TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

"EVALUACIÓN DE LA REMOVILIZACIÓN DE NITRÓGENO EN *Gunnera margaretae* Schindl. PARA POSIBLE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE MONTANO EN EL VALLE DE OXAPAMPA"

Tesis para optar el título profesional de:

INGENIERA AMBIENTAL

Presentado por:

Alexandra Isabella Vourtsi Córdova (0000-0002-2591-3100)

Asesor:

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

Co-asesor:

Oscar Reategui Arevalo (0000-0001-9773-2176)

Lima – Perú

2023

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 23 de enero del 2024.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Mg. Catherine Mariela Coronado León
Miembro: Mg. Karen Ilse Eckhardt Rovalino
Miembro: Mg. Vladimir Fernando Camel Paucar

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

"EVALUACIÓN DE LA REMOVILIZACIÓN DE NITRÓGENO EN *Gunnera margaretae* Schindl. PARA POSIBLE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE MONTANO EN EL VALLE DE OXAPAMPA"

Presentada por la/el estudiante/bachiller:

- **Alexandra Isabella Vourtsi Córdova**

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Ambiental

Asesorado por: Blgo. Gustavo Ricardo Dreyfus Raymond

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de la tesista de la carrera de Ingeniería Ambiental en la sustentación, concluyen de manera unánime (X) por mayoría simple ( ) calificar a:

Tesista: Alexandra Isabella Vourtsi Córdova			Nota (en letras): 15 (QUINCE)
Aprobado (X)	Aprobado - Muy buena ( )	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.

Mg. Catherine Mariela Coronado León
Presidente

Mg. Karen Ilse Eckhardt Rovalino
Miembro 1

Mg. Vladimir Fernando Camel Paucar
Miembro 2

Blgo. Gustavo Ricardo Dreyfus Raymond
Asesor

ANEXO: FORMATO DE DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS / TRABAJO DE INVESTIGACIÓN[1]

Lima, 25 de enero del 2024

Señor, **Percy Manuel Mayta Tristán**

Director General de Investigación, Desarrollo e Innovación
Universidad Científica del Sur
Presente. –

De nuestra consideración,

Yo: Alexandra Isabella Vourtsi Cordova, egresada de la carrera de ingeniería ambiental de la Universidad Científica del Sur, en conjunto con el asesor de tesis Gustavo Ricardo Dreyfus Raymond, declaramos que este informe final de tesis de investigación titulado: EVALUACIÓN DE LA REMOVILIZACIÓN DE NITRÓGENO EN *Gunnera margaretae* Schindl. PARA POSIBLE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE MONTANO EN EL VALLE DE OXAPAMPA, sustentado para obtener el título de Ingeniero Ambiental es original.

Es decir, no contiene plagio parcial ni total, cuando se utilizó información de fuentes externas se reconoció la autoría mediante la adecuada citación y los resultados obtenidos son producto entero de nuestra investigación y no han sido falseados ni fabricados. Todo esto en cumplimiento del Código de ética en la investigación, Reglamento del Comité de Integridad Científica, Reglamento de Propiedad Intelectual, Normas y procedimientos de los trabajos de investigación para la obtención de títulos profesionales y grados académicos [2], que afirmamos conocer en su totalidad.

Por ello, en caso de identificarse alguna situación de plagio, falsificación o fabricación de resultados, nos allanamos al proceso de investigación que establezca la universidad y las posibles sanciones que pudieran surgir.

Firmamos en conformidad con lo declarado,



Firma tesista
DNI: 48422693



Firma del asesor de tesis
DNI:07840274

[1] En conformidad con la Resolución del Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD
[2] Los documentos están en: https://investigacion.cientifica.edu.pe/reglamentos/

INFORME DE REVISIÓN DE ORIGINALIDAD

Título del documento evaluado. Evaluación de la removilización de nitrógeno en Gunnera margaretae Schindl. para posible conservación del bosque montano en el valle de Oxapampa

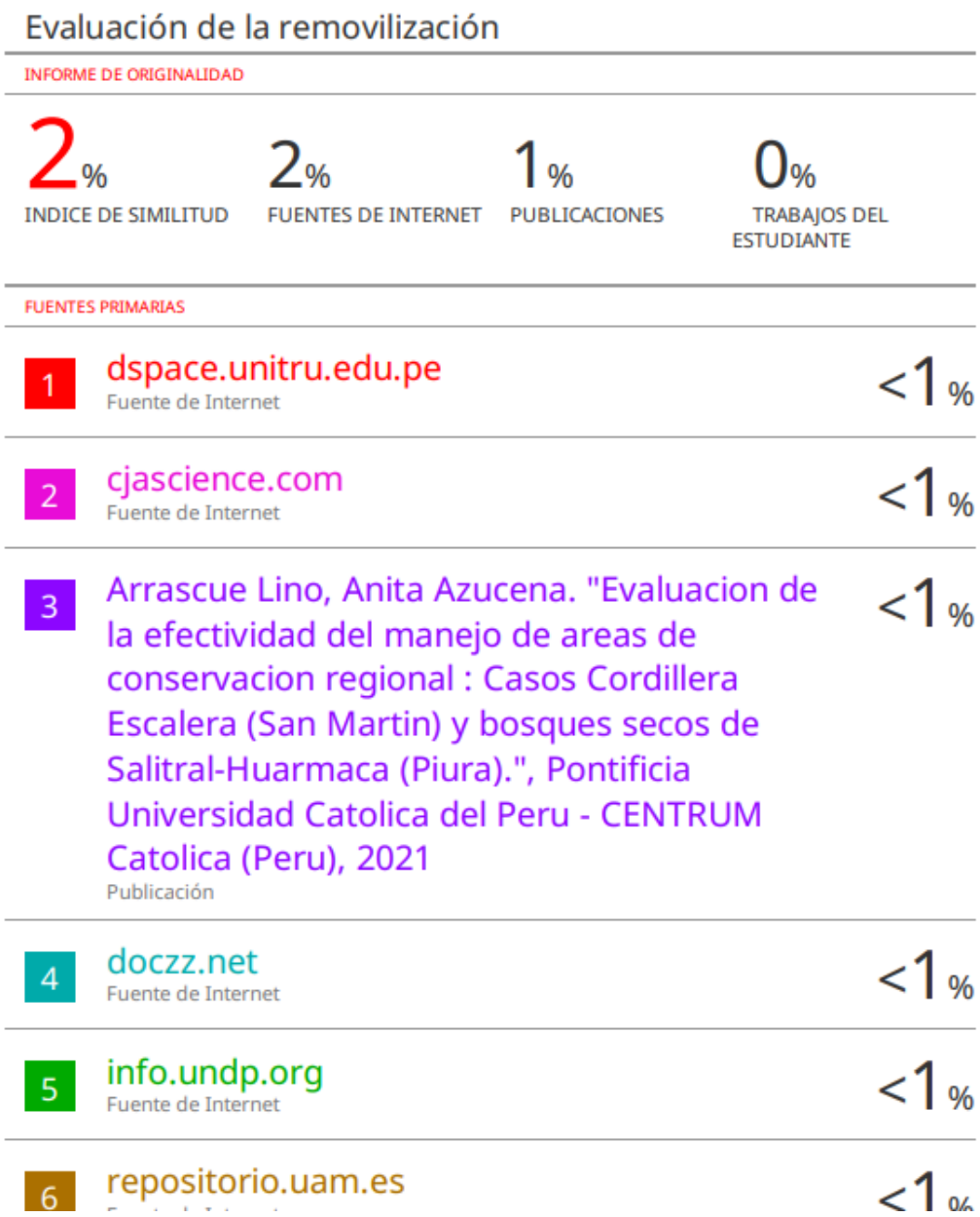
Autores. Alexandra Isabella Vourtsi Cordova

Mecanismo de revisión de originalidad. Evaluación con Turnitin (ID 2294153151).

Resultado de la evaluación. 2%

Revisado por. Magaly Kelly Guerrero Huaracallo.

Comentarios sobre la revisión. Filtros usados: excluir fuentes de menos de 12 palabras.



Evaluación de la removilización

INFORME DE ORIGINALIDAD

2%	2%	1%	0%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1%
2	cjascience.com Fuente de Internet	<1%
3	Arrascue Lino, Anita Azucena. "Evaluacion de la efectividad del manejo de areas de conservacion regional : Casos Cordillera Escalera (San Martin) y bosques secos de Salitral-Huarmaca (Piura).", Pontificia Universidad Catolica del Peru - CENTRUM Catolica (Peru), 2021 Publicación	<1%
4	doczz.net Fuente de Internet	<1%
5	info.undp.org Fuente de Internet	<1%
6	repositorio.uam.es	<1%

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Dedicatoria

A Dios por darme fuerzas, paciencia y perseverancia a pesar de las circunstancias, las dificultades y pruebas de vida; a todas aquellas personas que pusieron un granito de arena para lograr culminar mis estudios y me ayudaron a forjar mi carácter y ser lo que hoy soy.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Agradecimientos

Mi agradecimiento a mis familiares en Perú que ayudaron a realizar esta investigación.

Especialmente agradecer a mi asesor Blgo. Dreyfus Gustavo y Co-asesor Ing. Reátegui Oscar por sus conocimientos y tiempo brindado. A todos los docentes que formaron parte de mis estudios universitarios, Blga. Luzmila Rodríguez, Ing. María Elvira Jacinto, Blga. Sarita Bocanegra, Dra. Susan Medina y todo el personal como auxiliares y técnicos que fueron un papel fundamental en la elaboración de mi proyecto. Un especial agradamiento a mi Manoula que siempre está a mi lado a pesar de la inmensa distancia que nos separa.

Te quiero.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA 3

AGRADECIMIENTOS 4

RESUMEN 7

ABSTRACT 8

I. INTRODUCCION

II. METODOS 14

2. Descripción de Área de Estudio 12

2.1. Colecta de muestras 15

2.2. Identificación de la especie Gunnera 15

2.2.1. Identificación de cianobacterias 15

2.2.2. Preparación/preservación de muestra 17

III. RESULTADOS

3.1. Identificacion de la especie de *G.margaretae* en el área de estudio. 24

3.2. Caracterizacion de Nostoc como endosimbionte en *G.margaretae*. 24

3.3. Determinacion de la concentración de nitrógeno en diferentes órganos de la planta (hojas, tallos, raíces) 27

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

3.4. Comparar la concentración de nitrógeno en *G.margareate* y una leguminosa 33

IV. DISCUSIÓN 32

V. CONCLUSIONES 35

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

VII. FIGURAS Y TABLAS

VIII. ANEXOS

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

RESUMEN

La removilización de nitrógeno en las especies del género *Gunnera* implica algunas diferencias por la endosimbiosis con la cianobacteria *Nostoc* que le brinda una mayor fijación de nitrógeno y, a su vez, mayor valor para los bosques montanos, principalmente en la provincia de Oxapampa, en los cuales se desarrolla una agricultura intensiva de corta duración perjudicial para el suelo. La presente investigación tiene como objetivo evaluar la removilización de nitrógeno de *Gunnera margaretae* respecto a su fertilización natural y posible conservación del bosque montano. La metodología aplicada fue la determinación del porcentaje de nitrógeno para distintos órganos vegetativos (tallos, raíces, hojas) a través del método de Kjeldahl. La identificación de colonias formadas por las cianobacterias *Nostoc punctiforme* y *Oscilatoria* sp., fue a través de microscopio a un aumento de 1000x. Los resultados obtenidos revelaron un porcentaje alto de nitrógeno (1,72%), en comparación con leguminosas como la alfalfa (1,26%), trébol (0,4%) y frejol común (0,67%) consideradas fijadoras de nitrógeno por excelencia. En este contexto, la conclusión fundamental del estudio arroja luz sobre la posibilidad de aprovechar los resultados obtenidos después de analizar detenidamente el proceso de fijación llevado a cabo por *G. margaretae.* Esta investigación podría desempeñar un papel crucial al combinarse con otros estudios relacionados, con el potencial de generar un impacto significativo en la producción de abonos orgánicos, la promoción de la sostenibilidad del suelo y, en última instancia, la mejora de la calidad de vida de los agricultores locales en la región.

Palabras clave: *Gunnera*, *Nostoc*, bosque montano, fijación de nitrógeno.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ABSTRACT

The remobilization of nitrogen in species of the genus *Gunnera* involves some differences due to endosymbiosis with the cyanobacterium *Nostoc*, which provides it with a higher nitrogen fixation capacity and, in turn, greater value for montane forests, primarily in the province of Oxapampa, where intensive short-term agriculture harmful to the soil is prevalent. This research aims to evaluate the nitrogen remobilization in *Gunnera margaretae* concerning its natural fertilization and potential conservation of the montane forest. The methodology employed involved determining the nitrogen percentage in different vegetative organs (stems, roots, leaves) using the Kjeldahl method. The identification of colonies formed by the cyanobacteria *Nostoc punctiforme* and *Oscilatoria sp*. was conducted through a microscope at a 1000x magnification. The results obtained revealed a high nitrogen percentage (1.72%) compared to nitrogen-fixing legumes such as alfalfa (1.26%), clover (0.4%), and common beans (0.67%). In this context, the key conclusion of the study sheds light on the potential to harness the findings after a thorough analysis of the fixation process carried out by *G. margaretae*. This research could play a pivotal role when combined with related studies, with the potential to significantly impact organic fertilizer production, promote soil sustainability, and ultimately enhance the quality of life for local farmers in the region.

Keywords: *Gunnera*, *Nostoc*, montane forest, nitrogen fixation.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

I. INTRODUCCION

La aportación tanto económica como ecológica que brindan los bosques montanos tropicales es importante y lamentablemente durante muchos años no obtuvo la atención de especialistas (Cubas y Lizetty, 2013). Estos bosques presentan un alto nivel de vulnerabilidad a causa de actividades antropogénicas como agricultura, ganadería, tala ilegal, etc. Durante el periodo comprendido entre 2013 y 2015, se evidenció que el 71 % de la deforestación en la Amazonía peruana se atribuyó al manejo de parcelas de 5 hectáreas, mientras que el 19 % restante se relacionó con la gestión de parcelas de tamaño medio, oscilando entre 5 y 50 hectáreas. En estas últimas, se llevaron a cabo prácticas como la quema indiscriminada y la tala de árboles, según señalan los estudios de Bedoya (2003) y Bedoya y Ramírez (2001).

Una característica del relieve de los bosques montanos es que la proporción de terrenos planos y con poca pendiente es escasa. En términos generales, las condiciones topográficas y las características del subsuelo se reflejan en laderas largas con pendientes moderadas o pronunciadas, que se formaron sobre capas de rocas metamórficas y sedimentarias. Estas rocas tienen diferentes edades, pero la mayoría de ellas datan del Paleozoico y del Cretácico sin divisiones claras (Tosi, 1980). Además, en los bosques de este tipo se encuentran islas húmedas que se caracterizan por recibir altos niveles de precipitación a lo largo del año, lo que contribuye a la formación de vegetación exuberante y que a su vez son aprovechadas por los pobladores de la zona que se dedican a la ganadería. Las características edáficas, es decir, las propiedades del suelo, son un factor determinante en la explicación de la composición de la flora arbórea y herbácea en el bosque (Quiroz, 2016). Se han registrado árboles con tamaños

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

que oscilan entre 20 y 30 m, destacando el ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii*). Asimismo, a menudo se presentan epifitas y helechos (Ataroff y Monasterio, 1987). Los géneros de angiospermas con mayor relevancia en este medio son *Symplocos* (Symplocaceae), *Cedrela* (Meliaceae), *Clusia* (Clusiaceae), *Oreopanax* (Araliaceae), *Brunellia* (Brunelliaceae), *Ilex* (Aquifoliaceae), *Clethra* (Clethraceae), *Guarea* (Meliaceae), entre otros (Tosi, 1980).

Los bosques montanos remanentes destacan por su diversidad de especies y endemismos, lo que los convierte en ecosistemas con un alto potencial. Los bosques montanos enfrentan una rápida deforestación debido a la confluencia del hombre, careciendo de un plan de manejo forestal para especies y a su vez la topografía compleja y el clima regional los hacen especialmente vulnerables (Vicuña, 2005). La conservación de los bosques montanos es importante por ser fuente primaria de agua, porque la zona es generalmente húmeda. Según registros entre el 2004 y 2019 se estima que los bosques montanos de Yunga han sufrido una deforestación que alcanza las 5.062.93 ha (MINAM, 2003). En los países de Sudamérica entre los años 2010 y 2020 hubo una pérdida de alrededor de 2 597 000 ha de diferente tipo de bosques (FAO, 2020). Exactamente, se presentó una pérdida de 15 millones ha al año en el Perú debido al cultivo y la ganadería, lo que señala una alerta para esta clase de funciones del ecosistema como el mantenimiento de la calidad del agua favorable para los seres vivos, creación y sostenimiento de suelos fértiles (FAO, 2010).

En el valle de Oxapampa, se ha observado una variación y deterioro significativos en los ecosistemas naturales, con un impacto especialmente notorio en la calidad del suelo. En este contexto, la mayoría de las especies autóctonas del

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

área rural han sido desplazadas por agroecosistemas que no contribuyen al enriquecimiento del medio ambiente, (Buendía et al., 2017).La presencia de coberturas vegetales ha tenido un impacto positivo en el suelo. Esto se debe a que estas coberturas promueven el aumento de contenido de materia orgánica y nutrientes en el suelo al descomponer la biomasa tanto a nivel aéreo como subterráneo. Además, han mejorado características físicas del suelo, como la porosidad, la estructura y la estabilidad de los agregados. También se ha observado un incremento en la capacidad de retener humedad y en la capacidad de intercambio catiónico del suelo. Estos efectos beneficiosos han llevado a una reducción en el escurrimiento del agua y han contribuido a prevenir la erosión del suelo, al mismo tiempo que han aumentado la actividad biológica en el suelo (Arenas et al., 2019).

La familia Gunneraceae, es una familia monotípica que consiste únicamente del género *Gunnera*, el cual se compone de 63 especies (Christenhusz, 2016; Chase, 2016) de las cuales 44 están distribuidas en la región neotropical (Mora-Osejo, 2011). En el Perú se presentan cinco especies: *G. annae* Schindl., *G. bolivari* J.F. Macbr,, *G. magellanica* Lam., *G. margaretae* Schindl., y *G. peruviana* J.F. Macbr.; ninguna de las especies peruanas es endémica puesto que también están presentes en los vecinos Colombia, Ecuador, Bolivia y Chile (Ulloa et al., 2017).

Desde hace más de cien años se conoce la relación endosimbiótica de cianobacterias con el género *Gunnera* (Jonsson, 1894), principalmente *Nostoc punctiforme*, la cual realiza la fijación de nitrógeno en sus órganos vegetativos (Wilkinson, 2000). Por medio de una investigación en la cual *Gunnera arenaria*

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

realiza endosimbiosis con *Nostoc punctiforme*, precisamente se encontró 5.2 mg de proteína en forma simbionte y 1.1 mg de proteína de manera aislada (Silvestre y McNamara, 1976), a causa de la catalizacion de la enzima nitrogenasa, puesto que el nexo planta-simbionte es una táctica que brinda la posibilidad para que los nutrientes sean aprovechados al máximo, favorece los ciclos biogeoquímicos del planeta y produce resultados emergentes para la creación y población vegetal (Lu y Hedin, 2019; Haselkorn, 1978). Precisamente en cianobacterias independientes, la conversión del nitrógeno atmosférico (N_2) en una forma utilizable depende del complejo enzimático conocido como nitrogenasa, que es sensible al oxígeno (Haselkorn, 1978). Este complejo se encuentra principalmente en células especializadas llamadas heterocistos, que funcionan en condiciones anaeróbicas para proteger la nitrogenasa del oxígeno. El nitrógeno fijado en este proceso se transforma posteriormente en componentes celulares esenciales con la ayuda de dos enzimas, la glutamina sintetasa (GS) y la glutamato sintasa (GOGAT). Durante la transformación de una célula vegetativa en un heterocisto, hay un aumento del doble tanto en la actividad de la GS como en los niveles de proteína, lo que mejora la utilización eficiente del amoníaco producido por la reacción catalizada por la nitrogenasa (Bergman *et al*. 1992; Rai, 1990). Esta asociación entre los organismos genera cambios importantes, en el estudio realizado por Osborne (1989), se pudo identificar como el aumento de más de diez veces en el peso de las plantas y el área foliar sugiere que la cianobacteria aporta beneficios adicionales más allá del suministro de nitrógeno. *Gunnera* requirió niveles inesperadamente altos de nitrógeno combinado para obtener efectos similares a los proporcionados por el cianobionte. Esto

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

pudo deberse a la baja absorción de nitrato y a la actividad de la nitrato reductasa registrada en *Gunnera* y podría explicar por qué *Gunnera* en la naturaleza es tan dependiente de su cianobionte fijador de N_2 (Bergman et al. 1992; Osborne, 1991). Es así como *Gunnera*, en contraste de otras plantas, lleva a cabo una actividad de nitrogenasa hasta diez veces mayor (Silvester, 1976). En ese sentido, el objetivo de esta investigación es evaluar la removilización de nitrógeno en *Gunnera margaretae* respecto a su fertilización natural y posible conservación del bosque montano. Aunque *Gunnera* no pertenece a las leguminosas, tiene la capacidad de fijar niveles significativos de nitrógeno mediante la endosimbiosis con la cianobacteria Nostoc punctiforme, siendo una opción valiosa como planta silvestre en la región. La información recabada se podría utilizar para futuros estudios, como la elaboración de abono orgánico y compost, con el propósito de restaurar ambientes degradados por la agricultura en bosques montanos. La justificación de esta investigación se basa en la restauración ambiental y los beneficios económicos derivados de la restauración de áreas degradadas. Se espera que las especies de *Gunnera* adquieran importancia económica a medida que los pobladores empleen la planta para mejorar la fertilidad del suelo y generen oportunidades económicas locales. Además, se destaca la generación de empleo y la mejora de los cultivos como beneficios sociales, sentando las bases para investigaciones aplicadas futuras y aprovechando la ventaja de tener estas plantas en el territorio local.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

II. METODOS

2. Descripción de Área de Estudio

La investigación se desarrolló en el valle de Oxapampa, ubicado en el departamento de Pasco, Perú, específicamente sobre el km 9 de la carretera que conduce de Oxapampa a Villa Rica (Figura 1), cuyas coordenadas son -10.64449"S, -75.35267"W; a una altitud de 2245 msnm. En la zona se registra un clima de tipo húmedo-semicálido, característico de la selva alta, con una temperatura media anual máxima de 17.9 °C y una precipitación anual de 1,461 mm (Ramos, 2023). La topografía de la zona se caracteriza por el relieve inclinado, con pocas áreas de pendientes suaves, ya que la mayor superficie corresponde a las laderas de los valles. El suelo es de media profundidad y textura variable entre media y fina con pH mayor a 7. Respecto a la vegetación como resultado de la alta actividad agrícola como el cultivo de granadilla, rocoto y maíz y ganadería de vacunos, se han deforestado extensas área de bosques montanosUna de las especies propias de la zona es el ulcumano (*Retrophyllum rospigliosii*). En la provincia, un porcentaje cercano al 32% de su superficie está reservado para la preservación de la naturaleza, a través de Áreas Naturales Protegidas que incluyen al Parque Nacionale Yanachaga Chemillén, la Reserva Comunal Yanesha y el Bosque de Protección San Matías San Carlos, y también zonas de conservación gestionadas a nivel municipal como el Bosque de Shollet. Estas áreas son de gran importancia debido a su diversidad de ecosistemas, complejos ecológicos, y su significativa herencia cultural e histórica (Municipalidad Provincial de Oxapampa, 2010).

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

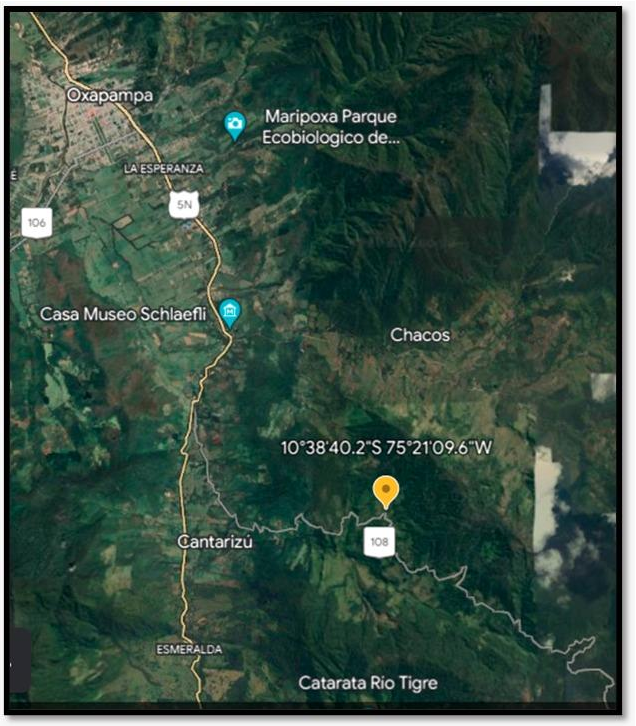


Figura 1. Ubicación de la zona de muestreo

Fuente: Google Earth (2023)

2.1. Colecta de muestras

Dado que se tenía información preliminar sobre la existencia de una especie perteneciente al género Gunnera en ubicaciones específicas a lo largo de la carretera que conecta la ciudad de Oxapampa con el área conocida como El Abra, se llevó a cabo el desplazamiento hacia la zona señalada para llevar a cabo la recolección correspondiente. . Una vez ubicada una población de *Gunnera* indeterminada en el campo se recolectaron 5 kg de órganos vegetativos de la planta (raíz, tallo, hojas). Las partes vegetativas fueron recolectadas con la ayuda de herramientas como guantes de poda, pala pequeña, cuchillo y tijera de podar.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Con la ayuda de la pala se extrajeron de raíz tres individuos completos que fueron divididos en partes y depositados en sacos de propileno rotulados para su traslado. Además, se tomaron fotografías y apuntes de sus características. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Universidad Científica del Sur en donde se analizaron.

2.2. Identificación de la especie.

En una primera instancia se realizó una revisión literaria y fotográfica para conocer la apariencia de las plantas del género *Gunnera,* ya que se había recogido información sobre su presencia en la zona por referencias personales. Morfológicamente, las plantas colectadas son de tamaño mediano a grande; tienen un rizoma grueso que mide alrededor de 4-5 centímetros de diámetro. El rizoma presenta lepidófilos (= pequeñas hojas a manera de escamas) numerosos, rígidos y pueden ser enteros o ligeramente cortados, especialmente en la mitad del margen. Son estrechamente lineales u obovados, con dimensiones que oscilan entre 1 y 4.5 centímetros de ancho y 0.3-0.4 centímetros de grosor, y tienen una superficie lisa de color rojo intenso. El pecíolo es largo, alcanzando los 60-80 centímetros en la base y disminuyendo a 5-8 milímetros en el extremo superior. Es ligeramente acanalado y carece de pelos, pero presenta pequeñas protuberancias espinosas en toda su superficie. Las hojas son en forma de riñón, con un diámetro de 50-125 centímetros, y tienen 9 lóbulos. La base de la hoja es cordada, no peltada, y los lóbulos tienen ápices agudos, a veces subdivididos en 2-3 sublóbulos. Los senos de la hoja representan aproximadamente un tercio de su longitud total, y el margen generalmente presenta dientes afilados, aunque ocasionalmente puede ser entero. La superficie superior de la hoja es rugosa, a

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

veces lisa en algunas áreas, y tiene pequeñas áreas areoladas con protuberancias espinosas. El color de la hoja es verde opaco, mientras que el envés muestra una venación prominente, espinosa y peluda, de tonalidad verde claro (Mora-Osejo, 2011). Cabe mencionar que los ejemplares se encontraron únicamente en estado vegetativo por lo que no se les pudo comparar con los descriptores para inflorescencias, flores y frutos.

Para la identificación de la especie se utilizó la monografía de Gunneraceae por Luis Mora-Osejo *et al*. de Flora Neotropica publicada por New York Botanical Garden en 2011. El uso de la clave dicotómica presentada en la monografía, a su vez corroborado con la descripción, condujo a la identificación de la especie *Gunnera margaretae* Schindl.

2.2.1. Identificación de cianobacterias

Para la identificación de *Nostoc* se utilizaron una muestra líquida (mucílago) y muestra sólida (fragmentos de tallo), la cual se pudo trabajar observando en el microscopio a un aumento de 20x, 40x y 100x. Una vez ubicados en el laboratorio de la Universidad Científica del Sur se procedió a recolectar en un beaker de vidrio esterilizado de 50 ml con la ayuda de una espátula de laboratorio el mucílago presente a simple vista entre el tallo y el peciolo de la planta, rodeado de lepidófilos (Figura 2)

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Figura 2. Mucílago de G. margaretae en la base del peciolo y el tallo.

Además, se realizaron cortes transversales con la ayuda de un bisturí en la parte interna que une el peciolo y el tallo de la planta (Figura 3) y se prepararon dos tubos de ensayo de vidrio diferentes (ambos de medida 15 mm x 100 mm). En el primer tubo de ensayo se colocó agua destilada y un fragmento de muestra donde se rotuló como SF (sin formol); en el segundo tubo de ensayo se colocó un fragmento de muestra con agua y formol a una concentración de 1%; la proporción de volúmenes que se utilizó fue nueve volúmenes de agua y un volumen de formol (3 gotas de formol y 27 de agua) y sucesivamente se rotuló como CF (con formol) con la finalidad de fijar la muestra. Howat *et al*. (2014) mencionan que el formol ayuda a la preservación de las características del tejido como si estuviera vivo, por lo que consiste en una muy buena técnica para la fijación de tejidos vegetales, ya que, ayuda a la conservación de sus estructuras. Luego se cubrieron con un pedazo de papel parafilm y fueron almacenados con la ayuda de una gradilla en la refrigeradora del laboratorio por menos de 24 h a una temperatura de 5°C.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

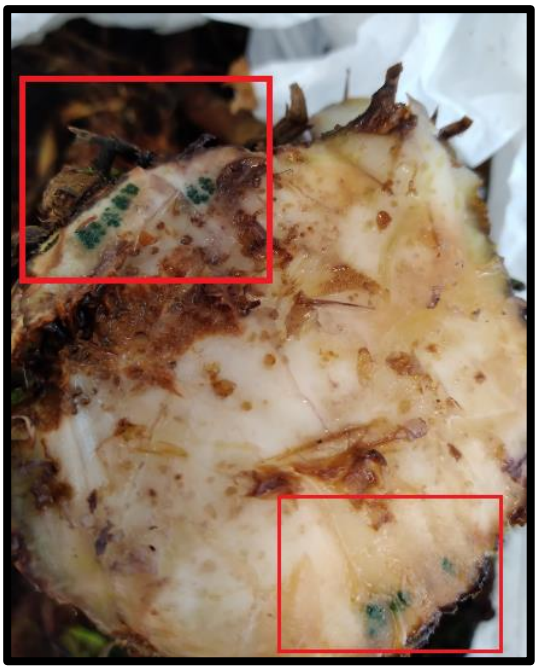


Figura 3. Parte interna de G. margaretae. Los rectángulos resaltan la presencia de colonias de cianobacterias

Posteriormente se pasó a realizar cortes de los fragmentos almacenados en forma de láminas muy finas con la ayuda de un bisturí para observar la muestra en el microscopio. En una primera instancia, se observaron las láminas muy finas con agua destilada. Los finos cortes fueron colocados en láminas portaobjetos e hidratados con agua destilada, con la ayuda de un gotero y se observaron con la ayuda de un microscopio binocular marca OLYMPUS a los aumentos de 20x, 40x y 100x. Es importante mencionar, que la identificación se realizó con una especialista en microalgas que se basó a la identificación taxonómica en base a la observación morfológica como las formas celulares, tipo de cadenas y medición de la célula.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

2.2.2. Preparación/preservación de muestra

a) Separación del material

En un inicio se diseccionaron los órganos vegetativos (raíz, tallo, hojas) de la muestra recolectada. Las muestras frescas llegaron con las raíces y el tallo con lodo arcilloso piedras e insectos y las hojas llegaron con menos suciedad en pequeños ramos rotulados. Se procedió a seleccionar y clasificar las partes vegetativas que serían óptimas para el análisis. Se acondiciono las muestras realizando un lavado y desinfección con la ayuda de una piseta con agua destilada (2 L); se dejaron oreando (escurrido) por 1 día en un colador grande de plástico para que se sequen. Una vez retirada gran cantidad del lodo arcilloso y piedras se pasó a separar los tallos y raíces, cortándolos en pequeñas dimensiones (rodajas) homogéneas para que el tiempo que dure el secado en la estufa sea igual en toda la muestra. Para ello se utilizó un cuchillo, una tijera de laboratorio larga y una tabla de picar (Figura 4).



Figura 4. Corte de partes vegetativas de G. margaretae

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Luego se pasó a colocar las rodajas de raíz en una bandeja de plástico grande con papel Kraft en la base y se repitió el mismo procedimiento para las rodajas de tallo para colocarlas en la estufa. En primer lugar, se colocó la bandeja con la muestra homogénea de tallos en ambos niveles dentro de la estufa de la marca Thermo Scientific a una temperatura de 40 °C por 3 días y la bandeja con la muestra homogénea de raíces se quedó en la estufa por 1 día en la misma temperatura (Figura 5).

En cuanto a las cantidades de muestra tanto de tallos y raíces es importante mencionar que en una primera instancia se midieron en la balanza digital de 3000 g/0.01 g de la marca EEA las cantidades cortadas en partes pequeñas antes y después de ser ingresadas en la estufa; para el caso de las raíces tuvimos un peso de 226.7 g en total de muestra cortada y oreada y luego de ingresar a la estufa un total de 66.96 g. Para los tallos tuvimos un peso de 2442.10 g de muestra cortada y oreada y luego de ingresar a la estufa un total de 174.5 g.



Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Figura 5. Colocación de rodajas de G. margaretae a estufa.

Pasado el tiempo de secado y deshidratación, la muestra de tallo y raíces se trituro con un mortero, cada parte triturada se almacenó en una bandeja para realizar posteriormente un pulverizado utilizando una licuadora (marca THOMAS modelo TH-740V). Cada pulverizado pasó por un tamiz de tamaño de malla MESH 212µm (N°70) (Figura 6), con el objetivo de quedar lo más fino posible. Por último, se procedió a pesar cada pulverizado por separado y se colocó en frascos esterilizados de vidrio de 100 mL rotulados con el tipo de muestra, fecha, y nombre de tesista.



Figura 6. Trituración, molienda y paso de malla MESH de la muestra.

b) Medición de nitrógeno

La medición de nitrógeno se realizó en el Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ), de la Universidad Nacional Agraria la Molina; el primer

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

análisis realizado consistió en la entrega total de la planta fresca en su estado natural, separada en tallos, raíces y hojas donde se llevó a cabo todo el proceso de deshidratación (libre de H_2O) hasta llegar a un estado sólido de partículas muy finas (polvo) para que pueda pasar por el método de Kjeldahl.

Para la medición de nitrógeno se entregó al Laboratorio de Servicios de Análisis Químico (LASAQ), de la Universidad Nacional Agraria la Molina una muestra de 100g de pulverizado de raíces y 100 g de pulverizado de tallos de *G. margaretae.* A los que se aplicó el método de Kjeldahl.

En primer lugar, se pesó la cantidad de la muestra (por ejemplo 0.3074 g de pulverizado de tallos) que entró a digestión y la del catalizador (1.009 g) el mismo valor que fue agregado en todas las muestras. Cada balón de Kjeldahl contenía la cantidad de la muestra en gramos, ácido sulfúrico Q.P. y catalizador, esto se pasó a digerirse por un tiempo de 8 horas con el objetivo de perder el carbono y permanecer el nitrógeno. En segundo lugar, se realizó la destilación para la cual se utilizó un matraz de 100 mL y se colocó 10 mL de ácido bórico al 4% más 5 gotas de indicador, luego se agregó la muestra, 5 mL de NaOH al 80% y 5 gotas de fenolftaleína

Una vez la muestra tornó a color celeste fue el indicador de que todo el nitrógeno se transfirió (se dejó reposando la muestra por 10 minutos). Finalmente se realizó la titulación matraz por matraz con HCL 0.2 M que fue el gasto he indicador al momento de cambiarse el color de naranja a celeste (color original).

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

En cuanto a los ensayos realizados utilizando la metodología líneas arriba es necesario mencionar que para la determinación de cada porcentaje de nitrógeno se utilizó la siguiente ecuación.

$$\%N = \frac{V.gastado\ de\ HCL\ x\ N.HCLvalorado\ x\ miliequivalentedeN2\ x\ 100}{Peso\ muestra}$$

Fuente: AOAC Internacional official Methods of Analysis 19 th Edition (2012)

Donde %N (porcentaje de nitrógeno), V.gastado es el volumen de HCl en mililitros del gasto de titulación que torno el color celeste a naranja (color inicial) de la solución y N es el promedio de la normalidad verdadera es decir la concentración del HCl que se utilizó para realizar la titulación, para la Molaridad (M) en el caso del primer ensayo se obtuvo como resultado Tabla 1. Mientras que en el segundo ensayo nos arrojó el resultado Tabla 2. esto es a causa de que el peso del carbonato de sodio (Na_2CO_3) varia, así como también el gasto de HCl, finalmente se divide el peso del Na_2CO_3 entre el PM del Na_2CO_3 y este último entre el gasto de HCl para darnos el resultado final la molaridad (M). El miliequivalente N_2 es un estándar equivalente del N_2 y es igual a 0.014 (MILEQ), el peso de la muestra está en gramos y es la cantidad que se utilizó en cada corrida de los diferentes órganos vegetativos en la primera etapa a digerirse en el balón de Kjeldahl.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Tabla 1. Molaridad para considerar del primer análisis

Peso del Na_2CO_3	PM Na_2CO_3	Gasto de HCl (ml)	M
0.1934	0.053	15.5	0.2354
0.1873	0.053	14.9	0.2372
0.1915	0.053	15.3	0.2361
Promedio de Normalidad verdadera			0.2362

Tabla 2. Molaridad para considerar del segundo análisis

Peso del Na_2CO_3	PM Na_2CO_3	Gasto de HCl (ml)	M
0.1954	0.053	16.7	0.2354
	Molaridad		0.2208

c) Análisis Estadísticos

El análisis estadístico de uno de nuestros objetivos específicos se ejecutó con el apoyo del programa Excel, con el cual se elaboró tablas con los promedios de porcentaje de nitrógeno entre los grupos de los órganos vegetativos (tallos, raíces, hojas) de *G.margaretae*. Cabe aclarar que se utilizaron los porcentajes de nitrógeno de ambos análisis; es decir de la primera colecta (primer viaje) considerando tallos, hojas y raíces y la segunda colecta (segundo viaje) considerando

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

tallos y raíces que fueron omitidos por el laboratorio de la UNALM. Además, se elaboró diagrama de cajas.

III. RESULTADOS

3.1. Identificación de la especie de *G.margaretae* en el área de estudio.

La identificación de la especie dio como resultado *Gunnera margaretae* Schindl, de acuerdo con la clave dicotómica utilizada en la monografía de Gunneraceae de Flora Neotropica (Anexo 6). Las características vegetativas del material colectado concuerdan con la descripción en la publicación mencionada. Adicionalmente se evidencio en campo que la población de *Gunnera margaretae* estudiada habitaba sobre un ambiente húmedo cercano a un pequeño riachuelo lo que concuerda con un dato indicado en la monografía.

3.2. Caracterización de *Nostoc* como endosimbionte en *G.margaretae*.

Se comprobó la endosimbiosis que desarrolla la planta hospedera con una cianobacteria mediante la identificación tradicional que es la taxonomía en base a las observaciones morfológicas, es decir, a ver las formas celulares, como es la cadena, forma de la célula, cuanto mide; en este estudio, en la que se confirmó la presencia de *Nostoc punctiforme*, por medidas tomadas de hormogonios y a un tamaño de 10 µm. Además se diferencia de las demás por sus características como la presencia de colonias multicelulares de forma esférica, color verde claro, flexible y envuelta en el mucílago. Igualmente, se identificó los diferentes estadios de su ciclo de vida como son los hormogonios y primordios (alargamiento de forma de rosario) seguido por filamentos hasta el aumento y formación de colonias (Fig. 7) y por ende de mucílago (característica propia) donde serán envueltas.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

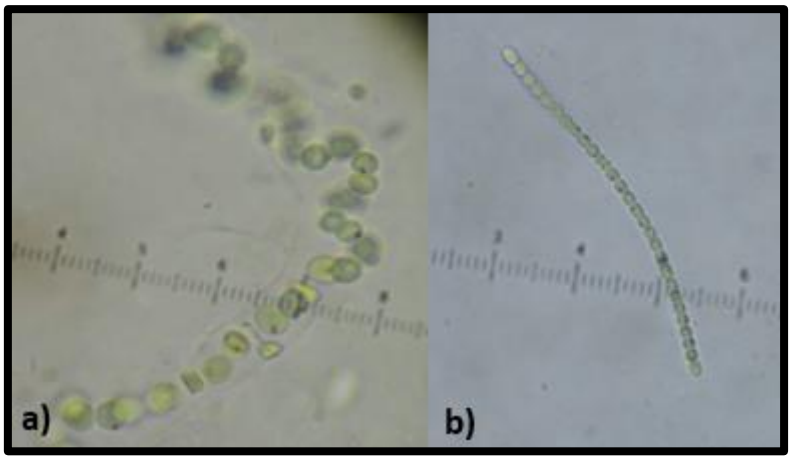


Figura 7. Distintos estadios de Nostoc punctiforme a) primordio envuelto de mucilago b) formación de hormogonio (microscopio Nikon 1000x)

En este caso en particular la fijación biológica de nitrógeno se realiza a través de los vasos conductores internamente en las glándulas de la base del peciolo donde a simple vista realizando un corte transversal de la estructura de la planta (Fig. 8) se ven las manchas verdes formando las colonias del endosimbionte.

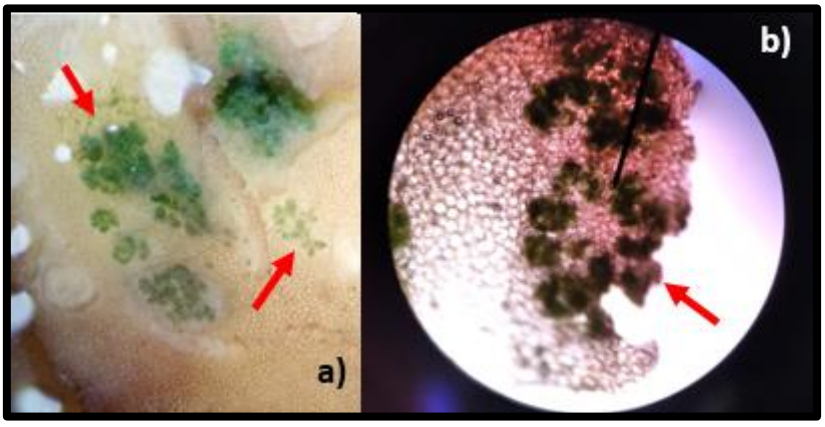


Figura 8. Formación de colonias dentro de la estructura de G. margaretae a) observación a 40x b) observación a 60x a través de un corte transversal del peciolo. Las flechas indican las colonias de cianobacterias

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Es importante mencionar que, durante las observaciones al microscopio, se pudo identificar la presencia de la cianobacteria del género *Oscillatoria* (Fig. 9), la cual no realiza la fijación de nitrógeno debido a que no tiene la capacidad de formar heterocistos, pero que se encuentra allí debido a que encontró condiciones para poder proliferar como es el agua y nutrientes; forman poco mucílago y una capa delgada que las protegen para que se puedan desplazar.

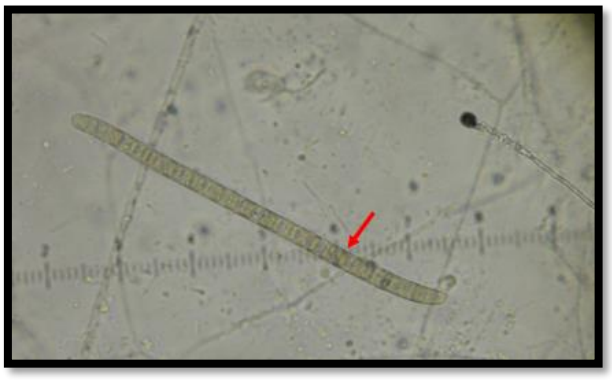


Figura 9. Presencia de filamento de Oscillatoria sp.(microscopio Nikon 1000x)

3.3. Determinación de la concentración de nitrógeno en diferentes órganos de la planta (hojas, tallos, raíces)

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la primera colecta de los órganos vegetativos, se observa que la hoja tiene valores mínimos (0.1092 %) de concentración de nitrógeno fijado y la raíz tiene el mayor valor de nitrógeno fijado con un (0.32 %)

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

Tabla 3. Porcentaje de nitrógeno en hoja, tallo y raíz de la colecta 1

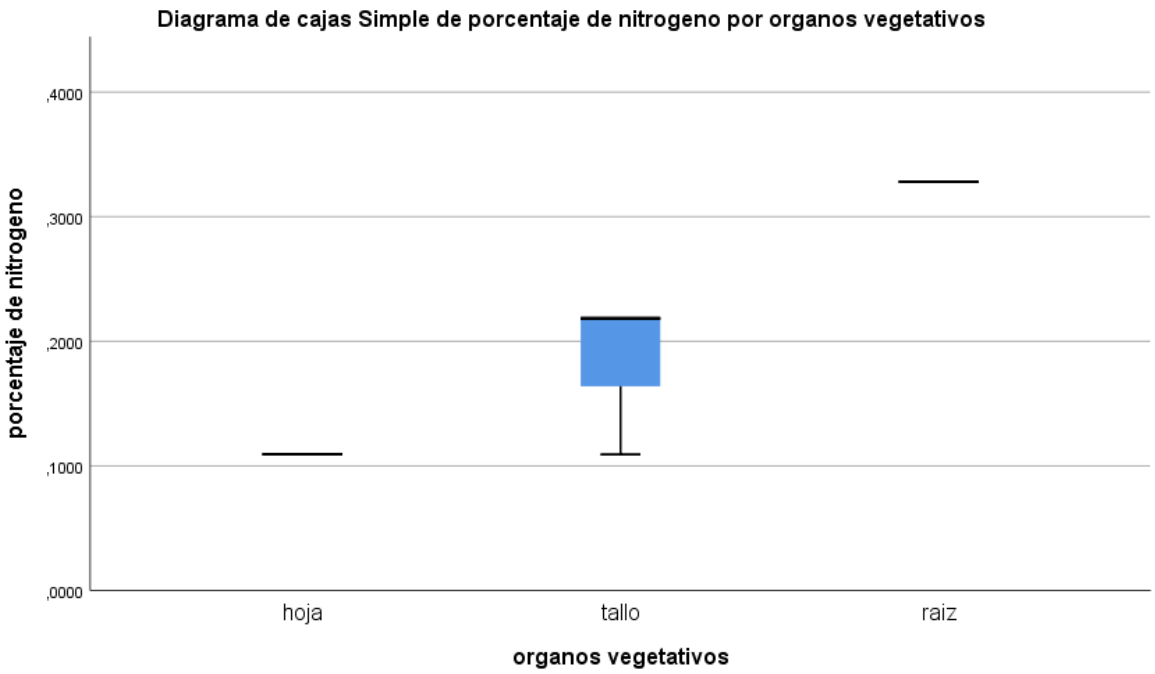
Órganos vegetativos	[N_2%] Tres repeticiones	Desviación Estándar
Hoja	0.109424	0.0001
	0.109243	
	0.109351	
Tallo	0.218414	0.063
	0.109243	
	0.218486	
Raíz	0.328055	0.0001
	0.328164	
	0.327947	

En la figura 10 podemos observar que los datos de la concentración de nitrógeno se aproximan para el caso de las hojas como las raíces, sin embargo, para el caso del tallo se puede acatar que hay una diferencia de la distribución de los datos, en la variación de concentración de nitrógeno que fijan. Esto indica un mayor error estándar, es decir, una mayor variabilidad en los datos de las repeticiones al calcular el porcentaje de nitrógeno en las muestras obtenidas durante la primera colecta. Específicamente, esta variabilidad es evidente en el caso del tallo, donde los datos muestran discrepancias entre sí. Esta discrepancia podría atribuirse a factores externos durante la realización de los ensayos, llevados a cabo en el laboratorio que colaboró en la determinación de los porcentajes de nitrógeno. Lo habitual sería que todos los datos convergieran, como ocurrió con las demás muestras tanto en la primera como en la segunda colecta.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Figura 10. Diagrama de Cajas de la colecta 1



En la Tabla 4 se muestran los resultados de la segunda colecta de los órganos vegetativos, se observa que el tallo tiene valores mínimos (1.21 %) de concentración de nitrógeno fijado y la raíz tiene el mayor valor de nitrógeno fijado con un (1.72 %).

Tabla 4. Porcentaje de nitrógeno en tallo y raíz de la colecta 2

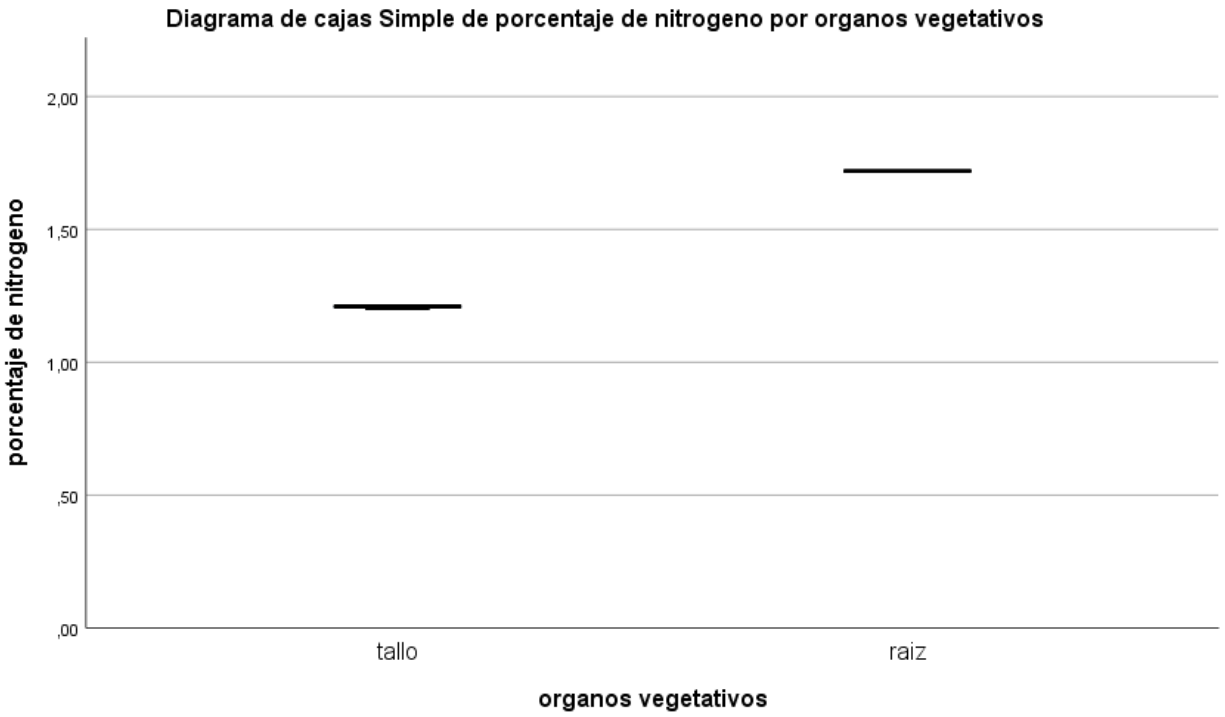
Órganos vegetativos	[N_2%]
Tallo	1.21 0.006 DE
Raíz	1.72 0 DE

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

En la figura 11 podemos observar que los datos de la concentración de nitrógeno se aproximan para el caso de los tallos como de las raíces, sin embargo, para la raíz el porcentaje de nitrógeno fijado es superior.

Figura 11. Diagrama de Cajas de la colecta 2



3.4. Comparar la concentración de nitrógeno en *G. margaretae* y una leguminosa

En la Tabla 5 se muestran los resultados de concentraciones de nitrógeno fijada para el caso de plantas leguminosas como es la alfalfa, el trébol alejandrino y el frijol común, considerando toda planta o parte de ella; destacando

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

el mayor porcentaje de fijación en la alfalfa y el menos en el trébol alejandrino. Para el caso de *G. margaretae* la presente investigación se obtuvo como mayor porcentaje en las raíces con un 1.72%.

Tabla 5. Porcentaje de nitrógeno plantas leguminosas

Especie	[N%]
Gunnera margaretae	1.72 (raíces)
Alfalfa *Medicago sativa* L.	1.18 - 1.26 [1]
Trébol alejandrino *Trifolium alexandrinum*	0.1 (solo en hojas) - 0.4 [2]
Frejol común *Phaseolus vulgaris* L.	0.67 [3]

[1]Ernst (2004)

[2]Campillo *et al*. (2003)

[3]Kipe-Nolt *et al*. (1993)

IV. DISCUSION

Conforme los resultados obtenidos, la removilización de nitrógeno en *G. margaretae* influye en la incorporación de nitrógeno del bosque montano, teniendo en cada grupo vegetativo diferentes niveles de concentración de nitrógeno destacando los tallos y raíces.

Los resultados concuerdan con Benavent-González et al. (2019), que midió la concentración de nitrógeno de la área foliar de *G. magellanica* y obtuvo 0.12%

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

de nitrógeno a comparación de las otras plantas estudiadas *G. magellanica* fue la especia fijadora de nitrógeno más importante, por lo que destaca para el funcionamiento del ecosistema de Tierra del Fuego en Chile.

Sin embargo el estudio de Silvester et al. (1969), mostró resultados muy distintos, utilizando un método diferente, que consiste en el ensayo de reducción de acetileno para la especie de *G. arenaria,* obtuvo como resultado para las hojas un 0.4% de N, para las raíces un 0.2 % de N y para el caso de los tallos un 2.4% de N, el cual desarrollo mejor fijación de nitrógeno para el caso de las hojas y tallos y un menor resultado de fijación de nitrógeno para el caso de las raíces a comparación de los nuestros.

Por otro lado, para el objetivo específico 2, se comprobó con éxito la presencia de *Nostoc punctiforme* como endosimbionte, asimismo, la presencia de la cianobacteria *Oscillatoria* sp. Es cierto que *Gunnera* es independiente del nitrógeno debido a la endosimbiosis que realiza con diferente tipo de algas, conocidas por su alta fijación de nitrógeno. Sin embargo, esta simbiosis en particular que se da entre la planta y la cianobacterias fue investigada a lo largo de los años y se llegó a finiquitar que la cianobacteria mayormente presente y confirmada se identifica de vida libre y es *Nostoc punctiforme* (Reinke, 1872 & Hariot, 1892). Frecuentemente se descubrían diversos organismos en la parte del mucilago de la planta como hongos (*Fusarium*, *Penicillium*), bacterias y microzoos, por su exterior mas no por su parte interna (Flores, 1983; Towata, 1985) hasta el punto donde se encontró de forma intracelular de *Gunnera* la presencia del género *Nostoc* (Jonsson, 1894). Se afirmó con el tiempo mediante diversos estudios que todas las plantas del género *Gunnera* cuentan con *Nostoc* formando un sistema (Silvester, 1976).

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

En la endosimbiosis que realiza *Gunnera*, las cianobacterias tienen la posibilidad de cambiar de un metabolismo fotoautótrofo a uno heterótrofo, de carbono orgánico proporcionado por el hospedero a las cianobacterias para que así pueda sostener la fijación de nitrógeno, las cianobacterias pueden llegar a liberar hasta un 90% de su nitrógeno fijado como amoniaco hacia la planta (Warshan 2017, Khamar 2010), cualquier forma presente de azúcares en la planta es consumible para el apoyo de la fijación de nitrógeno y la síntesis de aminoácidos.

Las cianobacterias que forman simbiosis con plantas requieren la diferenciación de los filamentos vegetativos en una etapa móvil transitoria, como es la formación de hormogonios con el fin de colonizar el huésped (Warshan et al. 2018). Esta endosimbiosis surgió con la aparición de algas a plantas terrestres desde millones de años atrás, donde hubo presencia de *Nostoc* en la comunidad microbiana (Knack et al. 2015).

En otros términos a partir de los resultados encontrado en el objetivo específico 4, al comparar la especie estudiada con leguminosas, precisamente para la alfalfa, el trébol y el frijol común los resultados indican que *G. margaretae* es una especie altamente fijadora de nitrógeno a comparación de leguminosas que son populares por realizar endosimbiosis con bacterias y fijar cantidades altas de nitrógeno, es por ello, que la mayoría de veces son utilizadas como abono, siendo así aprovechadas por parte de la mayoría de agricultores. Según los estudios, los porcentajes de fijación de nitrógeno para la alfalfa oscilan entre 1.26% y 1.18% de Ernst (2004); para el trébol un 0.4% de Campillo *et al*. (2003) y para el frijol común un 0.67% de Kipe-Nolt *et al*. (1993). A comparación de *G.margaretae* teniendo como resultado para la planta total una fijación de nitrógeno a un 3.04%.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Esta especie silvestre de la zona de Oxapampa realiza un nivel avanzado de fijación de nitrógeno por su endosimbiosis con cianobacterias (Paredes, 2013). Los agricultores de la zona podrían considerar optar por fertilizantes producidos utilizando esta planta sin la necesidad de elegir fertilizantes con costos incrementados.

Los resultados obtenidos para el porcentaje de nitrógeno en cada órgano vegetativo de *G. margaretae* los cuales fueron en posición de comparación con los porcentajes de nitrógeno de diferentes leguminosas fueron para el caso de los tallos, raíces y hojas de ambos viajes que fueron realizados (1.21%, 1.72% y 0.11%) respectivamente. Cabe mencionar que estos porcentajes fueron para la cantidad de dos plantas en los meses de febrero y abril de 2022. Según estudios los meses y épocas estacionales de cada año influyen en la fijación de nitrógeno de las plantas que realizan endosimbiosis, en el presente estudio se tomaron en cuenta como datos de leguminosas para realizar la comparación, la alfalfa *Medicago sativa* L. considerando la planta completa, su fijación de nitrógeno por el mismo método que nosotros aplicamos (Kjeldahl) oscila entre 1.18% y 1.26% de N según Ernst (2004) y de la segunda leguminosa el trébol alejandrino *Trifolium alexandrinum* L., en la cual el porcentaje de nitrógeno en las hojas es 0.1% de N y considerando toda la planta un 0.4% de N según Campillo *et al*. (2003). Como tercera leguminosa se consideró el frijol común *Phaseolus vulgaris* L. con una fijación del 0.67% de N según Kipe-Nolt et al. (1993) para su estudio realizado.

V. CONCLUSIONES

Se confirma que la removilización de nitrógeno en *G. margaretae* influye en la incorporación de nitrógeno del bosque montano, obteniendo un alto porcentaje de fijación de nitrógeno al ser comparada con plantas de su mismo género, así

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

como también con leguminosas, confirmando los datos bibliográficos más recientes y encontrando diferencias con datos más antiguos.

Por otro lado, se comprobó la presencia de *Nostoc punctiforme* como endosimbionte; 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 biósfera 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.

Asimismo, se encontraron diferencias porcentuales tanto en los datos con mayor porcentaje de nitrógeno en los tres grupos de órganos vegetativos, así como una diferencia porcentual correlacionando estos grupos, resultando ser el órgano vegetativo de las raíces con el porcentaje de mayor fijación de nitrógeno y en segundo lugar los tallos.

Por último, se comparó la concentración de nitrógeno con leguminosas, concluyendo que *Gunnera margaretae* supera en cantidades de nitrógeno fijado con gran diferencia a los tres casos de leguminosas tomados. 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 el cual regresará como nutriente en el suelo y, por ende, será parte del ecosistema.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

En los últimos años, los bosques montanos del valle de Oxapampa han experimentado un cambio significativo debido a la expansión de la agricultura, principalmente enfocada en el cultivo de granadilla, piña y rocoto. Este proceso ha resultado en la degradación del suelo agrícola que forma parte integral de este ecosistema forestal. No obstante, al considerar la capacidad de *G. margaretae* para fijar nitrógeno, se vislumbra una oportunidad prometedora para convertir esta planta en un fertilizante natural altamente eficaz, lo que podría tener un impacto positivo en la economía local.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Arenas, F; García, A; Armenteros, E. 2019. Guía de Cubiertas Vegetales en Cítricos. (En línea). Sevilla, España. Consejería de Agricultura y Pesca. Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consultado 10 jul. 2021. Disponible en file:///D:/Users/Toshiba/Downloads/cubiertas_c%C3%Adtricos_ifapa.pdf.

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.

Bejarano, P. A. D., & Ibarra, F. D. M. M. (2018). Impacto de la variabilidad climática y de los sistemas agrarios en el cultivo de granadilla (*Passiflora ligularis* Juss) de Oxapampa, Pasco, Perú. Biotempo, 15(1), 41-48.

Benavent-González, A., Raggio, J., Villagra, J., Blanquer, J. M., Pintado, A., Rozzi, R.,& Sancho, L. G. (2019). High nitrogen contribution by *Gunnera magellanica* and nitrogen transfer by mycorrhizas drive an extraordinarily fast primary succession in sub-Antarctic Chile. New Phytologist, 223(2), 661-674.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Benson, J., & Margulis, L. (2002). The Gunnera manicata: Nostoc Symbiosis: Is the Red Stipulate Tissue Symbiogenetic? Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy, 102B(1), 45–48. http://www.jstor.org/stable/20500141

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

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

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.

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.

Bussmann, Rainer W.. (2005). Bosques andinos del sur de Ecuador, clasificación, regeneración y uso. Revista Peruana de Biología, 12(2), 203-216. Recuperado en 11 de junio de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332005000200006&lng=es&tlng=es.

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

Campillo R., Ricardo, Urquiaga C., Segundo, Pino N., Inés, & Montenegro B., Adolfo. (2003). Estimation of biological nitrogen fixation in forage legumes

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

using a 15N labeling methodology. Agricultura Técnica, 63(2), 169-179. https://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072003000200006

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.

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.

Chimdi, A., Gebrekidan, H., Tadesse, A.M., & Kibret, K. (2013). Phosphorus Desorption Patterns of Soils from Different Land Use Systems of East Wollega, Ethiopia.

Christenhusz, M. J., & Byng, J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa, 261(3), 201-217.

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.

Danso, S. K. A., Hardarson, G., & Zapata, F. (1993). Misconceptions and practical problems in the use of 15 N soil enrichment techniques for estimating N 2 fixation. Enhancement of Biological Nitrogen Fixation of Common Bean in Latin America: Results from an FAO/IAEA Co-ordinated Research Programme, 1986–1991, 25-52.

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

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

fertilizantes para una agricultura sustenta-ble en Venezuela. Agronomía Tropical. 56(3): 289-323.

Drewes, K. (1928). Uber die assimilation des luftstickstoffs durch blaualgen. Zentralblatt fiir Bacteriologie 76, 88-101.

Ernst, O. (2004). Leguminosas como cultivo de cobertura. Informaciones agronómicas del cono sur, 21, 16-21.

FAO 2010. Global Forest Resources Assessment 2010. FAO. Rome, Italy. Disponible en: http://www.fao.org/forestry/fra/fra2010/en/

Farfan-Rios, William, Garcia-Cabrera, Karina, Salinas, Norma, Raurau-Quisiyupanqui, Mireya N., & Silman, Miles R.. (2015). Lista anotada de árboles y afines en los bosques montanos del sureste peruano: la importancia de seguir recolectando. Revista Peruana de Biología, 22(2), 145-174. Recuperado en 13 de junio de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332015000200004&lng=es&tlng=es.

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

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). Global forest resources assessment 2020: Main report. Food & Agriculture Organization of the UN.

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.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

García-Beltrán, J. A., Toledo, S., Lemus-Barrios, H., Rodríguez-Meno, A., Morales, B. M., Correa, A. C., ... & Garrido, M. M. (2021). Claves para la identificación de familias por grupos morfológicos seleccionados de la flora de Cuba. Revista del Jardín Botánico Nacional, 42, 195-201.

Gay, L. (1996). Educational Research Neu Jersey. Estados Unidos

Hamilton, L. S. (1995). Mountain cloud forest conservation and research: a synopsis. Mountain Research and Development, 259-266.

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

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

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 Nutri-tion. 54: 33-45

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.

HAZEL P. WILKINSON, A revision of the anatomy of Gunneraceae, Botanical Journal of the Linnean Society, Volume 134, Issue 1-2, September 2000, Pages 233–266, https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2000.tb02353.x

Howat, W. J., & Wilson, B. A. (2014). Tissue fixation and the effect of molecular fixatives on downstream staining procedures. Methods, 70(1), 12-19.

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

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

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.

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

Khamar, H. J., Breathwaite, E. K., Prasse, C. E., Fraley, E. R., Secor, C. R., Chibane, F. L., ... & Chiu, W. L. (2010). Multiple roles of soluble sugars in the establishment of Gunnera-Nostoc endosymbiosis. Plant Physiology, 154(3), 1381-1389.

Kipe-Nolt, J. A., Vargas, H., & Giller, K. E. (1993). Nitrogen fixation in breeding lines of Phaseolus vulgaris L. Enhancement of biological nitrogen fixation of common bean in Latin America: Results from an FAO/IAEA co-ordinated research programme, 1986–1991, 103-106.

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

Knack, J. J., Wilcox, L. W., Delaux, P. M., Ané, J. M., Piotrowski, M. J., Cook, M. E., ... & Graham, L. E. (2015). Microbiomes of streptophyte algae and bryophytes suggest that a functional suite of microbiota fostered plant colonization of land. International Journal of Plant Sciences, 176(5), 405-420.

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

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-01622016000200007&lng=es&tlng=pt.

Lissarrague, J. R. (2006). Morfología de la vid (Vitis vinífera L.): Grupo de investigación en Viticultura.

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

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

Mayz-Figueroa, J. (2004). Fijación biológica de nitrógeno. Revista Científica UDO Agrícola, 4(1), 1-20.

Ministerio del Ambiente 2023. CAMBIO DE USO DE TIERRA. Perdida de la cobertura vegetal registrada en ecosistemas terrestres periodo comprendido del 01.01.2004 al 03.12.2019. Consultado en línea el 14 de noviembre https://geoservidor.minam.gob.pe/consulta-uso-y-cambios/

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

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, Bogo

Mora-Osejo, L. E., Pabon-Mora, N., & Gonzalez, F. (2011). Flora neotropica

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

Municipalidad Provincial De Oxapampa (2010): “Plan de Desarrollo Concertado de la Provincia de Oxapampa 2009 – 2021”. Disponible en:

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

https://www.peru.gob.pe/docs/PLANES/12163/PLAN_12163_Plan%20Desarrollo%20Concertado%20de%20la%20Provincia%20de%20Oxapampa%20-Parte%201_2013.pdf. (Último acceso: 27 de agosto de 2023).

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

Osborne, B. A. (1989). Comparison of photosynthesis and productivity of Gunnera tinctoria Molina (Mirbel) with and without the phycobiont Nostoc punctiforme L. Plant, Cell & Environment, 12(9), 941-946.

Osborne, B., Doris, F., Cullen, A., McDonald, R., Campbell, G., & Steer, M. (1991). Gunnera tinctoria: an unusual nitrogen-fixing invader. BioScience, 41(4), 224-234.

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

Pinto, E., Pérez, Á. J., Ulloa, C. U., & Cuesta, F. (2018). Árboles representativos de los bosques montanos del noroccidente de Pichincha, Ecuador. Consorcio para el Desarrollo Sostenible de la Ecorregión Andina--CONDESAN.

Quiroga, S. E., & Cryan, G. (2010). Análisis cuantitativo y cualitativo de sucesos de vida traumáticos en adolescentes violentos. In II Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología XVII Jornadas de Investigación Sexto Encuentro de Investigadores en Psicología del MERCOSUR. Facultad de Psicología-Universidad de Buenos Aires.

Quiroz Ponce, F. H. (2016). Composición florística y su relación con las propiedades edáficas del suelo del bosque húmedo tropical de la comuna Playa

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

de Oro. Provincia de Esmeraldas. Año 2016 (Master's thesis, Quevedo: UTEQ).

Rai, A. N. (1990). Cyanobacteria in symbiosis. 1–7In CRC handbook of symbiotic cyanobacteria CRC Press. Boca Raton, Fla.cyanobiont and the cultured (free-living) isolate Nostoc 7801. Microbiology, 135(2), 385-395.

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

Ramos, Á. M. O. (2023). Efecto del manejo de plantaciones de tres especies exóticas en la recuperación del suelo forestal en Oxapampa-Perú. Revista Forestal del Perú, 38(1), 81-96.

Reinke, J. (1872). Uber gonidienartige bildungen in einer dicotyledonischen pfianze. Botanischer Zeitung 30, 59.

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.

Salazar Moya, A. M. (2016). Implementación del Método Kjeldahl para la determinación de proteína para diferentes matrices en el Laboratorio ECUA-CHEMLAB Cía. Ltda (Bachelor's thesis, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica).

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

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Silvester, W. B., & Smith, D. R. (1969). Nitrogen fixation by Gunnera–Nostoc symbiosis. Nature, 224(5225), 1231-1231.

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

Tosi Jr, J. A. (1980). Zonas de vida natural en el Perú: memoria explicativa sobre el mapa ecológico del Perú.

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

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.

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

Ulloa Ulloa, C., Acevedo-Rodríguez, P., Beck, S., Belgrano, M. J., Bernal, R., Berry, P. E., ... & Jørgensen, P. M. (2017). An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. Science, 358(6370), 1614-1617.

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

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

Wanntorp, L., Wanntorp, H. E., Oxelman, B., & Källersjö, M. (2001). Phylogeny of Gunnera. Plant systematics and evolution, 226, 85-107.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Warshan, D., Espinoza, J. L., Stuart, R. K., Richter, R. A., Kim, S. Y., Shapiro, N., ... & Rasmussen, U. (2017). Feathermoss and epiphytic Nostoc cooperate differently: expanding the spectrum of plant–cyanobacteria symbiosis. The ISME journal, 11(12), 2821-2833.

Warshan, D., Liaimer, A., Pederson, E., Kim, S. Y., Shapiro, N., Woyke, T., ... & Rasmussen, U. (2018). Genomic changes associated with the evolutionary transitions of Nostoc to a plant symbiont. Molecular biology and evolution, 35(5), 1160-1175.

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

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 >

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), 1377.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

VII. FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Ubicación de la sona de muestre 15

Figura 2. Mucílago de G. margaretae en la base del peciolo y el tallo 18

Figura 3. Parte interna de G. margaretae. Los rectángulos resaltan la presencia de colonias de cianobacterias 19

Figura 4. Corte de partes vegetativas de G. margaretae 19

Figura 5. olocación de rodajas de G. margaretae a estufa 20

Figura 6. Trituración, molienda y paso de malla MESH de la muestra. 21

Tabla 1. Molaridad para considerar del primer análisis 22

Tabla 2. Molaridad para considerar del segundo análisis 25

Figura 7. Distintos estadios de Nostoc punctiforme a) primordio envuelto de mucilago b) formación de hormogonio (microscopio Nikon 1000x) 27

Figura 8. Formación de colonias dentro de la estructura de G. margaretae a) observación a 40x b) observación a 60x a través de un corte transversal del peciolo. Las flechas indican las colonias de cianobacterias 28

Figura 9. Presencia de filamento de Oscillatoria sp.(microscopio Nikon 1000x) 29

Tabla 3. Porcentaje de nitrógeno en hoja, tallo y raíz de la colecta 1 30

Figura 10. Diagrama de Cajas de la colecta 1 31

Tabla 4. Porcentaje de nitrógeno en tallo y raíz de la colecta 2 31

Figura 11. Diagrama de Cajas de la colecta 2 32

Tabla 5. Porcentaje de nitrógeno plantas leguminosas 33

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Resolución de aprobación del proyecto de tesis

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N° 185 -2021-DACIA-DAFCA-U. CIENTIFICA

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Lima, 27 de julio del 2021

VISTO:
El informe de revisión independiente académica y la aprobación de un Comité de Ética del proyecto de tesis titulado: **Evaluación de la removilización de nitrógeno en Gunnera sp. para posible conservación del bosque montano en el valle de Oxapampa**, presentado por:

- **Alexandra Isabella Vourtsi Cordova**

CONSIDERANDO:
Que, de acuerdo al Reglamento General de la Universidad Científica del Sur y los reglamentos de pregrado para obtener el título profesional de **Ingeniero(a) Ambiental** en la **Facultad de Ciencias Ambientales**, se debe desarrollar un trabajo de investigación.

Que, de acuerdo a 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 proyecto de tesis titulado: **Evaluación de la removilización de nitrógeno en Gunnera sp. para posible conservación del bosque montano en el valle de Oxapampa** con N° de registro: **398-2019-PRE11**, y establecer el inicio del periodo de ejecución del mencionado proyecto.

Nombrar al docente/colaborador **Gustavo Ricardo Dreyfus Raymond** como asesor(a) para el desarrollo de la tesis en cuestión.

Regístrese, comuníquese y archívese,

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

T // (511) 610 6738
informes@cientifica.edu.pe
cientifica.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 2. Informe de ensayos LASAQ N°02 -2022 -DQ. Porcentaje de Nitrógeno (Método kjeldahl)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA
LABORATORIO DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO (LASAQ)

INFORME DE ENSAYOS
LASAQ N°02-2022-DQ

SOLICITANTE	:	*Alexandra Isabella Vourtsi Cordova*
PRODUCTO DECLARADO	:	*Gunnera Margaretae*
NÚMERO DE MUESTRAS	:	*09*
CANTIDAD RECIBIDA	:	*50 g hojas, 50g tallo, 50g raíz.*
MARCA	:	*sin marca*
FORMA DE PRESENTACIÓN	:	*En bolsa de plástico*
MUESTREADO POR	:	*Muestra proporcionada por el solicitante.*
FECHA DE RECEPCIÓN	:	*11 de febrero del 2021*
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADO	:	*06 de marzo del 2021*
ENSAYOS SOLICITADOS	:	*QUÍMICO*

1. Porcentaje de Nitrógeno

MUESTRA	*% NITROGENO*
HOJAS	*0.1093*
TALLO	*0.1819*
RAIZ	*0.3278*

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:

Standard Methods 20 th Edition, 4500 C.

Atentamente:

Mg.Sc. Diego Suarez Ramos
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO

Mg. Víctor A. Caro Sánchez Benites
Director Departamento Académico de Química
DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA

Departamento Académico de Química : Tlf. 6147800 Anexos (305-307)
Av. La Molina s/n La Molina Facultad de Ciencias (1er. Piso)
Email : dquimica@lamolina.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 3. Informe de ensayos LASAQ N°09 -2022 -DQ. Porcentaje de Nitrógeno

(Método kjeldahl)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA
LABORATORIO DE SERVICIOS DE ANÁLISIS QUÍMICO (LASAQ)

INFORME DE ENSAYOS
LASAQ N°09-2022-DQ

SOLICITANTE	:	*PROYECTO : EVALUACIÓN DE LA REMOVILIZACIÓN DE NITRÓGENO EN GUNNERA SP. PARA POSIBLE CONSERVACIÓN DEL BOSQUE MONTANO EN EL VALLE DE OXAPAMPA* *Alexandra Isabella Vourtsi Cordova DNI 48422693*
PRODUCTO DECLARADO	:	*Gunnera Margaretae*
NÚMERO DE MUESTRAS	:	*02*
CANTIDAD RECIBIDA	:	*100 g Tallo 100 g Raíz*
MARCA	:	*sin marca*
FORMA DE PRESENTACIÓN	:	*En botella de vidrio*
MUESTREADO POR	:	*Muestra proporcionada por el solicitante.*
FECHA DE RECEPCIÓN	:	*11 de mayo del 2022*
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADO:		*20 de mayo del 2022*
ENSAYOS SOLICITADOS	:	*QUÍMICO*

1. Porcentaje de Nitrógeno

MUESTRA	***% NITROGENO***
Pulverizado de Tallo -Gunnera (23/04/22)	*1.21*
Pulverizado de Raíz - Gunnera (21/04/22)	*1.72*

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:

AOAC International official Methods of Analysis 19 th Edition 2012.920.87

Atentamente:

Mg.Sc. Diego Suarez Ramos
JEFE DEL LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO

Mg. Víctor A. Caro Sánchez Benites
Director Departamento
Académico de Química
DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE QUÍMICA

Departamento Académico de Química : Tlf. 6147800 Anexos (305-307)
Av. La Molina s/n La Molina Facultad de Ciencias (1er. Piso)
Email : dquimica@lamolina.edu.pe

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 4. Panel fotográfico de Toma de muestra en viaje a Oxapampa.



Identificación de Gunnera sp.



Crecimiento abundante alrededor de riachuelos.



Toma de muestra (extracción de planta).



Separación de hojas, tallos y raíces.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Extracción de tronco y raíces de *G. margaretae*

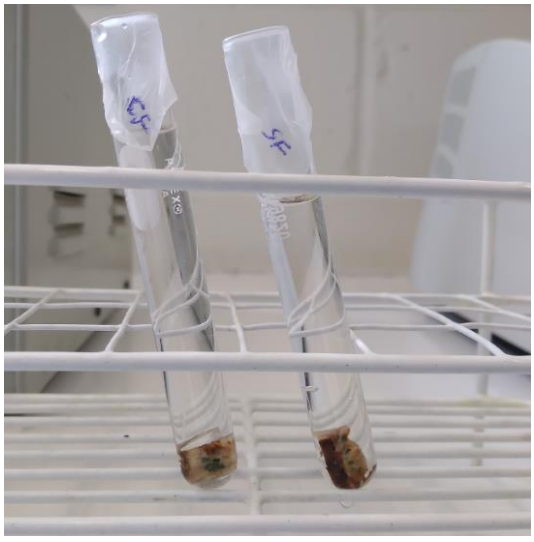


Identificación visual de *G.margaretae*. (Lugar no accesible, riesgoso).

Anexo 5. Panel fotográfico de Identificación de Cianobacterias en el laboratorio de ciencias ambientales la Universidad Científica del Sur.



Colonias de Cianobacterias a simple vista en los nódulos del tallo de *G. margaretae*.



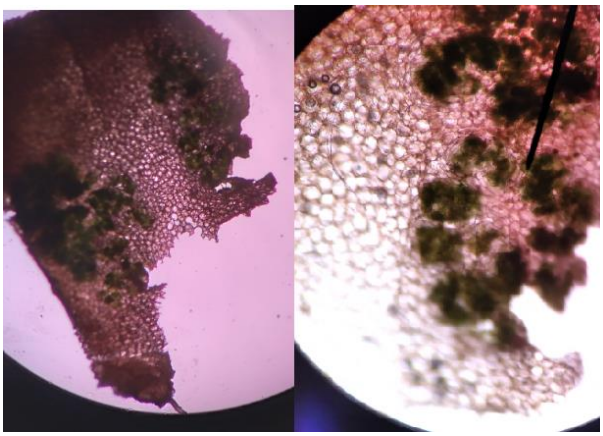
Conservación de cortes (son formol y sin formol) para observación en el microscopio.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Preparación de cortes transversales (son formol y sin formol) para observación en el microscopio.



Observación de colonias de Nostoc en el microscopio a un aumento 10 x, 40 x.



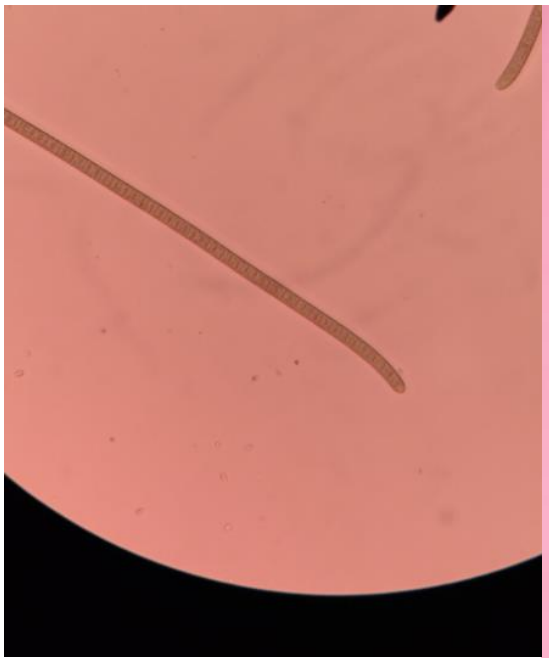
Identificación de mucilago en *Gunnera Margaretae*.



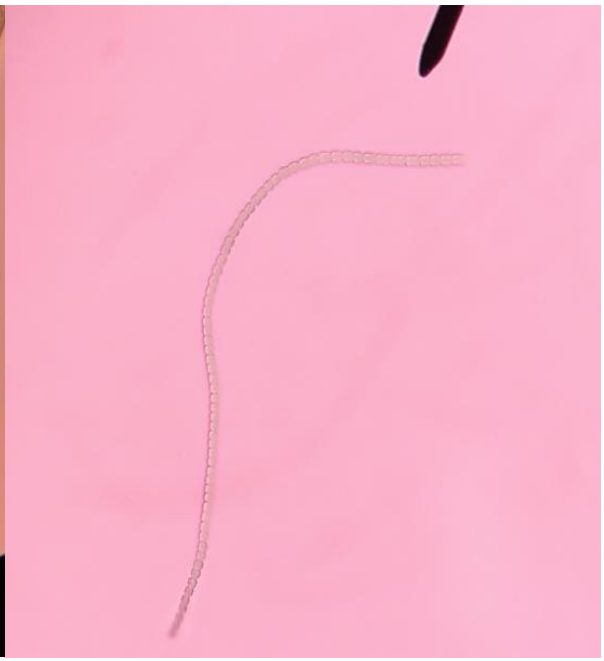
Extracción de mucilago para ser observado en el microscopio.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Identificación de filamento de *Oscillatoria* sp.



Identificación de *Nostoc punctiforme* formando hormogonio.

Anexo 6. Panel fotográfico de Preparación de la muestra en el laboratorio de ciencias ambientales la Universidad Científica del Sur.



Parte de tallos y raíces antes de pasar por desinfección.



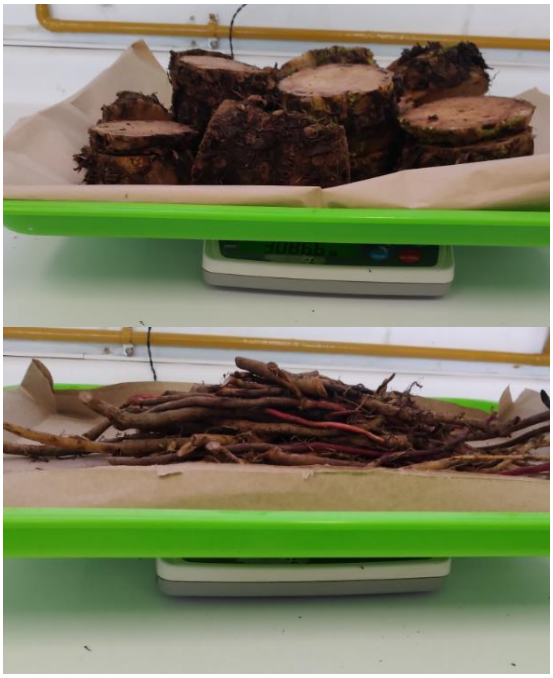
Retiro de tierra y limpieza.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Separación de *G. margaretae*.



Medición de todas las partes vegetativas.



Deshidratación de partes vegetativas en la estufa a 40°C.



Molienda de partes vegetativas.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Pase de pulverizado por tamiz.



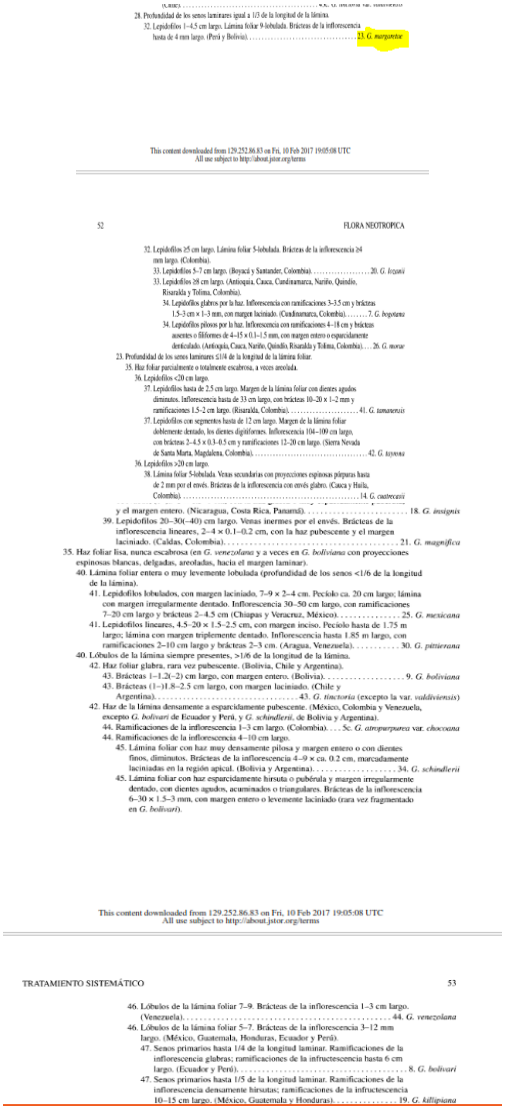
Almacenamiento de pulverizado acorde a órgano vegetativo para posterior análisis en la UNALM.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR



Clave para las especies de *Gunnera* subgenero *Panke*

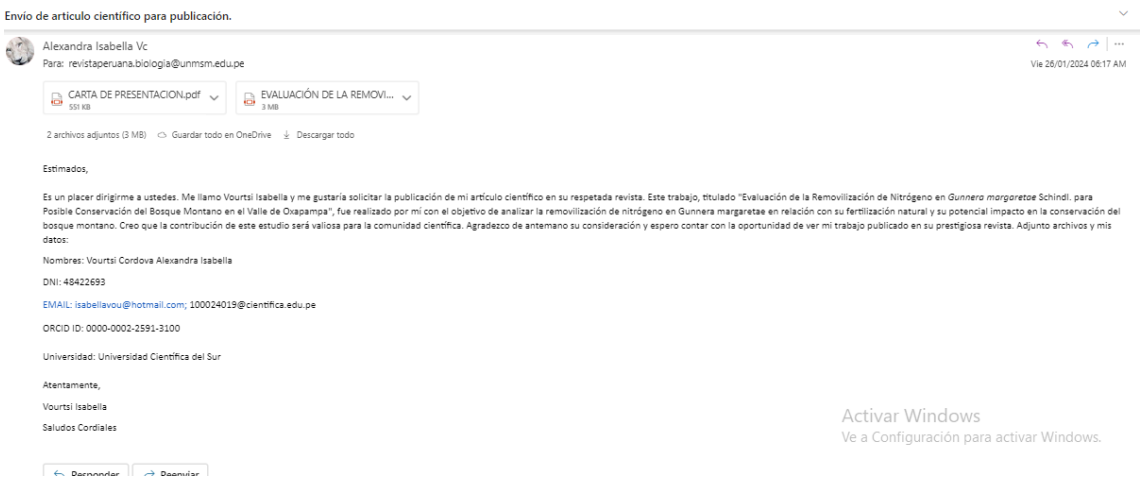


Referencia: Mora-Osejo, L. E., Pabón-Mora, N., & González, F. (2011). Gunneraceae. Flora Neotropica, iii-166.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Anexo 7. Evidencia de envío al correo de la revista Peruana de biología.



Envío de artículo científico para publicación.

Alexandra Isabella Vc
Para: revistaperuana.biologia@unmsm.edu.pe
Vie 26/01/2024 06:17 AM

CARTA DE PRESENTACION.pdf 551 KB
EVALUACIÓN DE LA REMOVI... 3 MB

2 archivos adjuntos (3 MB) Guardar todo en OneDrive Descargar todo

Estimados,

Es un placer dirigirme a ustedes. Me llamo Vourtsi Isabella y me gustaría solicitar la publicación de mi artículo científico en su respetada revista. Este trabajo, titulado "Evaluación de la Removilización de Nitrógeno en *Gunnera margaretae* Schindl. para Posible Conservación del Bosque Montano en el Valle de Oxapampa", fue realizado por mí con el objetivo de analizar la removilización de nitrógeno en Gunnera margaretae en relación con su fertilización natural y su potencial impacto en la conservación del bosque montano. Creo que la contribución de este estudio será valiosa para la comunidad científica. Agradezco de antemano su consideración y espero contar con la oportunidad de ver mi trabajo publicado en su prestigiosa revista. Adjunto archivos y mis datos:

Nombres: Vourtsi Cordova Alexandra Isabella

DNI: 48422693

EMAIL: Isabellavou@hotmail.com; 100024019@cientifica.edu.pe

ORCID ID: 0000-0002-2591-3100

Universidad: Universidad Científica del Sur

Atentamente,

Vourtsi Isabella

Saludos Cordiales

Activar Windows
Ve a Configuración para activar Windows.

Responder Reenviar

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

RESOLUCIÓN DIRECTORAL ACADÉMICA DE CARRERA N° 185 -2021-DACIA-DAFCA-U. CIENTIFICA

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Lima, 27 de julio del 2021

VISTO:
El informe de revisión independiente académica y la aprobación de un Comité de Ética del proyecto de tesis titulado: **Evaluación de la removilización de nitrógeno en Gunnera sp. para posible conservación del bosque montano en el valle de Oxapampa**, presentado por:

- **Alexandra Isabella Vourtsi Cordova**

CONSIDERANDO:
Que, de acuerdo al Reglamento General de la Universidad Científica del Sur y los reglamentos de pregrado para obtener el título profesional de **Ingeniero(a) Ambiental** en la **Facultad de Ciencias Ambientales**, se debe desarrollar un trabajo de investigación.

Que, de acuerdo a 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 proyecto de tesis titulado: **Evaluación de la removilización de nitrógeno en Gunnera sp. para posible conservación del bosque montano en el valle de Oxapampa** con N° de registro: **398-2019-PRE11**, y establecer el inicio del periodo de ejecución del mencionado proyecto.

Nombrar al docente/colaborador **Gustavo Ricardo Dreyfus Raymond** como asesor(a) para el desarrollo de la tesis en cuestión.

Regístrese, comuníquese y archívese,

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