



FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

“REMOVILIZACION DE NITRÓGENO EN EL SISTEMA GUNNERA
- NOSTOC”

Trabajo de Investigación para optar el grado académico de:
Bachiller en Ingeniería Ambiental

Presentado por:

Alexandra Isabella Vourtsi Cordova: (0000-0002-2591-3100)

Asesor:

Gustavo Ricardo Dreyfus Raymond: (0000-0003-3757-6380)

Lima – Perú

2021



RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N° 133-2021-DACIA-DAFCA-CIENTIFICA

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES / CARRERA DE INGENIERIA AMBIENTAL

Lima, 17 de mayo de 2021

VISTO:

La revisión realizada y la aprobación de Trabajo de Investigación titulado: REMOVILIZACION DE NITRÓGENO EN EL SISTEMA GUNNERA - NOSTOC, presentado por:

- Alexandra Isabella Vourtsi Cordova

CONSIDERANDO:

Que, de acuerdo con el Reglamento General de la Universidad Científica del Sur y los reglamentos de pregrado para obtener el grado de Bachiller de Ingeniería Ambiental en la Facultad de Ciencias Ambientales, se debe desarrollar un trabajo de investigación.

Que, de acuerdo con la normativa vigente de la Universidad Científica del Sur, en uso de las atribuciones conferidas al Director Académico de Carrera.

SE RESUELVE:

Aprobar e inscribir el trabajo de investigación titulado: REMOVILIZACION DE NITRÓGENO EN EL SISTEMA GUNNERA - NOSTOC con N° de registro de la carrera: 0123-FCA-IAM.

Nombrar al docente/colaborador Gustavo Ricardo Dreyfus Raymond como asesor de dicho trabajo de investigación.

Regístrese, comuníquese y archívese,

Mg. Gonzalo Francisco Flores Roca
Director Académico de Carrera
Ingeniería Ambiental

T// (51) 610 6738
informes@cientificadusur.edu.pe
cientificadusur.edu.pe

I. Abstract

Nitrogen remobilization is part of the nitrogen cycle of the ecosystem where we live; It is one of the most important, because thank you there is life on earth. Nitrogen remobilization in the *Gunnera* plant implies some differences due to the presence of the *Nostoc* cyanobacterium, which provides greater nitrogen fixation and also more value for the Montane Forest habitats that are victims of unsustainable agriculture, mainly in the area. of the Chanchamayo Valley and Oxapampa where the cultivation of granadilla and pineapple has invaded large hectares. It is more known the symbiosis of various leguminous plants such as soybeans and alfalfa with bacteria for the fixation and supply of nitrogen to the plant; However, the present study seeks to innovate and propose the option of finding nitrogen fixation through wild plants such as the *Gunnera* in the areas where it grows and the subsequent realization of studies for the production of organic fertilizers and thus the improvement of quality of life of the farmers in the area.

Keywords: *Gunnera*, *Nostoc*, Montane Forest, nitrogen fixation

II. Resumen

La removilización de nitrógeno forma parte del ciclo de nitrógeno del ecosistema donde vivimos; es uno de los más importantes, ya que gracias el existe la vida en la tierra. La removilización de nitrógeno en la planta *Gunnera* implica algunas diferencias por la presencia de la cianobacteria *Nostoc* que le brinda una mayor

fijación de nitrógeno y asimismo más relevancia de valor para los hábitats de los Bosques Montanos que son víctimas de la agricultura insostenible principalmente en la zona del Valle Chanchamayo y Oxapampa donde el cultivo de granadilla y piña ha invadido grandes hectáreas. Es más conocido la simbiosis de diversas plantas leguminosas como las soja y alfalfa con bacterias para la fijación y aporte e nitrógeno a la planta; sin embargo, el presente estudio busca innovar y proponer la opción de la búsqueda de fijación de nitrógeno a través de plantas silvestres como la *Gunnera* en las zonas donde crece y la posterior realización de estudios para la producción de abonos orgánicos y así la mejora de calidad de vida de los agricultores de la zona.

Palabras clave: *Gunnera*, Nostoc, Bosque Montano, fijación de nitrógeno

III. Revisión teórica

Removilización de nitrógeno en el ecosistema

La removilización de nitrógeno en la biosfera se realiza en primera parte por el ciclo de nitrógeno en todo el medio. El nitrógeno llega a la planta por su flujo respiratorio desde las raíces; varios factores son los que influyen la cantidad de nitrógeno que la planta va absorber, como la temperatura del aire, suelo, la cantidad de agua y nutrientes en el suelo (Uhart & Echevarria). El nitrógeno es absorbido en dos formas que son el amonio y el nitrato que son expuestos en las partes de la raíz de la planta y después entran en sus células donde se asimila pasando un gradiente electroquímico que causa un consumo de (ATP), en cambio el amonio no atraviesa ese tipo de proceso (Novoa y Loomis, 1981). En

un estudio se demostró que la mayor cantidad de nitrógeno acumulado se mantiene en la hojarasca y plantaciones locales y finalmente son retornados a la tierra (Uhart y Andrade, 1995). La removilización de proteínas en las plantas tiene como finalidad conllevar todo el nitrógeno en la semilla; de esta manera el nivel de nitrógeno empieza a decaer en los demás órganos vegetativos de la planta como son las hojas, tallos etc. algo no muy conveniente, ya que afecta a ciertos procesos de suma importancia como es la fotosíntesis de la zona (Confalone, 2008). Un caso muy interesante está en los casos presentados de simbiosis de plantas con algas y otros microorganismos que ayudan a la fijación de nitrógeno y por ende aportan a la fertilidad de los suelos del bosque montano.

Ciclo del nitrógeno y su transferencia en sistema *Gunnera-Nostoc*

El ciclo de nitrógeno es uno de los procesos más importantes para la presencia de vida en el planeta tierra. Consiste en cuatro etapas, la amonificación que consiste en la fijación de nitrógeno por las bacterias, algas suelo etc. Algunos viven en el suelo otros libres en el aire y algunos se desarrollan en las raíces de la planta; en la nitrificación ocurren dos procesos la nitrosación y la nitratación que a su vez se convierte en nitrito y nitrato en cual es absorbido por las plantas y luego parte del ecosistema; la asimilación consiste pasar de nitrato a amonio y también ser absorbido (Hayatsu et al., 2008). La desnitrificación consiste en el regreso de nitrógeno a la atmósfera en condiciones anaeróbicas y para ellos es necesario la utilización de un sustrato oxidable como fuente de energía (Maldonado, 2008). La liberación de nitrógeno que ocurre en la simbiosis de las cianobacterias con la planta *Gunnera* se realiza en forma de amonio (Long, 1989; Braun-Howland & Nierzwicki-Bauer, 1990) esto se realiza a través de la

contención de la glutamina sintetasa por transcripción o por movimiento posterior como suele suceder en briofitas (Bergman y Rai, 1989) en *Nostoc* la citrulina y glutamina son los compuestos principales amino transportados en la savia del xilema. En la especie *Gunnera magellanica* la citrulina y la glutamina son únicamente constituyentes menores de la combinación de aminoácidos del tejido simbiótico y los vasos de transporte. El tipo de aminoácidos no se han podido identificar aun, ya que el cianobionte tiende a tener un balance positivo de nitrógeno al momento de que este es transferido por el huésped (Bergman et al. 1992). Para la agricultura la incorporación de nitrógeno es fundamental para la proliferación del suelo y por ende la máxima eficiencia vegetal (Rincón & Gutiérrez 2012).

(Figura 1. Ciclo de N₂ en *Gunnera- Nostoc*)



Fertilización

La fertilidad de los suelos es un factor muy importante en la nutrición mineral de los cultivos, por lo que es esencial su entendimiento para realizar un mejor manejo de su nutrición (Garbanzo et al., 2017). La variabilidad de la fertilidad en los suelos está influenciada directamente por la dinámica nutricional que sufren los nutrientes in-situ y muy correlacionada con la génesis y manejo del suelo. (Alvarado, 1985; Kass 1996, Bertsch, 1998; Sposito, 2008; Garbanzo et al. 2017; Garbanzo et al. 2017). Existen diversos métodos para cuantificar en nitrógeno ya sea en distintos órganos de la planta, en áreas boscosas o en biomasa foliar, hojarasca.

Métodos de cuantificación de N

Un método utilizado para la removilización de nitrógeno en plantas de trigo es por la determinación de aminoácidos totales a través del método de la Ninhidrina, la actividad enzimática de la glutamina sintetasa GS y la abundancia relativa de la isoenzima (GS1) por inmunodetección utilizando anticuerpos específicos (Caputo y Roberts, 2009). Un método aplicado para estudiar el desarrollo de la fijación de nitrógeno en el sistema *Gunnera-Nostoc* es a través de la medición de actividad de la nitrogenasa total, el nivel de proteína nitrogenasa; asimismo verificar la frecuencia de los heterosistos en las diferentes partes en el interior de la planta (Soderback et al., 1990). El método de *Kjeldhal* consiste en la aplicación de ácido sulfúrico y catalizadores los cuales son reposados dos hasta diez horas a 420°C, resultado de eso se forma una reacción química de sulfato de amonio que genera amoniaco al

exceso de hidróxido de sodio. Finalmente se llega a titular y destilar para de esta manera determinar la cantidad de nitrógeno en una muestra (Lanza, Churión y Gómez 2016).

Bosques montanos tropicales

Los bosques montanos tropicales a lo largo del tiempo no han recibido la atención adecuada como la de científicos u otras personas especialistas, pese a que son de suma importancia económica y ecológica (Cubas & Lizetty, 2013). Los bosques montanos son considerados frágiles y esto a causa de los impactos de las lluvias, debido a que poseen pendientes pronunciadas y son explotados por la población cada vez a mayor grado (Bussmann, 2005). En el Perú se menciona que 23 relictos boscosos necesitan ser preservados con urgencia por el gobierno (Weigend, Rodríguez y Arana 2005), por efecto del cambio climático y la intervención del ser humano (Vicuña, 2005).

Bosques de Neblina

El empeño de conservación está orientado al bosque nublado, el cual posee un subconjunto de bosques en los cuales la humedad es resultado de las nubes que están en la zona de manera perseverante. Se estima que un 90% de los bosques nublados en los Andes han sido devastado (Hamilton & Hamilton, 2015). Desde el año 2005 al 2010 se perdieron 6 418 000 ha de todo tipo de bosques en diferentes países de Latinoamérica. Específicamente, en Perú se dio una pérdida de 150 ha al año por agricultura y ganadería lo que indica que existe una gran amenaza a este tipo de servicios ecosistemicos (FAO, 2010).

Necesidad de restaurar el nitrógeno en los suelos de los Bosques Montanos

Hoy en día es mundialmente conocido los diversos tipos de contaminación, degradación he impactos negativos hacia el ambiente y el hombre, se observa que no es suficiente la restauración y conservación ecológica para poder restituir todo el daño generado al hábitat y la devastación a la biodiversidad. Lo que se debería aplicar de hoy en adelante es educar a la sociedad como reparar ecosistemas, poblaciones de flora y fauna para así llegar a un equilibrio sostenible en todo sistema y ámbito existente que interviene en el flujo de económico del planeta (Vargas Ríos, 2011).

Nitrógeno en el bosque

Para evaluar el nitrógeno en los bosques se tiene que analizar las fuentes de entradas (a través de simbióticos y asbióticos), fuentes de depuración de nitrógeno en base a pérdidas gaseosas (por ejemplo, N_2O y NO_x), reciclaje (como la mineralización neta y nitrificación), también se tiene que considerar la cuantificación de plantas disponibles en el suelo (Winbourne & Feng, 2018)

Nitrógeno en el suelo

La materia orgánica y el nitrógeno total son dos propiedades fundamentales para evaluar la fertilidad del suelo (Bremner & Mulvaney, 1982). El ciclo y proceso de nitrógeno comprende ciertas etapas Rincón & Gutiérrez (2012), autores especialistas en ciclos biogeoquímicos y suelos, indican que: La dinámica del nitrógeno en la biosfera

comprende principalmente la fijación de N_2 , la mineralización, la nitrificación, la desnitrificación y la oxidación anaeróbica del amonio Annamox, procesos desarrollados principalmente por microorganismos presentes en el suelo. El nitrógeno entra en la biosfera por fijación química y biológica del nitrógeno molecular (N_2) y se remueve de la misma por desnitrificación, la determinación cuantitativa de los diferentes compartimientos orgánicos y minerales está relacionada con la disponibilidad de nutrientes y su susceptibilidad de alteración debido al manejo, sistemas de producción y procesos del suelo, donde estos compartimientos estén involucrados (p. 286). Lo que implica ser un elemento esencial para el medio ambiente y desarrollo de los seres vivos a través de su constante movimiento presente entre ellos.

Fijación de nitrógeno en leguminosas

El sistema agrícola hoy en día demanda cada vez más plantas con una nutrición nitrogenada elevada para que de esta manera el suelo sea más fértil y por ende la producción se eleve; es por ello que los agricultores suelen optar por fertilizantes y esto incrementa sus costos. Sin embargo, existe la contribución de nitrógeno por otro medio llamado fijación biológica de nitrógeno, específicamente la fijación simbiótica de nitrógeno de algunas especies vegetales que realizan la simbiosis con organismos halófitos son las que aportan el resultado deseable para una eficiente producción (Urzúa, 2005). Las leguminosas son las plantas que realizan este proceso más eficientemente, ya que no solo absorben el nitrógeno del suelo sino también el atmosférico y esto ocurre gracias a la presencia de bacterias como el *Rhizobium* que “contaminan” las raíces y forman los nódulos en los cuales la enzima nitrogenasa convierte el N_2 a NH_3 ; este tipo de simbiosis es una de la más conocida (Olivares, 2004).

La fijación Biológica de Nitrógeno consiste en el desarrollo de diferentes microorganismos existentes en el medio que aprovechan el nitrógeno presente en el aire, reduciéndolo a amoníaco por el medio de una enzima conocida como nitrogenasa para la elaboración eficiente de proteínas. Los microorganismos fijadores de nitrógeno usualmente son de vida libre en el suelo, o en distintas partes de la planta como las raíces, más distinguidas como bacterias y cianobacterias que por lo general viven con la planta por simbiosis (Parédes, 2013). Así como diversas especies vegetales contribuyen al mayor nivel de nitrógeno en la planta y así al suelo como fertilizantes como son las leguminosas como la soja, alfalfa y leucaena una especie silvestre de la zona de Chanchamayo y Oxapampa realiza un nivel más avanzado de la fijación de nitrógeno y esta con cianobacterias que por lo visto es de gran aporte para estudios posteriores.

El género *Gunnera*

El género *Gunnera* pertenece a la familia de las Angiospermas (Gunneraceae) del Orden Gunnerales y constan en 62 especies por América del Sur en su mayoría (Chase, 2016). Lo que consiste la parte de la anatomía de la planta, en primer lugar, la raíz se ajusta con el prototipo específico de las Angiospermas. Las vasculas elementales se organizan radialmente creando un cilindro, por dentro en donde se halla una médula parenquimática (Mora – Osejo, 2011) respecto al tallo en la *Gunnera* prevalecen ejes anómalos caracterizados por tallos polistéllicos con estelas sin orientación particular; cada estela está rodeada por una endodermes con bandas de *Casparry*, usualmente ubicadas en las paredes radiales (Solereeder, 1908) respecto a las hoja varía dependiendo la

especie y el medio donde se desarrolla la planta; por ejemplo la *G. magellanica* los estomas se presentaron solo en la parte del envés a causa de las bajas temperaturas en la noche y la humedad del aire (Wilkinson, 2000), sin embargo en otras especies que crecen en zonas secas presentan diferencias en el parénquima empalizada y esponjoso (Mora-Osejo, 1978)

Carl Von Linne nombró al género de *Gunnera* en homenaje al botánico Johan Ernst Gunnerus y mencionó que aún existen muchísimas más especies por explorar (Bergman, Johansson, & Soderback 1992), asimismo esta planta generalmente es expandida por parte de América del sur (Molina, 1978) estas especies por lo general habitan en bosques húmedos, humedales y lejos de carreteras, asimismo, otro tipo de especies crecen en zonas muy inclinadas donde hubo explosión volcánica. En el Perú por el momento se reportan cinco colecciones de *Gunnera* como la *G. annae* en la parte de Huánuco, Carpish; la *G. bolivari* en la zona de Cuzco, Paucartambo, Junín, Oxapampa y Piura, Huancabamba; la *G. brephogea* en la parte de Cajamarca, San Ignacio y Pasco, Oxapampa; la *G. margaretae* en la zona de Amazonas, Bongara; Cajamarca, Cutervo; Cuzco y Huánuco; por último la *G. peruviana* descubierta en las zonas de Cajamarca, Huancabamba, Huánuco y Puno (Mora-Osejo, Pabón-Mora, & González 2011) la *Gunnera* consiste en una planta angiosperma, es decir tiene inflorescencias (Bergman, Johansson & Soderback 1992). La especie *Gunnera* destaca por su importancia respecto a la endosimbiosis que realiza con cianobacterias, principalmente *Nostoc punctiforme* y esto compone a la eficiente fijación de nitrógeno en sus órganos.

Sistema *Gunnera* - *Nostoc*

La relación planta-simbionte es una estrategia que permite el aprovechamiento de nutrientes, genera consecuencias emergentes para la composición de la comunidad vegetal y favorece los ciclos biogeoquímicos de la tierra; este patrón es fundamental para nuestra comprensión de las retroalimentaciones planta-suelo-nutrientes en la biosfera terrestre, que, a su vez, son esencial para predecir la dinámica futura del sistema de la Tierra (Lu & Hedin, 2019). La *Gunnera* realiza una simbiosis con cianobacterias *Nostoc* fijadoras de nitrógeno que conlleva a que la planta sea autónoma del nitrógeno combinado. La simbiosis que realiza esta planta es particular, el tipo de cianobacterias fue variando con los años hasta que se llegó a concluir he identificar que era de tipo *Nostoc punctiforma* de vida libre la que realizaba la simbiosis con la *Gunnera* (Reinke, 1872 & Hariot, 1892). Usualmente se detectaban diferentes tipos de organismos en el moco de la planta como hongos (*Fusarium*, *Penicillium*), microzoos y bacterias, pero en la parte externa mas no en la interna (Flores, 1983; Towata, 1985) hasta que fue detectada la presencia de la *Nostoc* de manera intracelular de la *Gunnera* (Jonsson, 1894). Después de diferentes estudios se aseguró que todas las plantas del género *Gunnera* siempre poseen *Nostoc* (Silvester, 1976).

El desarrollo de la cianobacteria en la planta no es a través del moco, ya que este cumple la función de protección de la sequía (Berckholtz, 1891) sino se alimenta del nitrato de amonio obtenido por la atmosfera y es así que se considera fijadora de nitrógeno (Drewes, 1928).

Las cianobacterias *Nostoc* son fijadoras de nitrógeno, el cual proceso se realiza por la catalización de la enzima nitrogenasa, que se encuentra en los heterosistos especialmente para la anaerobia fijación de N_2 , el cual es esencial para la participación de la glutamina sintetasa y el glutamato sintasa (Haselkorn, 1978). El tamaño de las plantas también juega un papel importante, ya que como se ha determinado las especies más grandes de tamaño tienen una menor cantidad cianobacterias en su área (Becking, 1976). Según otras investigaciones en el sistema *Gunnera – Nostoc* es donde se realiza con éxito esta simbiosis y por ende la reparación de nitrógeno, es por todo ello que esta planta a comparación de otras realiza hasta diez veces más lo que sería la actividad de nitrogenasa (Silvester, 1976).

IV. Conclusión

La removilización de nitrógeno es un factor principal para la fertilidad del suelo, ya que al ser absorbido por el medio y luego depositado en diferentes partes vegetativas significa que llegará un momento en donde regresará como alimento en la tierra y por ende será parte del ecosistema. Los bosques montanos pertenecientes al valle de Chanchamayo y Oxapampa han sido impactados los últimos años por la agricultura de granadilla y piña con resultado una degradación del suelo agrícola que pertenece a este tipo de bosque. El sistema *Gunnera – Nostoc* realiza una endosimbiosis muy particular que resulta ser clave para la fijación de nitrógeno en la planta silvestre de la zona y por tanto contribuir al medio y el ciclo biogeoquímico de la tierra. Este patrón es fundamental para nuestra comprensión de las retroalimentaciones planta-suelo-nutrientes en la

biosfera terrestre, que, a su vez, son esenciales para predecir la dinámica futura del sistema de la Tierra y aplicar estudios posteriores que aportaran el máximo aprovechamiento de los recursos.

V. Bibliografía

Berckholtz, W. (1891). Beitrage zur kenntnis der morphologie und anatomie von *Gunnera manicata* Linden. *Bibliotheca botanica* 24, 1-18

Caputo, C., Criado, M. V., & Roberts, I. N. (2009). removilización del nitrógeno en plantas de trigo como herramienta para el mejoramiento de la eficiencia de uso. *Informaciones agronómicas del cono sur-Instituto de la Potasa y el Fosforo (Argentina)*. (Jun 2009)., (42), 16-18.

Molina, A. M. (1978). El género *Gunnera* en la Argentina y el Uruguay (Gunneraceae). *Darwiniana*, 473-489.

Mora-Osejo, L. E., Pabón-Mora, N., & González, F. (2011). Gunneraceae. *Flora Neotropica*, iii-166.

Bergman, B., Johansson, C., & Soderback, E. (1992). Tansley Review No. 42. The Nostoc-Gunnera symbiosis. *New Phytologist*, 379-400.

Reinke, J. (1872). Über gonidienartige bildungen in einer dicotyledonischen pflanze. *Botanischer Zeitung* 30, 59.

Hariot, P. (1892). Sur une algue qui vit dans les racines des Cycadees. *Comptes rendus* 115, 325.

Flores, E. M. (1983). Cauline glands of *Gunnera insignis*. *American Journal of Botany* 70, 21 (Abstract).

Towata, E. M. (1985). Mucilage glands and cyanobacterial colonization in *Gunnera kaalensis* (Haloragaceae). *Botanical Gazette* 146, 56-62

Jonsson, B. (1894). Studier ofver alparasitism hos *Gunnera* L. *Botaniska Notiser* 1-20

Silvester, W. B. (1976). Endophyte adaptation in *Gunnera* Nostoc symbiosis. In: *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants* (Ed. By P. S. Nutman), pp. 521-538. Cambridge University Press, Cambridge.

Drewes, K. (1928). Über die assimilation des luftstickstoffs durch blualgen. *Zentralblatt für Bacteriologie* 76, 88-101.

Haselkorn, R. (1978). Heterocysts. *Annual Reviews in Plant Physiology* 29, 319-344.

Becking, J. H. (1976). Nitrogen fixation in some natural ecosystems In Indonesia.

In: *Symbiotic Nitrogen Fixation In Plants* (Ed. By P. S. Nutman), pp.539-550. Cambridge University

Bussmann, RW. 2005. Bosques Andinos del Sur del Ecuador, clasificación, regeneración y uso. *Revista Peruana de Biología* 12(2): 203-21

Garbanzo-León, G., Alemán-Montes, B., Alvarado-Hernández, A., & Henríquez-Henríquez, C. (2017). Validación de modelos geoestadísticos y convencionales en la determinación de la variación espacial de la fertilidad de suelos del Pacífico Sur de Costa Rica. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía*, 2017(93), 20-41.

Winbourne, J. B., Feng, A., Reynolds, L., Piotto, D., Hastings, M. G., & Porder, S. (2018). Nitrogen cycling during secondary succession in Atlantic Forest of Bahia, Brazil. *Scientific Reports*, 8(1).doi:10.1038/s41598-018-19403-0 <<https://www.nature.com/articles/s41598-018-19403-0> >

Jarquín-Sánchez, A., Salgado-García, S., Palma-López, D. J., Camacho-Chiu, W., & Guerreto-Peña, A. (2011). Análisis de nitrógeno total en suelos tropicales por espectroscopía de infrarojo cercano (NIRS) y quimiometría. *Agrociencia*, 45(6), 653-662.

Bremner, J. M., and S. Mulvaney C.1982. Nitrogen total. In: Page, A. L., R. H. Miller, and D. R. Keeney (eds). *Methods of Soil Analysis. Part II. Am. Soc. Agron.* No 9 in Agronomy Series. Madison, Wisconsin. USA. pp: 595–624.

Hayatsu M., Tago K., Saito M. 2008. Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. *Soil Science and Plant Nutrition. 54:* 33-45

Hu B., Shen L., Xu X., Zheng P. 2011. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in different natural ecosystems. *Biochemical Society transactions. 39(6):* 1811-6. doi:10.1042/BST2011071

Klotz M.G., Stain L.Y. 2008. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle. *FEMS Microbiological Letters. 278:* 146-156.

Delgado R., Salas A.M 2006. Consideraciones para el desarrollo de un sistema integral de evaluación y manejo de la fertilidad del suelo y aplicación de fertilizantes para una agricultura sustentable en Venezuela. *Agronomía Tropical. 56(3):* 289-323.

Söderbäck, E., Lindblad, P., & Bergman, B. (1990). Developmental patterns related to nitrogen fixation in the *Nostoc-Gunnera magellanica* Lam. symbiosis. *Planta, 182(3),* 355-362.

Lanza, José Gregorio, Churión, Pedro César, & Gómez, Néstor. (2016). Comparación entre el método *Kjeldahl* tradicional y el método Dumas automatizado (N₂) para la determinación de proteínas en distintas clases de alimentos. *Saber*, 28(2), 245-249. Recuperado en 26 de febrero de 2019, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622016000200007&lng=es&tlng=pt.

Vargas Ríos, Orlando (2011). Restauración ecológica: biodiversidad y conservación. *Acta biologica colombiana*, 16(2).

Uhart, S. A., & ECHEVERRIA, H. E. El rol del nitrógeno y del fósforo en la producción de maíz: *diagnóstico de la fertilización nitrogenada y fosforada*.

Novoa, R., y R.S. Loomis. 1981. Nitrogen and plant production. *Plant and soil* 58:177-204

Uhart, S.A., y F.H. Andrade, 1995. Nitrogen and Carbon accumulation and remobilization during grain filling in maize under different source/sink ratios. 1995. *Crop Sci.* 35:183-190

Confalone, A. E. (2008). *Crecimiento y desarrollo del cultivo del haba (Vicia faba L.)*. Parametrización del submodelo de fenología de cropgro-fababean. Univ Santiago de Compostela.

Hayatsu M., Tago K., Saito M. 2008. Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. *Soil Science and Plant Nutrition*. 54: 33-45.

Maldonado, J. M. (2008). Asimilación del nitrógeno y del azufre. In *Fundamentos de fisiología vegetal* (pp. 287-303). McGraw-Hill Interamericana de España.

LONG, S. R, (1989). Rhizobium-legume nodulation: life together in the underground. *Cell* 56, 203-214.

Braun-Howland, E. B. & Nierzwicki-bauer, S. A. (1990). Azolla-Anabaena symbiosis: biochemistry, ultrastructure, and molecular biology. In: *Handbook of Symbiotic Cyanobacteria* (Ed. by A. N. Rai), pp. 65-117. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Rai, A. N., Borthakur, M., Singh, S. & Bergman, B. (1989). Anthoceros-Nostoc symbiosis: immunoelectronmicroscopic localization of nitrogenase, glutamine synthetase, phycoerythrin and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in the cyanobiont and the cultured (free-living) isolate Nostoc 7801. *Journal of General Microbiology* 135, 385-395.

Rincón, L. E. C., & Gutiérrez, F. A. A. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1), 285-295.

Urzúa, H. (2005). Beneficios de la fijación simbiótica de nitrógeno en Chile. *Cien. Inv. Agr*, 32(2), 133-150.

Paredes, M. C. (2013). Fijación biológica de nitrógeno en leguminosas y gramíneas. *Agroecología*, 9(2), 9-18.

Chase, M. W., Christenhusz, M. J. M., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., Soltis, D. E., ... & Stevens, P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20.

Mora-Osejo, L. E. 1978. Nuevas especies de Gunnera del Neotrópico 1. *Caldasia* 12(57): 171-179. Flora de Colombia. 3. Haloragaceae. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogó

Wilkinson, H. 2000. A revision of the anatomy of Gunneraceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 134: 233-266