total	230	55	1650	28,5
Inoculado	1	0	9	105	4,5
	2	10	3,5	50	3,5
	3	5	3	5	1
	4	0	0	0	1
	Total	15	15,5	160	10
Urea	1	10	6,5	55	3
	2	0	0	35	0
	3	0	0	10	3,5
	4	0	0	0	0
	Total	10	6,5	100	6,5
Cobre	1	ND	15	90	4
	2	ND	30	15	0,5
	3	ND	0	0	1
	4	ND	0	0	0,5
	Total	ND	45	105	6

^a Los valores corresponden a la media de cuatro repeticiones. ND no determinado

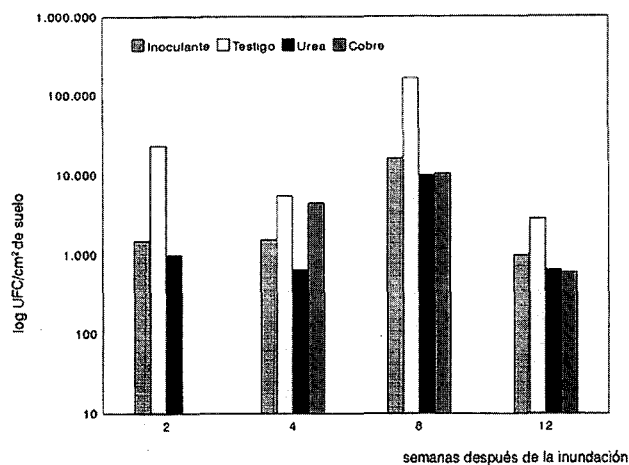


Figura 1. Dinámica de las poblaciones de cianobacterias con heterocisto a lo largo del ciclo del cultivo.

Unicamente en el muestreo realizado 12 semanas después de inundado el cultivo, se observaron en el campo en todos los tratamientos colonias macroscópicas pertenecientes al género *Gloeotrichia*, de un diámetro promedio aproximado de 9 mm. Los afloramientos fueron escasos, pero las colonias epifíticas sobre hojas secas de arroz y asociadas a malezas eran abundantes. Estas colonias mucilaginosas de forma definida se identificaron como pertenecientes al género *Gloeotrichia* por sus filamentos polares observados con microscopio óptico. Un mes después estas colonias habían desaparecido.

En total se obtuvieron 30 aislamientos de cianobacterias, quince de los cuales corresponden al definido para este trabajo como Grupo 1, nueve al Grupo 2, cuatro al Grupo 3 y dos al Grupo 4. En la Figura 2 se muestra un aislamiento de cada uno de estos grupos.

Tabla 3. Porcentaje de cianobacterias pertenecientes a los distintos grupos en la octava semana después de la inundación.

Tratamiento	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Testigo	6	94	0	0
Inoculado	66	31	3	0
Urea	55	35	10	0
Cobre	86	14	0	0

DISCUSION

El cultivo de arroz en condiciones de inundación constituye un ambiente favorable para el crecimiento de las cianobacterias respecto a sus requerimientos de luz, agua, temperatura y disponibilidad de nutrientes (Roger, 1995).

El mayor número de cianobacterias encontradas en este estudio fue de $1,6 \times 10^5$ UFC/cm² de suelo en el testigo, 8 semanas después de la inundación. Los valores promedio de UFC/cm² de suelo fueron $4,9 \times 10^4$, marcadamente menores que los encontrados en otras regiones arroceras del mundo. En Valencia (España) Carreres *et al.* (1996) encontraron, en tratamientos sin aplicación de fertilizantes nitrogenados, valores promedio de cianobacterias fijadoras de nitrógeno de $2,2 \times 10^5$ UFC/cm². En arrozales asiáticos con un manejo agronómico diferente que el anterior, se encontró un promedio de $3,5 \times 10^6$ UFC/cm² (Roger *et al.*, 1987) incluyendo las cianobacterias unicelulares. La baja densidad de cianobacterias edáficas encontradas en el arrozal en estudio puede ser consecuencia del sistema de rotación particular en la que se alterna pradera y cultivo de arroz.

Se debe considerar que el método de dilución y plaqueo utilizado, no permite identificar las bacterias presentes en concentraciones bajas, de manera que los resultados corresponden únicamente a las cepas más abundantes en el suelo. A su vez, el empleo de un determinado medio de cultivo así como condiciones artificiales de crecimiento, puede resultar en la selección de algunas cepas mejor adaptadas a esas condiciones (Quesada y Fernández-Valiente, 1996). De todas formas, el método de plaqueo de suspensiones de suelos es el único que permite el recuento, la identificación y el aislamiento simultáneamente (Roger *et al.*, 1991).

El agregado de CuSO₄ para eliminar la población natural de cianobacterias del suelo no fue efectivo y si bien disminuyó el número de cianobacterias respecto al testigo, esta disminución no fue suficiente para considerar este tratamiento como control negativo. La aplicación de CuSO₄ no se repitió a lo largo del período de cultivo, por lo que se diluyó con los riegos y lluvias. Tal vez manteniendo la concentración de esta sal se pueda controlar eficazmente las poblaciones de cianobacterias.

Respecto a la diversidad de cianobacterias con heterocisto encontradas en Paso de la Laguna, alrededor del 90 % corresponden a los géneros *Anabaena* y *Nostoc*. En los arrozales de la Provincia de Corrientes (Argentina) no se encontraron especies pertenecientes a los géneros *Cylindrospermum* y *Gloeotrichia* (Prosperi *et al.*, 1996).

Por otra parte, en arrozales de Filipinas, India, Malasia, Tailandia y Portugal, en el 60 % de 102 suelos estudiados estaban presentes *Nostoc*, *Anabaena* y *Calothrix* (Roger *et al.*, 1987). Esto indicaría que no existe una especificidad ambiental respecto a los géneros presentes en diferentes suelos donde se cultiva arroz bajo diferentes formas de manejo del cultivo, aunque los géneros predominantes dependerían de las condiciones locales (Begum *et al.*, 1996).

Tanto en los arrozales españoles como asiáticos, con características muy diferentes a los nuestros, se ha encontrado con frecuencia afloramientos de *Gloeotrichia* como los comunicados en este trabajo. La ausencia de afloramientos de otras cianobacterias no sería debido a que no estuvieran

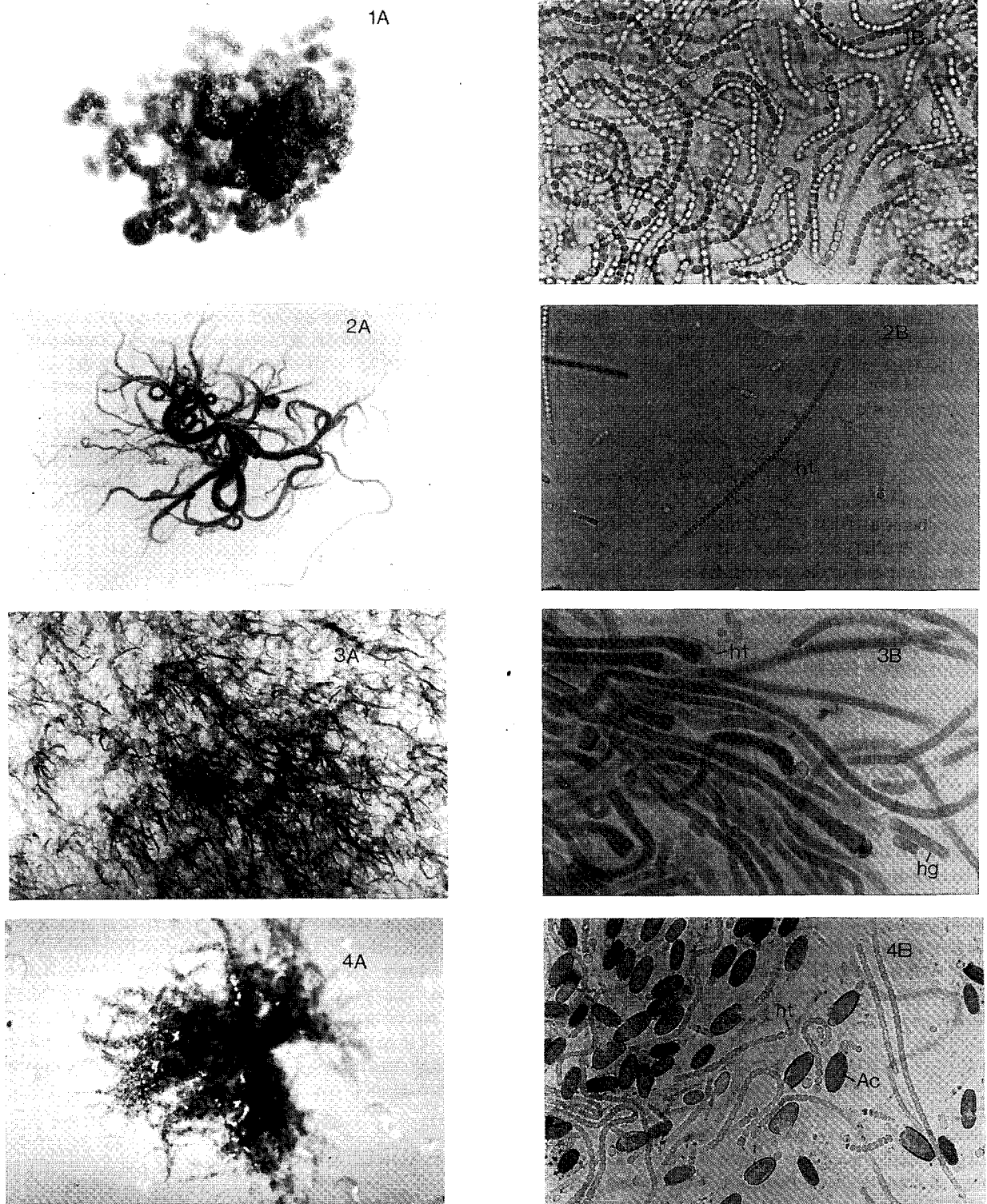


Figura 2. Cianobacterias aisladas de suelo cultivado con arroz en Paso de la Laguna (INIA Treinta y Tres). **A** Morfología de las colonias crecidas en placa observadas al microscopio estereoscópico (x 4) y **B** observaciones con microscopio óptico (x 40: 1 y 2 y 4; x 20: 3). **ht:** heterocisto. **Ac:** acinet. **hg:** hormogonio.

1. *Nostoc* sp. 2. *Anabaena* sp. 3. *Calothrix* sp. 4. *Cylandrospermum* sp.

presentes, sino probablemente a que las condiciones ambientales fueron adversas o a que tuvieran una duración limitada que no coincidió con los momentos de muestreo, por lo que pasaron desapercibidos. Cabe destacar que *Gloeotrichia* es uno de los grupos de cianobacterias que forma colonias mucilaginosas, carácter que la hace menos susceptible al consumo por invertebrados predadores y más resistente a la desecación.

A lo largo del ciclo del arroz, se pudo observar una dinámica de las poblaciones de cianobacterias con un patrón similar en todos los tratamientos, con un máximo de densidad ocho semanas después de la inundación. En los arrozales asiáticos las fluctuaciones de la densidad de cianobacterias son similares, con un máximo a las 16 semanas de transplantado el arroz (Grant *et al.*, 1985) lo que coincide con la iniciación de la panícula. Al principio del ciclo de cultivo el pH bajo y un tenor elevado de CO₂ en agua favorecen el desarrollo de las algas eucariotas, mientras que en la segunda parte del ciclo, el aumento de la temperatura y del pH favorecen el desarrollo de las algas procariotas (Roger y Reynaud, 1976). Begum *et al.* (1996) también encontraron una correlación entre el pH del suelo y la población de cianobacterias fijadoras de nitrógeno presentes en el mismo, que crecen preferentemente en medios con pH neutro o alcalino. Sin embargo, los mismos autores señalan que la variación de la cantidad de cianobacterias no dependía únicamente de esa propiedad del suelo, sino de la interacción de pH, C orgánico, contenido de N total y disponible y P disponible en el suelo. En arrozales españoles se ha demostrado que las características fisicoquímicas del agua explican mejor la variación de las cianobacterias que las características del suelo.

En el suelo estudiado, el pH inicial ligeramente ácido, pudo haber dificultado la proliferación inicial de las cianobacterias, si bien una vez establecida la inundación, el pH fue cercano a la neutralidad. Después de las 8 semanas de inundado el cultivo, el sombreado producido por la planta de arroz explicaría la disminución del número de cianobacterias.

Roger (1995) señala un efecto inhibitorio de los fertilizantes nitrogenados aplicados en cobertura sobre la población de cianobacterias nativas, mientras que la aplicación del fertilizante enterrado en el suelo no la afectaría. En nuestro país la práctica generalizada consiste en aplicar urea en cobertura y los resultados del recuento de cianobacterias mostraron un marcado descenso en el número de las mismas en este tratamiento respecto al testigo. En arrozales de Valencia, Carreres *et al.* (1996) encontraron una correlación negativa entre la abundancia de cianobacterias fijadoras de nitrógeno y la cantidad de fertilizante nitrogenado empleada.

El tratamiento inoculado con una dosis de inoculante seco superior al doble de la recomendada, presentó una población significativamente menor de cianobacterias que el testigo. Yanni y Sehly (1991) encontraron que la aplicación de inoculante fresco era más eficiente que la de inoculante seco, ya que las cianobacterias necesitarían más tiempo para terminar

su dormancia y comenzar a crecer. Las cianobacterias usadas como inoculante, *Nostoc* sp. y *Tolypothrix* sp., no se encontraron en el primer muestreo, probablemente debido al método de plaqueo, en que bacterias que constituyen un bajo porcentaje de la flora total no aparecen. Por otro lado, las cianobacterias fijadoras de nitrógeno son ubicuas en los arrozales y el establecimiento de cepas introducidas como inoculante es infrecuente (Roger, 1995). Reddy *et al.*, (1986) señalaron que las posibles razones del fracaso de la inoculación incluirían propiedades del suelo, factores climáticos, factores bióticos y del inoculante.

La falta de supervivencia del inoculante y la presencia de cianobacterias nativas no indican necesariamente que la inoculación es inútil. Como la germinación de los acinetos es fotodependiente, el inoculante aplicado podría germinar mejor que los nativos mezclados con el suelo. En condiciones como las nuestras, donde el suelo ha permanecido seco durante un largo período y la población de cianobacterias nativas no es tan abundante como en suelos tropicales bajo sucesivos cultivos de arroz, el período de latencia puede demorar varias semanas. El potencial agronómico de la inoculación con cianobacterias nativas radica en acelerar el desarrollo de las mismas y lograr una mayor densidad más temprano en el ciclo de cultivo. Otra estrategia a seguir, sería poner el énfasis en prácticas que aumenten el crecimiento de las cianobacterias nativas adaptadas a este ambiente controlando los predadores o cambiando la forma de aplicar el fertilizante nitrogenado (Roger, 1995).

CONCLUSIONES

- El arrozal estudiado presenta una población diversa de cianobacterias fijadoras de nitrógeno con predominio de los géneros *Anabaena* y *Nostoc*.
- Para todos los tratamientos ensayados la mayor cantidad de cianobacterias con heterocisto en la interfase suelo-agua se encontró a las 8 semanas de inundado el cultivo.
- La mayor densidad de cianobacterias se encontró en el tratamiento sin aplicación de nitrógeno y la aplicación de urea en cobertura disminuyó el número de cianobacterias.
- El inoculante utilizado no aumentó el número de cianobacterias presentes en las condiciones de este suelo y este año en particular.
- Se dispone de una colección liofilizada de cianobacterias nativas aisladas de un arrozal uruguayo que constituye la base de un cepario.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) de la Universidad de la República e International Foundation for Science (IFS) Grant 2747-1.

Agradecemos a L. Gutiérrez, V. Picasso, M. Sallé y F. Milnitsky por su colaboración en la toma de muestras y a P. Díaz por su ayuda en el análisis estadístico. Agradecemos también al Ing. Agr. E. Brenzoni (Rizobacter Argentina S.A.) y al INIA Treinta y Tres (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria) por permitirnos tomar las muestras de sus ensayos.

BIBLIOGRAFIA

- BEGUM Z.N.T., MANDAL R., KHAN Z.U.M. and HOSSAIN M.Z. 1996. Prospect and potentiality of cyanobacteria as an alternative source of nitrogen fertilizer in Bangladesh rice cultivation. In: Biological nitrogen fixation associated with rice production. Ed. Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, The Netherlands, pp 119-131.
- CARRERES R., GONZALEZ TOME R., SENDRA J., BALLESTEROS R., FERNANDEZ VALIENTE E., QUESADA A., NIEVA M. and LEGANES F. 1996. Effect of nitrogen rates on rice growth and biological nitrogen fixation. J. Agric. Sci. 127: 295-302.
- CASTENHOLZ R.W. 1984. SUBSECTION III. Order OSCILLATORIALES. SUBSECTION IV. Order NOSTOCALES. En: Bergey's manual of systematic bacteriology. Ed. J.G. Holt-Baltimore: Williams y Wilkins, pp 1771-1799.
- DEAMBROSI E. 1998. En: Arroz. Resultados experimentales 1997-1998. Ed. INIA Treinta y Tres.
- GRANT I.F., ROGER P.A. and WATANABE I. 1985. Effect of grazer regulation and algal inoculation on photodependent nitrogen fixation in a wetland rice field. Biol. Fert. Soils 1:61-72.
- PROSPERI C., PONS S. M. and MAGGI E. 1996. Ecological aspects of cyanobacteria from the rice fields of Corrientes (Argentina). En: Biological nitrogen fixation associated with rice production. Ed. Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, The Netherlands, pp 141-146.
- QUESADA A. and FERNANDEZ-VALIENTE E. 1996. Relationship between abundance of N_2 -fixing cyanobacteria and environmental features of spanish rice fields. Microb Ecol. 32: 59-71.
- QUESADA A., LEGANES F. and FERNANDEZ-VALIENTE E. 1997. Environmental factors controlling N_2 fixation in mediterranean rice fields. Microb. Ecol. 34: 39-48.
- REDDY P.M. and ROGER P.A. 1988. Dynamics of algal populations and acetylene-reducing activity in five rice soils inoculated with blue-green algae. Biol. Fert. Soils 6:14-21.
- REDDY P.M., ROGER P.A., VENTURA W. and WATANABE I. 1986. Blue-green algal treatment and inoculation had no significant effect on rice yield in an acidic wetland soil. Phil. Agri. 69: 629-632.
- RIPPKA R., DERUELLES J., WATERBURY J.B., HERDMAN M. and STANIER R.Y. 1979. Generic assignement, strain stories and properties of pure culture of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol. 111: 1-61.
- RIPPKA R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. Methods in Enzimology 167: 2-27.
- ROEL A. 1999. Agroclimatología. Singulares variantes recientes. Arroz 17: 42-44
- ROGER P.A. et REYNAUD P.A. 1976. Dynamique de la population algale au cours d'un cycle de culture dans une rizière sahéenne. Rev. Écol. Sol, 13: 545-560.
- ROGER P.A. 1995. Biological N_2 -fixation and its management in wetland rice cultivation. Fert. Res. 42: 261-276.
- ROGER P.A., REMULLAR. and WATANABE I. 1984. Effect of urea on the N_2 -fixing algal flora in lowland rice at ripening stage. Int. Rice Res. Newsletter 9: 28
- ROGER P.A., SANTIAGO-ARDALES S., REDDY P.M. and WATANABE I. 1987. The abundance of heterocystous blue-green algae in rice soils and inocula used for application in rice fields. Biol. Fertil. Soils 5: 98-105.
- ROGER P.A., JIMENEZ R. and SANTIAGO-ARDALES S. 1991. Methods for studying blue-green algae in ricefields: distributional ecology, sampling strategies, and estimation of abundance. IRRI Research Paper Series 150: 1-19.
- WATANABE A. and YAMAMOTO Y. 1971. Algal nitrogen fixation in the tropics. Plant Soil (Special Issue): 403-413.
- WATERBURY J.B. and RIPPKA R. 1984. SUBSECTION I. CHROCOCCALES. En: Bergey's manual of systematic bacteriology. Ed. J.G. Holt-Baltimore: Williams & Wilkins, pp 1728-1746.
- YANNI Y.G. 1996. Contribution of cyanobacterization to rice growth and performance under different field stand densities and levels of combined nitrogen. En: Biological nitrogen fixation associated with rice production. Ed. Kluwer Academic Publishers, Dodrecht, The Netherlands, pp 133-139.
- YANNI Y.G. and SEHLY M.R. 1991. Rice performance and natural infection with blast (*Pyricularia oryzae* Cav.) under different algalization techniques and rates of fertilizer nitrogen. World J. Microbiol. Biotechnol. 7: 43-47.