



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos
contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Ingeniero Ambiental

AUTORA

Zegarra Minaya Regina Enith

ASESOR

MSc. Wilber Samuel Quijano Pacheco

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

Año 2017 – II

PÁGINA DEL JURADO




Presidente

Dr. Milton Cesar, Tullume Chavesta



Secretario

MSc. Fernando Antonio, Sernaque Aucchuasi



Asesor

MSc. Wilber Samuel, Quijano Pacheco

DEDICATORIA

A mis padres Olga Regina Minaya Gamboa y Daniel Anselmo Zegarra Álvarez, por apoyarme en todo desde un inicio y por ser ejemplo y mi motivo a seguir, por siempre confiar en mí. A mi abuela Teofila Gamboa Villantoy, por su compañía desde que tengo uso de razón. Dar gracias a Dios por darme la dicha de que sigan a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por confiar en mi, y seguir apoyándome en todo. Seré lo mejor y un orgullo más para ellos.

Agradecer a la Universidad César Vallejo, por todos los conocimientos aprendidos y por brindarme las instalaciones para poder desarrollar mi proyecto como el uso del laboratorio de Biotecnología.

Al MSc. Wilber Samuel Quijano Pacheco por el apoyo en la asesoría y orientación para la elaboración de mi tesis.

A Daniel Neciosup Gonzales, por orientarme y compartir sus conocimientos para la elaboración experimental del proyecto a presentar.

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Zegarra Minaya Regina Enith con DNI N° 72903097, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería, Escuela profesional de Ingeniería Ambiental, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se muestran en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

San Juan de Lurigancho, 10 de Diciembre del 2017.



Regina Enith Zegarra Minaya
DNI 72903097

PRESENTACIÓN

Señores miembros del jurado, presento ante ustedes la Tesis titulada “**Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio – 2017**” con la finalidad de Evaluar la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb), en cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo para obtener el Título Profesional de Ingeniero Ambiental.

Esperando cumplir con los requisitos de aprobación.

Zegarra Minaya, Regina Enith

ÍNDICE

PÁGINA DEL JURADO	1
DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS	II
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	III
PRESENTACIÓN	IV
Resumen.....	X
Abstract.....	XI
I. Introducción	12
1.1. Realidad Problemática.....	13
1.2 Trabajos Previos (Antecedentes).....	14
1.1.1 Antecedentes Nacionales.....	14
1.1.2 Antecedentes Internacionales	15
1.3 Teorías Relacionada al Tema	20
1.3.1 Marco Teórico	20
1.3.2 Marco Conceptual	23
pH	23
Temperatura.....	23
Capacidad del Hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
<i>Pleurotus ostreatus</i> como biorremediador	24
Biorremediación	24
Metales Pesados.....	24
Plomo en el suelo.....	25
1.3.3 Marco Legal	25
1.4 Formulación del Problema.....	26
1.4.1 Problema General	26
1.4.2. Problemas Específicos	26
1.5 Justificación del Estudio	26
1.6 Hipótesis.....	27
1.6.1 Hipótesis General.....	27
1.6.2 Hipótesis Específicas	27
1.7 Objetivo	27
1.7.1 Objetivo General	27
1.7.2 Objetivos Específicos	27

II. Método.....	28
2.1 Diseño de investigación.....	28
2.2 Variables, Operacionalización	29
2.3 Población y Muestra	30
2.3.1 Población.....	30
2.3.2 Muestra	31
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos, validez y confiabilidad	31
2.4.1 Descripción del procedimiento	32
Desarrollo del hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i>	32
Determinación de Plomo (Pb) en el suelo	33
Muestra Pura.....	33
Muestra compuesta (relave y aserrín)	35
Procedimiento de parámetro químico del suelo	37
pH.....	37
Determinación de Plomo	37
2.4.2 Técnica de recolección de datos	38
Obtención de las muestras de Suelo.....	38
2.4.3 Instrumento de recolección de datos.....	39
2.4.4 Validez y Confiabilidad del Instrumento.....	40
2.5 Métodos de Análisis de datos.....	40
2.5.1 Recojo de Datos.....	40
Criterio de Inclusión:	40
Criterio de exclusión:	41
2.5.2 Proceso de análisis de datos.....	41
2.6 Aspectos Éticos	42
III. RESULTADOS	43
Plomo en el suelo.....	46
Plomo en hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>	48
Diámetro de Colonia.....	50
pH.....	56
Humedad.....	56
IV. DISCUSIÓN.....	57
V. CONCLUSIONES.....	59
VI. RECOMENDACIONES	60

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
Citas bibliograficas	63
VIII. ANEXOS.....	65
Anexo 1: Instrumentos - Ficha de recojo de Información de campo.....	65
Anexo 2: Validación de Instrumentos	67
Anexo 3 Matriz de Consistencia	78
Anexo 4. Muestreo Zigzag.....	79
Anexo 5. Resultado Inicial de Plomo – DELTALAB.....	81
Anexo 6. Informes de Ensayo del Laboratorio de Biotecnología - UCV	82
Anexo 7. Trigo pelado inoculado con Pleurotus Ostreatus.....	86
Anexo 8. Muestra Pura.....	86
Anexo 9. Muestra Compuesta	86
Anexo 10. Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo. D.S 002-2013- MINAM	87
Anexo 11. Porcentaje de TURNITIN	91

Índice de tablas

Tabla 1. Factores que afectan el crecimiento de <i>Pleurotus spp.</i> Fuente: Sanchez, 2001.	22
Tabla 2. Partición de muestras (MINAM, 2013, p. 24).	30

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Operacionalización de Variables	29
Cuadro 2. Muestra Pura	33
Cuadro 3. Muestra Compuesta	35
Cuadro 4. Instrumentos de recolección de datos	40
Cuadro 5. Resultados de los parámetros químicos y físicos de la muestra inicial	43
Cuadro 6. Resultados de hoja de campo. Diámetro del T1, presencia de Plomo en el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> , en diferentes periodos de tiempo 4, 8 y 12 días	43
Cuadro 7. Resultados de hoja de campo. Diámetro del T2, presencia de Plomo en el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> , en diferentes periodos de tiempo 4, 8 y 12 días	44
Cuadro 8. Resultados de hoja de campo. Diámetro del T3, presencia de Plomo en el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> , en diferentes periodos de tiempo 4, 8 y 12 días	44
Cuadro 9. Resultados de hoja de campo. Concentración de Plomo en el suelo luego de la biorremediación con <i>Pleurotus ostreatus</i> , con una temperatura y humedad estable por encontrarse un una incubadora	45
Cuadro 10. Prueba de ANOVA en el parámetro de Plomo en el suelo	46
Cuadro 11. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de Plomo en el suelo	46
Cuadro 12. Prueba de ANOVA en el parámetro de Plomo en <i>Pleurotus ostreatus</i>	48
Cuadro 13. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de Plomo en <i>Pleurotus ostreatus</i>	48
Cuadro 14. Prueba de ANOVA en el parámetro de diámetro de colonia en el día 4 - 02/10/2017	50
Cuadro 15. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 4 – 02/10/2017	50
Cuadro 16. Prueba de ANOVA en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 8 – 06/10/2017	52
Cuadro 17. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 8 – 06/10/2017	52
Cuadro 18. Prueba de ANOVA en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 12 – 11/10/2017	54
Cuadro 19. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 12 – 11/10/2017	54

Índice de gráficos

Gráfico 1. Tratamiento de Muestra Pura	34
Gráfico 2. Tratamiento de Muestra Compuesta.....	36
Gráfico 3. Concentración de Plomo en el Suelo.....	47
Gráfico 4. Concentración de Plomo en el hongo (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	49
Gráfico 5. Diámetro de Colonia del día 4 – 02/10/2017.....	51
Gráfico 6. Diámetro de Colonia del día 8 – 06/10/2017.....	53
Gráfico 7. Diámetro de Colonia del día 12 – 11/10/2017.....	55
Gráfico 8. pH	56

Índice de figuras

Figura 1. <i>Peurotus ostreatus</i> (Navarro, 2005)	24
Figura 2. Patrones de muestreo con distribución heterogénea (MINAM, 2014, p. 35).....	30
Figura 3. Partición de muestras (MINAM, 2013, p.17).....	31
Figura 4. Pasos en la producción de Inóculo	32
Figura 5. Puntos de Muestreo.....	79
Figura 6. Método de cuarteo de muestras.....	80
Figura 7. Homogenización de la muestra.....	80

Resumen

El uso de la biorremediación está cobrando interés; la presente investigación se realizó en las Instalaciones del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Cesar Vallejo - Lima Este; cuyo objetivo fue usar el *Pleurotus ostreatus* para remediar suelo contaminado con Plomo (Pb) y aserrín como suplemento, nutriente que permitió el crecimiento con mayor rapidez y eficiencia. Para el cual se planteó el trabajo bajo el diseño completo al azar con 3 tratamientos y 3 repeticiones y una placa como unidad experimental, donde se inoculó al trigo pelado con el hongo *Pleurotus ostreatus*, siendo la cantidad de semillas inoculadas 3, 6 y 9; el sustrato o suelo fue de relave minero y como suplemento aserrín, la toma de medidas del incremento del diámetro fue 4, 8 y 12 días, con la finalidad de determinar cuánto puede absorber la semilla, y evaluar qué cantidad se redujo en la concentración de plomo en el suelo, el tratamiento se mantuvo con una humedad al 33% y con una temperatura estable de 22°C en incubadora. Los resultados obtenidos de concentración de Plomo en el suelo se dieron por el tratamiento T1 (3 semillas) siendo el más efectivo con 792,00 mg/kg reduciendo así en un 29.4% de plomo en el suelo, se determinó el diámetro que alcanzó cada trigo pelado inoculado además el tratamiento T1 fue más eficiente en cada día de medición; en el día 4 con 14.48 mm, en el día 8 con 15.92 mm, en el día 12 con 17,46 mm; reduciendo la cantidad de Plomo en el suelo de 65,13 mg/kg. En conclusión la dosis más eficiente el T1 con una dosis de 3 semillas inoculadas con el hongo *Pleurotus ostreatus* en 4, 8 y 12 días de la colonización del suelo.

Palabras claves: *Pleurotus ostreatus*, biorremediación, Plomo.

Abstract

The use of bioremediation is gaining interest; the present investigation was carried out in the facilities of the Biotechnology Laboratory of the César Vallejo University - Lima East; whose objective is to use the *Pleurotus ostreatus* to remedy soil contaminated with Lead (Pb) and sawdust as a supplement, a nutrient that allows growth with greater efficiency and speed. For which the work was proposed under the complete design at random with 3 treatments and 3 replications and a plate as experimental unit, where inoculated wheat was peeled with the fungus *Pleurotus ostreatus*, with the number of seeds inoculated 3, 6 and 9; the substrate or the soil was reduced to the concentration, as far as possible, at 4, 8 and 12 days, in order to determine the percentage of reduction of the seed Water remained in the soil, the treatment was maintained with a humidity of 33% and with a stable temperature of 22 ° C in the incubator. The results of the concentration of lead in the soil were given by the T1 treatment (3 seeds) being the most effective with 792.00 mg / kg, thus reducing the soil diameter by 29.4%, it was determined that the wheat diameter peeled inoculated addition the T1 treatment was more efficient in each day of measurement; on day 4 with 14.48 mm, on day 8 with 15.92 mm, on day 12 with 17.46 mm; reducing the amount of Lead in the soil of 65.13 mg / kg. In conclusion, the most efficient dose is T1 with a dose of 3 seeds inoculated with the fungus *Pleurotus ostreatus* in 4, 8 and 12 days of soil colonization.

Keywords: *Pleurotus ostreatus*, bioremediation, Lead.

I. Introducción

Biorremediar el suelo contaminado con Plomo, se puede definir como recuperar aquel espacio que se encuentra afectado o contaminado por metales que alteran el estado natural del suelo, generando que este suelo no sea considerado fértil, en esta oportunidad el uso de *Pleurotus ostreatus* hongo, permite mejorar la calidad del suelo absorbiendo metal, a este tipo de biorremediación se conoce como micorremediación. Con este, se quiere llegar a comprobar cuan efectivo e indicar la capacidad que tiene el hongo *Pleurotus ostreatus*, para poder remover el plomo que se encuentra en el suelo.

Para analizar esta problemática es necesario mencionar sus causas. Entre ellas tenemos el ingreso económico que se genera con la minería como sector económico extractivo genera muchos problemas de contaminación ambiental con la extracción de minerales, muchas veces no considera el impacto generado por los pasivos y permite el lavado del suelo, convirtiendo a estos suelos infértiles, dañando, alterando y perdiendo todo un ecosistema. Nuestro suelo son de suma importancia nos brinda el sustrato que nos proporciona nutrientes y sustenta la vida del planeta. La problemática se identificó por el interés, de mejorar la calidad del nuestro suelo y más aún si este se encuentra dañado o alterado por alguna sustancia química, la remediación que se propone podría generar un adecuado uso del suelo y demostrar que este puede ser recuperado.

Profundizar el conocimiento de la mejora del suelo nace por interés académico, para mejorar el espacio donde habitamos. En el ámbito profesional, como ingeniera ambiental el interés de brindar mejoras y soluciones a los impactos que se generan con la contaminación. En cuanto a la teoría sociológica, la investigación se realizó con una serie de recolección de muestras de relave minero del área contaminada se determinó la cantidad inicial de Plomo (Pb). Se tomaron los datos de acuerdo a la hoja de campo, datos que permitirán tener un resultado positivo, de la eficiencia del tratamiento, siendo esta investigación tipo cuasiexperimental.

1.1. Realidad Problemática

El suelo, se considera la capa más superficial en cuanto a la corteza terrestre, por ser uno de los recursos naturales de suma importancia al ser el sustrato que sustenta la vida del planeta. De este modo el suelo proporciona nutrientes, agua y soporte físico lo necesario para que surja un crecimiento vegetal y producción de biomasa. (Ortiz, *et al.* 2007. p. 6) El ambiente que se pretende biorremediar se encuentra contaminado por diversos metales, ya que, es una montaña de relave y del cual se identificó el Plomo (Pb), el lugar de donde se extrajo la muestra se encuentra en Corcona se localiza en el distrito de Santa Cruz De Cocachacra, perteneciente a la provincia de Huarochirí del departamento de Lima, en la cual se extrajo una porción de muestra para ser biorremediada haciendo el uso del hongo *Pleurotus ostreatus*, de manera *ex situ*. (Ortiz, *et al.* 2007. p.10) afirma que; la contaminación del suelo por metales pesados, ocasiona la pérdida parcial o total de la productividad del suelo, acumulando elementos tóxicos en concentraciones que puedan superar la posibilidad de debilitar la fuerza natural del suelo.

Schmidt (2000, p.1), menciona que; si no se realiza un manejo adecuado de las sustancias y residuos peligrosos que generan en todo el mundo, esto genera una preocupación del daño ambiental afectando los suelos y los cuerpos de agua. Los contaminantes que más predominan son los que se produjeron y en la actualidad todavía se producen.

Los metales pesados son propensos a bioacumularse, dicha bioacumulación indica el incremento de la concentración de este, en el organismo biológico en un establecido plazo; por lo que al someter al hongo inoculado en el trigo, permitió determinar si este absorbe Pb y con ello recomendar su uso.

1.2 Trabajos Previos (Antecedentes)

1.1.1 Antecedentes Nacionales

Sifuentes, E. (2014) en su tesis “*Producción de inóculo de Pleurotus ostreatus para uso en biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo*” fue sustentada en Universidad Nacional Agraria La Molina – Facultad de Ciencias en Perú planteo como objetivo, producir inóculo de *Pleurotus ostreatus* y cuantificar su crecimiento para un posible uso en biorremediación de suelos. El tipo de diseño que utilizo en la investigación es experimental, usando una metodología de tipo descriptiva, para evaluar la velocidad de colonización en suelo franco ácido que fue secado, desagregado y tamizado; con una humedad de 33% fue contaminado con petróleo a una concentración de 10 000ppm; se inocularon 3 granos de inóculo secundario, siendo los granos colocados en el triángulo y se incubaron durante 12 días a 22°C y se vino midiendo el crecimiento radial del micelio en cm/semana. Se obtuvo como resultado el crecimiento sin suplementos fue de 2.20 cm y con aserrín 2.17 cm. Se llegó a la conclusión de que se visualizó diferencias relevantes en el diámetro de colonización, tanto con el inóculo de trigo como el de cebada; sin embargo, no se pudo determinar que tratamiento fue el mejor. Esta tesis se relaciona con la investigación en curso, ya que el suplemento que se utiliza como el aserrín enriquece el crecimiento de la semilla inoculada por *Pleurotus ostreatus*, el motivo es porque el hongo crece en corteza y para suplementarlo se considera el aserrín para esta investigación.

1.1.2 Antecedentes Internacionales

Coello, J. (2011) en su tesis “*Aplicación del hongo Pleurotus ostreatus como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados*” la cual fue sustentada en la Escuela Superior Politécnica del Litoral – Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales en Ecuador planteó como objetivo, verificar la capacidad como biorremediador del hongo *Pleurotus Ostreatus* en suelos afectados por diferentes metales pesados. El tipo de diseño que se utilizó en la investigación es experimental, utilizando una metodología de tipo descriptiva; para el tratamiento se usaron, 12 tubos de ensayo en los cuales se le agregó cerca de 1 g de la muestra. La cantidad para el tratamiento fue elegida por el tesista. Para el tratamiento dos se marcaron cuando se realizó la iniciación, dos a los quince días y los dos que sobraban a los treinta días. A los tubos de elección para el tratamiento se les agregó el inóculo 5 ufc/ml del hongo *Pleurotus*, que complete a 1 cm de diámetro cerca del espacio de los platos Petri con micelio adquirido del medio SDA (Saboraud Dextrose Agar) tanto el tratamiento como el control estuvieron incubados a temperatura de acuerdo al ambiente. A los quince y treinta días consiguientes se ejecutó la lectura de metales pesados de los tubos inoculados para comprobar la eficacia de remoción de metales pesados que se encuentran presentes en el suelo, al mismo tiempo al grupo control. Se obtuvo como resultado en la evaluación, la efectividad del hongo para poder remover los diferentes metales pesados que existían en la muestra, para lo cual el que tuvo mayor efectividad fue en la remoción del Co, Cd y menor para el Pb, Cu. Se llegó a la conclusión que al realizar este proyecto se observa y se demuestra el rendimiento de la biorremediación como método de limpieza de suelos contaminados por metales pesados y se demuestra una elección viable con el hongo *Pleurotus Ostreatus*. Esta tesis se relaciona con la investigación en curso, ya que la biorremediación empleando el uso del *Pleurotus ostreatus* es una tecnología muy prometedora se enfoca en la habilidad del hongo para degradar compuestos persistentes tienen ventaja ante las bacterias porque

sus hifas pueden penetrar el suelo que se encuentra contaminado y estas producen enzimas extracelulares que degradan los contaminantes.

Chuquín, C. (2012) en su tesis “*Estudio de la viabilidad de crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus* aplicado en inóculo líquido para uso en biorremediación*” la cual fue sustentada en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – Facultad de Ciencias en Ecuador, se planteó como objetivo, biorremediar el suelo contaminado con los inóculos líquidos de *Pleurotus ostreatus*. El tipo de diseño que se utilizó en la investigación es experimental, utilizando una metodología de tipo descriptiva. Los resultados alcanzados que se obtuvieron fueron, que en los valores de cadmio sufren un ligero incremento sin estar fuera de los límites permisibles, estos valores aumentaron por la falta de homogeneidad del suelo al momento de realizar el muestreo y porque los suelos presentan crudo intemperizado en forma de grumos. En los valores de Níquel y Plomo en todas las unidades experimentales desde el inicio de investigación se encuentran dentro del límite de control, pero se decidió seguirlos analizando ya que son parámetros de control que especifica la norma para su disposición final. Se llegó a la conclusión de que la utilización del hongo *Pleurotus ostreatus* no presenta alta eficacia en los procesos de biorremediación de HAP's (86.2 %) y metales pesados Cd, (67%). En los metales Ni y Pb no se midió la eficacia ya que los valores de estos parámetros se encontraron dentro de los límites permisibles. Esta tesis se relaciona con la investigación en curso, ya que propone biorremediar el suelo contaminado con los inóculos líquidos de *Pleurotus ostreatus*, para lo cual la técnica de biorremediación propuesta es la utilización del hongo *Pleurotus ostreatus* aplicado en inóculo líquido requiere que la inoculación en el suelo se realice con un mayor alcance en la superficie del mismo.

Rosales, L. (2008) quien en la tesis “*Biorremediación de suelos contaminados con aceite usado de automovil con el hongo de la pudricción blanca *Pleurotus ostreatus* (SETAS) en Durango*” el cual fue sustentado en el Instituto Politecnico Nacional - Centro Interdisciplinario de Investigación

para el desarrollo Integral Regional Unidad Durango en México, indica como objetivo describir el nivel de remediación de suelos contaminado con aceite automotriz usando, empleando el hongo de la pudrición blanca *Pleurotus ostreatus* cepa B4 M1 DNA. El tipo de diseño que se utilizó en su investigación es experimental, utilizando una metodología de tipo descriptiva. En la ejecución de la parte experimental, se utilizaron matraces de 500mL esterilizados, a los que se añadieron cantidades de suelo, agua, e inóculo en semilla de sorgo, y se integraron para obtener un adecuado desarrollo del micelio. Una vez acondicionadas las unidades experimentales, se taparon las bocas de los matraces con tapones de algodón previamente estéril para acceder a la reciprocidad de gases sin infectar las unidades experimentales. Luego de realizar esto se procedieron a incubar a temperatura ambiente, en circunstancias de oscuridad y conservando la humedad incesante. Se tomaron muestras para analizar cada una de las unidades experimentales a los 0, 15 y 30 días del tratamiento. Como resultado alcanzado para Pb y Zn; los resultados obtenidos pasados los 15 días se decreta a T6 como el tratamiento más eficaz 28.4% de remoción, los tratamientos pasados los 30 días indican a T9 como el más eficiente 46.3%. Los resultados de los tratamientos para el Pb a los 15 días indican a T8 como el proceso más eficaz 14.4%, los resultados a los 30 días indican a T7 como el proceso más eficaz 17.8%. Con lo que se llega la conclusión de que *Pleurotus ostreatus* tiende a remover metales pesados como Pb y Zn en los suelos contaminados con AUU (aceites lubricantes automotrices usados) a través de procesos de bio-adsorción. Esta tesis se relaciona con la investigación en curso, ya que propone describir el nivel de remediación de suelos contaminados con aceite automotriz usado, empleando el hongo *Pleurotus ostreatus* cepa B4 M1 DNA, la contaminación del suelo degrada de forma química la cual provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo, el resultado de la acumulación de sustancias tóxicas, superan el poder de amortiguación natural del suelo y modifican negativamente sus propiedades.

Déley, Á. (2010) quien realizó su tesis “*Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo del campamento Sacha 161 utilizando el hongo Pleurotus ostreatus*” el cual fue sustentado en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo – Facultad de Ciencias en Ecuador, plantea como objetivo ejecutar ensayos en laboratorio para la especificación de biooremediación empleando el hongo *Pleurotus ostreatus*. El tipo de diseño que se utilizó en su investigación es experimental, utilizando una metodología de tipo descriptiva. En cuanto a la inoculación de suelos no esterilizados se debe; esparcir y homogenizar el suelo, ubicar el plástico agujerado en cada canasta, pesar 6 kg de suelo y señalar una altura adecuada donde indique su volumen, coger la misma cantidad de volumen de sustrato para cada recipiente; evaluar el peso, unir el suelo con el sustrato, homogenizar y diagnosticar su densidad un nuevo nivel, pesar 600g de inóculo y señalar el volumen para diagnosticar su densidad, pesar una porción adecuada de inóculo para cada caja, triturar y mezclar con el suelo. Inocular y homogenizar, incubar a 28°C, 85 – 90% de humedad y tapar la canastilla con un objeto oscuro y para finalizar frecuentemente se debe adicionar 150mL de agua a cada caja para nutrir la humedad del suelo. Los resultados obtenidos fueron que las concentraciones alcanzan disminuir los TPH hasta llegar a niveles mínimos de los límites máximos permisibles en suelos para uso agrícola implantado en el RAOHE 1215. Con lo que se llega a la conclusión de que las unidades experimentales en suelos ineficaz C3 (1058,07 mg/g) y C4 (1045,25 mg/kg) resultaron ser los destacados, disminuyendo los TPH hasta niveles inferiores a los decretados para suelos de uso agrícola (<2500 mg/kg), generando así la remoción en un plazo de 7 semanas del 96,6% y 96,7% respectivamente. Esta tesis se relaciona con la investigación en curso, ya que propone ejecutar análisis en el laboratorio para determinar la biorremediación empleando el hongo *Pleurotus ostreatus*, los hongos constituyen uno de los grupos microbianos con mayor importancia. El género *P. ostreatus*, siendo este detalladamente estudiado con un fin, comprobar cuán eficaz es en la biorremediación de diferentes componentes

químicos, y demostrando ser eficaz en la remoción de hidrocarburos policíclicos (HAPs) y metales pesados del ambiente contaminado.

Ruíz, K. (2008) quien en su tesis “*Determinación de la capacidad de remoción de Cadmio, Plomo y Níquel por hongos de la podredumbre blanca inmovilizados*” la cual fue sustentada en la Pontificia Universidad Javeriana – Facultad de Ciencias en Colombia, planteando como objetivo elegir entre *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* y *Trametes versicolor* la cepa con mayor flexibilidad a sales de metales pesados tales como sulfato de cadmio, cloruro de níquel y acetato de plomo. El tipo de diseño que se utilizó en su investigación es experimental, utilizando una metodología de tipo descriptiva. Para la remoción de Ni, Cd y Pb bajo procesos con biomasa libre, se utilizaron Erlenmeyer de 500ml, con un VET de 170 ml; cada uno tenía agua residual sintética con las sales de metales, realizando el procedimiento. Se ejecutó de nuevo un grupo de biomasa pulverizada, se extrajeron 8 ml de biomasa pulverizada que corresponde a 2.780g y se inocularon en cada uno de los Erlenmeyer con un tiempo de 2 días a 30°C y 120rpm. Se realizaron las pruebas de la cuantificaron de los metales pesados por absorción atómica. Los resultados obtenidos fueron de metales (Ni, Cd y Pb), Ni resulto ser el más dañino para los tres hongos, por el grado de tolerancia no sobrepasaron las 500 mg/l. Similar con el Cd la cepa más sensible fue *P. ostreatus*, de acuerdo a la comparación de medias para Ni se observaron diferencias significativas ($p < 0.0001$) entre las cepas la más tolerante *T. versicolor* con 500 mg/l seguida por *P. chrysosporium* a 300 mg/l (grupo B) y *P. ostreatus* con 15 mg/l (grupo C). En el caso del Pb, sin nada que discutir *P. chrysosporium* obtuvo la mayor tolerancia al acetato de plomo, comparando con las medias para CMT de Pb se presentaron diferencias altamente significativas ($p < 0.0001$) entre cepas, destacando que el hongo más tolerante de plomo fue *P. chrysosporium* con 10000 mg/l, *T. versicolor* con 5000 mg/l y *P. ostreatus* con 3000 mg/l. Con lo que se llega la conclusión de que *Phanerochaete chrysosporium* fue la cepa con mayor tolerancia ($p < 0.0001$) a Cd, Ni y Pb. Creció en concentraciones de 1500 mg/L, 300mg /L y 10000 mg/L, con

periodos de tiempo mínimos de 2, 5 y 13 respectivamente. Esta tesis se relaciona con la investigación en curso, ya que propone emplear los hongos de la podredumbre blanca, favorecen de múltiples diferencias en el proceso detoxificación, esto se debe a la hipertolerancia y aglomeración de metales pesados en pared, a través de su micelio, colonizar diferentes áreas y así acceder a los compuestos que constituyen las contaminaciones más frecuentes de aguas y suelos.

1.3 Teorías Relacionada al Tema

1.3.1 Marco Teórico

Según (Sánchez, 2001) *Pleurotus ostreatus* es considerado hongo de pudrición blanca porque tienen la capacidad de degradar materiales ricos en lignina, celulosa y hemicelulosa. La mayoría de los basidiomicetos se consideran degradadores de madera porque son capaces de crecer sobre la biomasa proveniente de las plantas leñosas. Para sobrevivir en el suelo, el cual no es su hábitat natural, los hongos de pudrición blanca necesitan un substrato que contenga celulosa (p.87).

Asimismo (Stamets, 1993) menciona que el hongo ostra o seta *Pleurotus ostreatus* es una especie de hongo saprófito que pertenece al grupo de los hongos de pudrición blanca debido a sus excepcionales propiedades lignolíticas, permite el crecimiento rápido y el fácil manejo.

El micelio es blanquecino con un crecimiento radial, el cual se torna velozmente en un textura de algodón y conforme va envejeciendo se aprecia una alfombra de micelio firme y delgado. Al envejecer el micelio tiende a secretar gotas amarillo-naranja (p. 280).

Al mismo tiempo (Sharma, 2011) nos dice que la producción de inóculo (SPAWN) es el micelio vegetativo de un hongo seleccionado, que puede ser cultivado en un medio apropiado como trigo, mijo, sorgo etc., con el objetivo de obtener una cosecha de hongos. Involucra el desarrollo del cultivo puro del hongo partiendo de sus tejidos o esporas los cuales se mantienen en agar seguido por su cultivo en granos previamente esterilizados y conforme avanza este se multiplicara en más granos. El inóculo abarca, el micelio del hongo y un medio de soporte el cual provee de nutrición en el tiempo de su crecimiento (p. 31).

Por su parte (González, 2005) menciona que *Pleurotus ostreatus* puede ser visto en pequeños o en grandes tamaños, pues sirven para poder alimentar algunas especies, estos poseen paquetes enzimáticos complejos, los cuales son muy útiles para la biorremediación de suelos. En lo general los hongos llegan a cumplir una función muy importante en cuanto a la descomposición de la materia orgánica. A pesar de estas funciones, los estudios que se realizan en cuanto diversidad biológica, pocas veces es considerada la importancia que este tiene (p. 32).

De esta manera (Stamets, 2008) expone las generalidades de *Pleurotus ostreatus*, al ser un hongo saprofítico o parásito débil, descomponedor del grupo de la podredumbre blanca que crece de forma natural en árboles como aliso, balsa y arce principalmente en los valles de los ríos. La palabra *Pleurotus* viene del griego “pleuro”, que significa formado lateralmente o en posición lateral, refiriéndose a la posición del estípe respecto al píleo. La palabra *ostreatus* en latín quiere decir en forma de ostra y se refiere al aspecto y al color del cuerpo fructífero (p. 134)

Por consiguiente (Coello, 2011) nos habla de la clasificación y morfología de *Pleurotus ostreatus* taxonómicamente de la siguiente forma (p.19):

REINO: Fungi
 SUBREINO: Fungi Superior
 DIVISIÓN: Basidiomycota
 SUBDIVISIÓN: *Basidiomycotina*
 CLASE: *Himenomycetes*
 ORDEN: *Agaricales*
 FAMILIA: *Tricholomataceae*
 GÉNERO: *Pleurotus*
 ESPECIE: *ostreatus*

De acuerdo a (Sánchez, 2001) el cultivo para el crecimiento de un hongo se puede iniciar de una espora o de una fracción viable de hifa. Cuando el crecimiento de un hongo se da en un medio sólido, se puede presentar según las condiciones de la etapa de fructificación. Para la medición del crecimiento es de particular interés el estudio de la velocidad de colonización haciendo un análisis del crecimiento micelial a través del incremento radial de la colonia. Por lo cual el proceso de desarrollo de los hongos se ve afectado por distintos factores, para su crecimiento y fructificación en el sustrato.(p.59)

Factor	Crecimiento del micelio
Temperatura	24° a 30°C
Luminosidad	Oscuridad
Humedad R.	30 a 40%
Aireación	28% de CO ₂ , 20% de oxígeno en el ambiente
pH	5 – 6

Tabla 1. Factores que afectan el crecimiento de *Pleurotus spp.* Fuente: Sanchez, 2001

Por consiguiente (Sierra, 2006) menciona que el Plomo (Pb) se ubica en el grupo IVA (metales) en la tabla periódica. El Pb es un metal gris azulino que se presenta en forma natural y en pequeñas cantidades (0.002%) en la corteza terrestre. El uso más amplio del Pb elemental es para la fabricación de acumuladores; también es usado para la fabricación de tetra-etilo de plomo, pinturas, cerámicas, forros para cables, elementos de construcción, vidrios especiales, pigmentos, soldadura suave y municiones (p.8)

De este modo (Guitart, Thomas, 2005) señala que el Pb, en el suelo, se encuentra principalmente en forma de Pb^{2+} , su estado de oxidación +4. Algunos de los compuestos insolubles son $Pb(OH)_2$, $PbCO_3$, PbS , $PbSO_4$. La velocidad de oxidación depende de factores como la humedad, la temperatura, el pH, el potencial redox, la cantidad de materia orgánica o la roturación de los suelos. Así mismo (Bautista, F. 1999) menciona que el plomo a pesar de ser soluble en el suelo, este es absorbido inicialmente por los pelos de las raíces y es almacenado en gran parte en las paredes celulares, la absorción puede variar en relación con la concentración presente en el suelo (p.75).

1.3.2 Marco Conceptual

pH

Para el crecimiento de *Pleurotus* se han establecido rangos para el crecimiento entre 4 y 7 de pH. Siendo un óptimo entre 5 y 6. Sin embargo este valor suele variar entre cepas y especies. Los substratos ácidos (pH 4) pueden abstener el crecimiento del *P. ostreatus* ya que, para estos hongos el pH óptimo va en un rango entre 5.5 y 6.5 (Sanchez, 2001, p. 59).

Temperatura

Para el cultivo de *P. ostreatus* se requiere un rango de temperatura entre 20 a 28°C, siendo la más óptima de 25° C. Y el tiempo de colonización total del sustrato sucede entre los 15 y 20 primeros días una vez iniciado el cultivo. Esto se suele realizar en bolsas de PVC, polietileno o polipropileno como en botellas de vidrio (Sanchez, 2001, p. 59).

Capacidad del Hongo *Pleurotus ostreatus*

Es decir la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para transformar una amplia variedad de metales a incrementado el interés de las personas en la biorremediación, ya que estos son los únicos entre los eucariotas por haber desarrollado metodología no específica que involucra la degradación de la lignina, ya que no utilizan lignina como fuente de carbono para su crecimiento. (Sullia, 2003, p. 10)

***Pleurotus ostreatus* como biorremediador**

La mayoría tratan de enfocarse en la habilidad que tienen los hongos de podredura blanca, en especial aquellos que pertenecen a la familia *Phanerochaete* donde se acerca al hongo *Pleurotus ostreatus*. Dichos hongos se consideran eficientes porque la enzima extracelular cataliza una reacción puede disminuir la lignina. Con la finalidad de catalizar, la enzima requiere peróxido de hidrógeno y es producida por el hongo. (Frazar, 2000, p 11) (Figura N° 1)

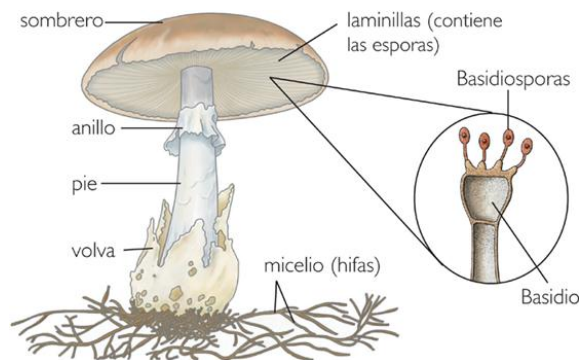


Figura 1. *Peurotus ostreatus* (Navarro, 2005)

Biorremediación

La biorremediación es un método en el cual se emplean microorganismos, ya que viene a ser un proceso natural para destruir contaminantes, los productos que se forman son usualmente inóculos. La relación en cuanto al costo por la efectividad, se considera menor que otras tecnologías. (Castillo, et al. 2005, p. 366)

Metales Pesados

Los metales pesados estando en material original al meteorizarse, estos se llegan a concentrar en los suelos. La concentraciones muy altas en el suelo pueden ocasionar efecto tóxicos, la presencia de metales como el Pb, Zn, Cu, Sb y Hg en el suelo se debe a contaminación antropogénica. (Cruz, 2007, p. 52)

Plomo en el suelo

El plomo es presentado de forma natural en el medio ambiente, pero exceden las concentraciones si son resultado de las actividades humanas. El Plomo (Pb) se tiende a acumular en los organismos del suelo afectando de una forma negativa y generando infertilidad y reducción en la tasa de productividad. (Saucedo, 2014, p. 27-28)

1.3.3 Marco Legal

Según el D.S. N° 002-2013-MINAM

Artículo 8° cuando se determine la existencia de un sitio contaminado derivado de las actividades extractivas, productivas o de servicios, el titular debe presentar el Plan de Descontaminación de Suelos (PDS), el cual es aprobado por la autoridad competente. El PDS determina las acciones de remediación correspondientes, tomando como base los estudios de caracterización de sitios contaminados, en relación a las concentraciones de los parámetros regulados en el Anexo I. En caso el nivel de fondo de un sitio excediera el ECA correspondiente para un parámetro determinado, se utilizará dicho nivel como concentración objetivo de remediación. Para sitios afectados mayores a 10000 m², se podrá tomar como base los niveles de remediación que se determinen del estudio de evaluación de riesgos a la salud y al ambiente. (MINAM, 2013. p 2)

En el Artículo 11° El análisis de las muestras de suelo deberá ser realizado por laboratorios acreditados ante el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI), para los métodos de ensayo señalados en el Anexo I de la presente norma. En tanto no se disponga de laboratorios acreditados se utilizarán los laboratorios aceptados expresamente por las autoridades competentes. (MINAM, 2013. p 2)

1.4 Formulación del Problema

1.4.1 Problema General

¿Cuál será la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017?

1.4.2. Problemas Específicos

- ¿De qué manera las propiedades físicas tendrán la capacidad para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017?
- ¿Cómo influye la dosis en la capacidad de la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017?

1.5 Justificación del Estudio

Emplear el hongo *Pleurotus ostreatus* para remediar suelos contaminados por Plomo (Pb) se enfoca en la habilidad de este para poder degradar el metal; porque sus hifas pueden introducirse el suelo contaminado y producir enzimas extracelulares las cuales disminuyen a los contaminantes. El aporte que se realiza es poder mejorar el suelo contaminado con Plomo (Pb) porque se considera una alternativa viable y de manera natural. El beneficio que esta nos aporta es limpiar suelos que contienen metales como el Plomo.

1.6 Hipótesis

1.6.1 Hipótesis General

La eficiencia del hongo *Pleurotus ostreatus* es alta para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio – 2017.

1.6.2 Hipótesis Específicas

- Las propiedades físicas favorecen de manera positiva para biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb).
- La dosis evaluará si la capacidad de biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb) podrá ser mayor al 25%.

1.7 Objetivo

1.7.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.

1.7.2 Objetivos Específicos

- Determinar la capacidad de las propiedades físicas para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.
- Calcular la capacidad de la dosis para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.

II. Método

2.1 Diseño de investigación

El enfoque de la investigación a realizar es cuantitativa, porque se medirá intencionalmente y con precisión la variable dependiente que es el producto de manipular la variable independiente. (Hernandez, [et al.] 2014, p 10).

Por consiguiente, el diseño de investigación viene a ser experimental ya que se utilizaran medios de cultivo y veremos cómo actúa el hongo en suelo contaminado. Los diseños experimentales son utilizados cuando el investigador pretende establecer el posible efecto de una causa que se manipula, es decir que este puede manejarla. (Hernandez, [et al.] 2014, p 121-122)

Siendo el tipo de diseño cuasiexperimental, porque se manipula la variable independiente para ver la consecuencia en la variable dependiente; como mejora el suelo contaminado por Plomo empleando el hongo *Pleurotus ostreatus*. (Hernandez, [et al.] 2014, p 151)

Se procederá a recolectar datos en distintos tiempos para poder determinar la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* y este pueda biorremediar el suelo contaminado por Plomo. (Hernandez, [et al.] 2015, p 159)

2.2 Variables, Operacionalización

Cuadro 1. Operacionalización de Variables

"Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017"								
PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLE	MARCO CONCEPTUAL	OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Problema General ¿Cuál será la capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017?	Objetivo General Evaluar la capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.	Hipotesis General: La eficiencia del hongo <i>pleurotus ostreatus</i> es alta para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.	Variable Independiente: CAPACIDAD DEL HONGO <i>Pleurotus ostreatus</i>	Los hongos de pudrición blanca tienen la habilidad de degradar los suelos contaminados, se consideran muy prometedores en su aplicación; poseen ventajas sobre las bacterias por el hecho de sus hifas que pueden penetrar el suelo contaminado y producir enzimas extracelulares que degradan los contaminantes. Los hongos son además, muy buenos en la acumulación de metales pesados como el plomo, ya que producen una enzima extracelular llamada lacasa, esta cataliza una reacción que degrada la lignina, un compuesto aromático. (Coello, J. 2011)	Se utilizó trigo pelado inoculado con <i>Pleurotus ostreatus</i> y se agregó a los platos petri con diferentes medios de cultivo SDA (Sabouraud Dextrose Agar) y para su multiplicación, mantenimiento y crecimiento micelial; se preparó los cultivos para cada medio de cultivo. A quienes se les incubaron a 25 °C por un fase de 7 días hasta que el micelio crezca y cubra el plato petri. El desarrollo se llevará a cabo cada dos semanas después del crecimiento total del micelio.	PROPIEDADES FÍSICAS	Diametro de Colonia	mm
						DOSIS	Plomo en trigo inoculado	mg/kg
							3	Grano/placa
							6	
9	días							
Problemas Especificos ¿De qué manera las propiedades físicas tendrán la capacidad para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017? ¿Cómo influye la dosis en la capacidad de la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017?	Objetivos Especificos Determinar la capacidad de las propiedades físicas para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017. Calcular la capacidad de la dosis para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.	Hipotesis Especificas: Las propiedades físicas favorecen de manera positiva para biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb). La dosis evaluará si la capacidad de biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb) podrá ser mayor al 25%.	Variable Dependiente: BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR PLOMO (Pb)	La presencia en el suelo de concentraciones nocivas de algunos elementos químicos y compuestos se le denomina contaminación. Se considera contaminante aquel que en concentraciones mayores de las habituales generan un efecto adverso. El plomo es considerado una sustancia tóxica que no tiende a ser degradada. Se observa en los cuerpos de agua mediante los procesos industriales o por la extracción de minerales, siendo esta última el origen primario de la contaminación, daña la cadena alimenticia y genera la bioacumulación en organismos de la cadena trófica. Los parámetros químicos y físicos favorecerán para determinar cómo se encuentra el suelo contaminado por Plomo (Pb). (Rivas, G., Gutierrez, S. y Merino, F2002).	En cada punto de muestreo se recogerán muestras de suelo para analizar la presencia del metal. Se utilizará el equipo de Espectrometría de Absorción Atómica para cuantificar los metales pesados que se encuentran presentes. Se debe pulverizar con un mortero este suelo para que con el multiparametro se pueda medir; la temperatura (°C), humedad relativa (%) y pH.	PARÁMETROS QUÍMICOS DEL SUELO	Concentración de Plomo	mg/kg
						PARÁMETROS FÍSICOS DEL SUELO	pH	-
							Temperatura	°C
						Humedad Relativa	%	

Fuente: Elaboración Propia

2.3 Población y Muestra

2.3.1 Población

(Hernandez, et al. 2010, p. 174) se dice población a “el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones”.

Los puntos indicados según la Guía para muestreo de suelo menciona que el número de muestras y distribución, será realizar el patrón de muestreo Zigzag, en el cual se dibuja una línea en zigzag y sobre ésta se indica los puntos de muestreo tratando de que estos sean equidistantes. (vea la Figura N° 2). (MINAM, 2013, p. 35)

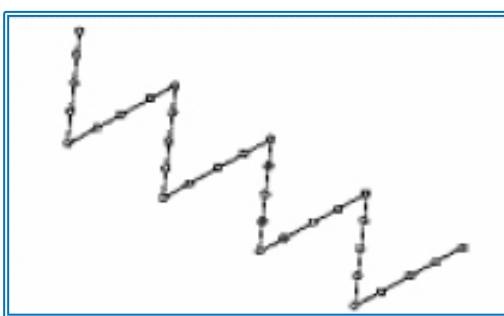


Figura 2. Patrones de muestreo con distribución heterogénea (MINAM, 2014, p. 35)

El área de potencial interés es de 0,5 Ha y se realizarán 6 puntos de muestreo en total (Tabla N° 1), extrayendo muestras superficiales con una profundidad de 20 cm, por cada punto se extrajo 1 ½ k de suelo.

Área de potencial interes (Ha)	Puntos de muestreo en total
0,1	4
0,5	6
1	9
2	15
3	19
4	21
5	23
10	30
15	33
20	36
25	38
30	40
40	42
50	44
100	50

Tabla 2. Partición de muestras (MINAM, 2013, p. 24).

Es necesario obtener muestras compuestas; para las muestras compuestas es recomendable cuartear, mezclar y repetir el proceso hasta que llegue a la cantidad de material necesario (vea la figura 3). Se recomienda en particular la toma de muestras superficiales compuestas para la evaluación de riesgos a la salud humana (p.e. cuando se tiene un contacto directo) o para la flora y fauna. (MINAM, 2014, p.16)

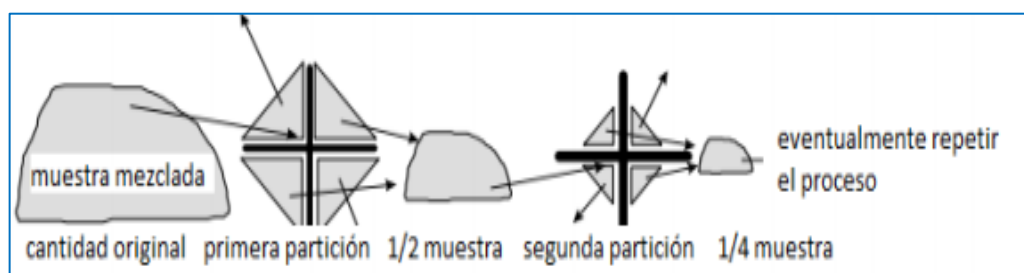


Figura 3. Partición de muestras (MINAM, 2013, p.17)

2.3.2 Muestra

(Hernandez, et al. 2010, p 175) menciona que muestra es “en esencia, un subgrupo de la población. Digamos que es un subconjunto de elementos que pertenecen a ese conjunto definido en sus características al que llamamos población” La cantidad requerida para la investigación será de 7K considerando las repeticiones:

- 40 g serán utilizados para cada repetición por tratamiento, siendo un total de 9 repeticiones por cada diferencia de dosis.
- Se utilizara 500 g de muestra para el análisis de determinación inicial de Plomo (Pb) en un laboratorio acreditado.

2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos, validez y confiabilidad

(Hernandez, et al. 2014, p. 260) Este método de recolección de datos consiste en el registro sistemático, válido y confiable de comportamientos y situaciones observables, a través de un conjunto de categorías y subcategorías.

2.4.1 Descripción del procedimiento

a) Desarrollo del hongo *Pleurotus Ostreatus*

Para obtener el trigo inoculado con *P. ostreatus* este pasa por fases.

- **Cultivo de la cepa de *Pleurotus ostreatus*.**- Se cultiva la cepa del hongo *P. ostreatus* en placas Petri de 9 cm de diámetro con Agar Papa Dextrosa (PDA) a 26°C durante 14 días (hasta que el micelio colonice toda la placa) en oscuridad. (Sifuentes, 2014, p.26)
- **Preparación de inóculo primario.**- Para propagar el micelio en grano se utiliza un octavo de placa con micelio diluido en 10 ml de medio líquido papa dextrosa (PDB). Cada bolsa de tratamiento se inoculó con 10 ml de esta preparación. Las bolsas de polipropileno de 5x10cm fueron incubados en una estufa eléctrica a 25°C durante 4 semanas (Stamets, 2000, p. 65).

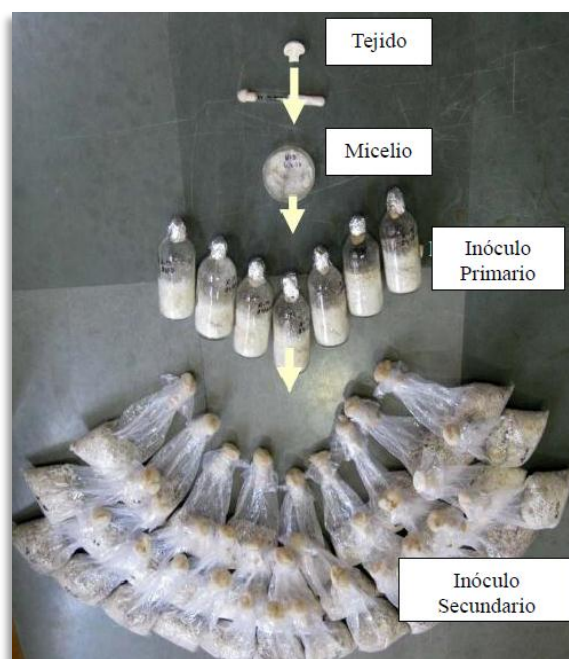


Figura 4. Pasos en la producción de Inóculo

En este proyecto se utilizó trigo pelado inoculado con el hongo *P. ostreatus* que se obtuvo de Setas Perú :

- 500g de trigo pelado inoculado con *P. ostreatus* (Anexo 6)
- 45 semillas de trigo pelado inoculado con *P. ostreatus* para ser empleado en el tratamiento.

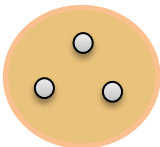
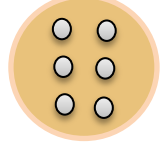
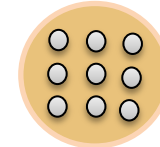
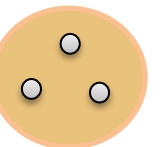
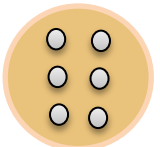
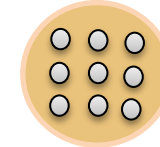
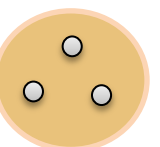
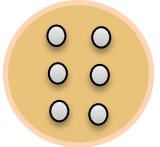
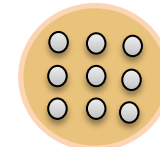
b) Determinación de Plomo (Pb) en el suelo

La muestra analizada por el laboratorio DELTALAB fue para determinar qué cantidad de Plomo (Pb) contenía el suelo de relave minero, con la finalidad de tener un análisis inicial. (Anexo 5) La determinación de este metal fue por espectrofotometría de absorción atómica. La espectroscopia de absorción atómica se basa en la absorción de energía, por los átomos de metales, al estado gaseoso, de la muestra que ha sido tratada térmica o electrotérmicamente. La absorción de la mezcla gaseosa se emplea en la determinación cualitativa y cuantitativa de uno o más elementos presentes en la mezcla. (Acuña, 2012, 18 p.)

c) Muestra Pura

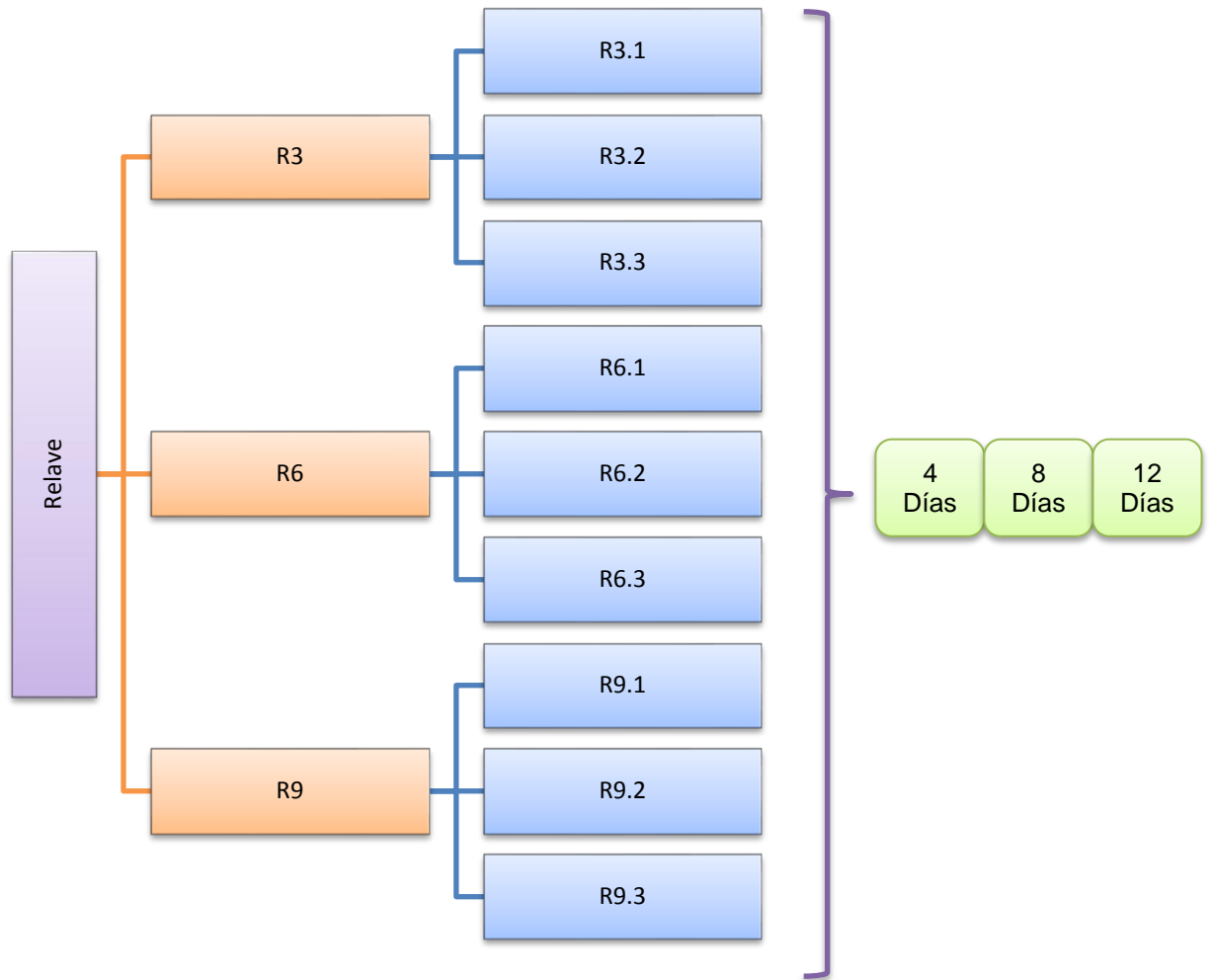
Se empleó el inóculo primario; cada placa Petri de 9cm de diámetro, fue esterilizada a 150°C; se le agrego 40g de relave minero, la muestra fue secada, desagregada y tamizada. Fue humedecida hasta alcanzar una humedad de 33%. Para realizar el tratamiento la dosis varia (cuadro 2); la muestra será incubada en la incubadora a 22°C. Se registrará la colonización del suelo los días 4, 8 y 12 de incubación. (Anexo 7)

Cuadro 2. Muestra Pura

	Tratamiento (T1)	Tratamiento (T2)	Tratamiento (T3)
	3 und trigos pelados inoculados con <i>P.ostreatus</i>.	6 und trigos pelados inoculados con <i>P.ostreatus</i>.	9 und trigos pelados inoculados con <i>P.ostreatus</i>.
40 g de relave suelo no esteril + inóculo primario	R _{3,1} 	R _{6,1} 	R _{9,1} 
	R _{3,2} 	R _{6,2} 	R _{9,2} 
	R _{3,3} 	R _{6,3} 	R _{9,3} 

Fuente Elaboración Propia

Gráfico 1. Tratamiento de Muestra Pura



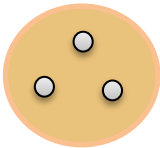
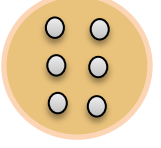
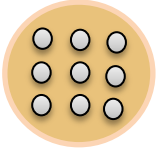
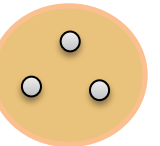
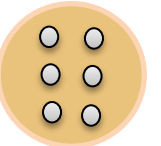
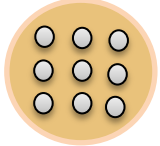
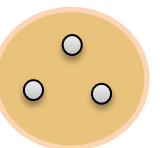
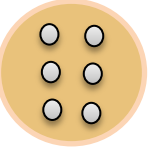
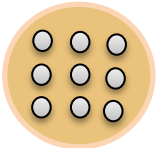
Fuente: Elaboración Propia

Se realizó el tratamiento de muestra pura usando, solo relave minero; pero se observó que no había crecimiento en el día 4, hubo presencia del micelio para el día 8, para el día 12 el crecimiento en el diámetro era constante no había variación alguna. Con lo cual se determinó que para el crecimiento del hongo *Pleurotus ostreatus*, debe haber un suplemento para un rápido crecimiento. Por tal motivo no se continuó el tratamiento, ya que al observar el no crecimiento del micelio no iba a ver influencia del hongo para biorremediar el suelo contaminado con Plomo.

Muestra compuesta (relave y aserrín)

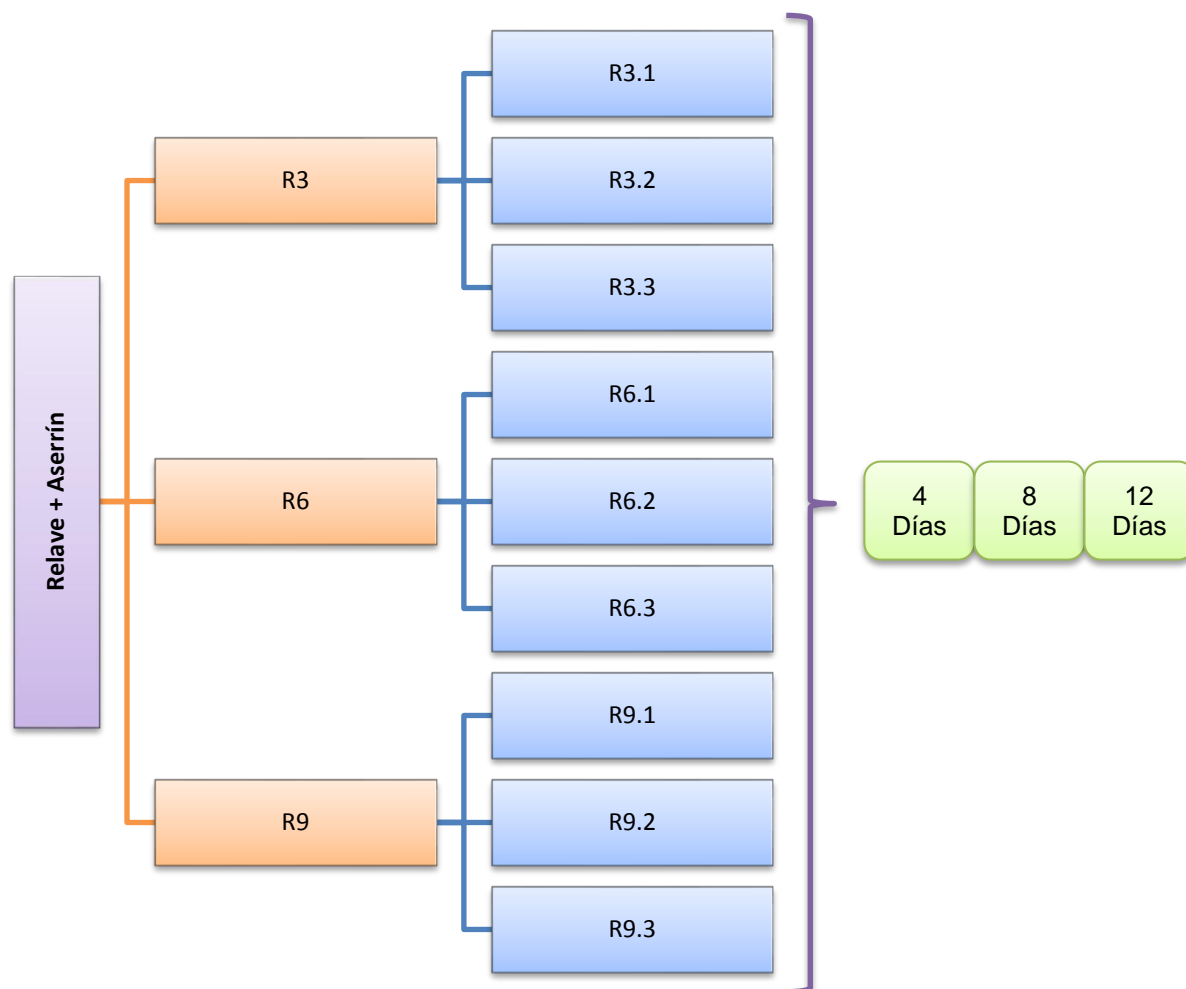
Se empleó el inóculo primario; cada placa Petri de 9cm de diámetro, fue esterilizada a 150°C; se le agrego 36g de relave minero, la muestra fue secada, desagregada y tamizada; luego se agregó 4g de aserrín. Fue humedecida hasta alcanzar una humedad de 33%. Para realizar el tratamiento la dosis varia (cuadro 3); la muestra será incubada en la incubadora a 22°C. Se registrará la colonización del suelo los días 4, 8 y 12 de incubación. (Anexo 8). Se observa la distribución de los tratamientos.

Cuadro 3. Muestra Compuesta

	Tratamiento (T1) 3 und trigos pelados inoculados con <i>P.ostreatus</i> .	Tratamiento (T2) 6 und trigos pelados inoculados con <i>P.ostreatus</i> .	Tratamiento (T3) 9 und trigos pelados inoculados con <i>P.ostreatus</i> .
40 g de relave suelo no esteril + inóculo primario + 10% de aserrín	R _{3,1} 	R _{6,1} 	R _{9,1} 
	R _{3,2} 	R _{6,2} 	R _{9,2} 
	R _{3,3} 	R _{6,3} 	R _{9,3} 

Fuente Elaboración Propia

Gráfico 2. Tratamiento de Muestra Compuesta



Fuente: Elaboración Propia

Se realizó el tratamiento con la muestra compuesta usando como suplemento el aserrín para poder nutrir al hongo *Pleurotus ostreatus*. Se utilizó una variación de la dosis de la semilla (trigo pelado inoculado con *Pleurotus ostreatus*) 3 semillas por cada placa, 6 semillas por cada placa, 9 semillas por cada placa. Se realizaron 3 repeticiones por cada tratamiento, y se midió el crecimiento del diámetro del hongo *Pleurotus ostreatus* a los 4 días, a los 8 días y a los 12 días.

Procedimiento de parámetro químico del suelo

pH

- La muestra fue secada y luego a tamizar
- Se peso 2g de muestra y se le agrego 20ml de agua destilada en un vaso precipitado de 50ml
- Se procedió a agitar la muestra con un agitador magnético en el agitador a 20 minutos por 250 de revolución
- Se utilizó el peachimetro para la lectura de resultados

Determinación de Plomo

(SMEWW – APHA – AWWA- WEF 3030E, 3111B. EPA 3050. Acid Digestion of Sediments, Sludges an Soils)

- Se secó la muestra a 105 °C por 1 hora, se tamizo en un tamiz # 10 para la digestión.
- Se realizó el pesaje con precisión de 1g lo más cercano para cada muestra.
- Se agrego la muestra a los viales de vidrio, previamente esterilizados los cuales se encontraban en una rejilla
- Se le agrego 5ml de Ácido Nítrico y 1ml de Ácido Clohídrico para cada repetición haciendo uso de la campana extractora de gases.
- Se procedió a sellar cada vial con teflón.
- Se pusieron en el reactor las muestras a analizar a 100 °C por 60 minutos.
- Se procedió a filtrar la muestra con filtro de paso lento, en una fiola de 100 ml.

2.4.2 Técnica de recolección de datos

Para la investigación se empleó la técnica de la observación.

La técnica de investigación científica, donde se elabora datos en condiciones relativamente controladas por el investigador, particularmente porque este puede manipular la o las variables.

Hernandez, R. et.(2010).menciona que "este método de recolección de datos consiste en el registro sistemático, valido y confiable de comportamientos y situaciones observables, a través de un conjunto de categoria y sub categoria".(p 260).

De acuerdo a la Guía para muestro de suelos en el marco del Decreto Supremo N° 002-2013-MINAM, Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo se realizó el recojo de datos:

Obtención de las muestras de Suelo

Para la extracción de relave minero se utilizó el patrón de muestreo Zigzag, en el cual se dibuja una línea en zigzag y sobre ésta se indica los puntos de muestreo tratando de que estos sean equidistantes (Anexo 4). El área de potencial interés es de 0.5 Ha, realizando 6 puntos de muestreo en total, la toma de muestra fue superficial siendo una profundidad de 20cm, para luego ser compuesta. (MINAM, 2014). Para realizar la toma de muestra se ubicaron 6 puntos de muestreo en zigzag enumerando cada uno de ellos, la calicata de una profundidad de 20 cm c/u, retirando el suelo con ayuda de una espátula y agregándola en bolsas, de cada punto es extrajo 1 ½ k luego se homogenizo la muestra y se hizo el cuarteo, extrayendo 7 k. (Anexo 3)

- 500 g para analizar Pb en laboratorio (DELTALAB).
- 6500 g para emplear en tratamiento.

Obtención del *Pleurotus ostreatus*

500g de semilla de trigo pelado inoculado por el hongo *Pleurotus ostreatus*, de (Setas Perú)

Analisis de Contaminantes en el suelo

- Se determina Plomo (Pb) en la zona de estudio, ya que la primera vez que se acudió al lugar en el año 2016 fue para extraer relave minero, al cual se le hizo un barrido ICP y se determinó que metales contenían. Teniendo ya ese antecedente se escogió el mismo suelo para remediar solo plomo.
- Se determinó la hectárea a estudiar, se procedió a tomar la cantidad adecuada de los puntos de muestreo, como indica el D.S 002-2013-MINAM.

2.4.3 Instrumento de recolección de datos

Se utilizó como instrumento la ficha de recojo de información de (Anexo N°1) para obtener datos del suelo antes del tratamiento así mismo evaluar la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus*, en sus diferentes cantidades para el tratamiento del suelo contaminado.

Para la obtención de los Parámetros físicos y químicos se utilizaron los siguientes equipos:

- Estufa
- Incubadora
- Desecador
- Balanza Analítica
- Campana extractora de gases
- Reactor

Los cuales fueron proporcionados por el laboratorio de biotecnología de la Universidad César Vallejo Lima este, para los respectivos análisis

Los instrumentos utilizados fueron las siguientes:

- Ficha de recojo de información de (Anexo N°1)
- Materiales y equipos de campo
- Empleo de softwares: Microsoft Excel, software SAS

2.4.4 Validez y Confiabilidad del Instrumento

(Hernandez, R. et. 2010. p 201) menciona que la validez “en términos generales se refiere al grado en que un instrumento realmente mide la variable que permite medir” (Anexo N°2)

Cuadro 4. Instrumentos de recolección de datos

“Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017”	
Apellidos y Nombres del Validador	Promedio de Valoración
Dr. DELGADO ARENAS ANTONIO LEONARDO	90%
Mg. SERNAQUE AUCCAHUASI FERNANDO ANTONIO	90%
DR. GAMARRA CHAVARRY LUIS FELIPE	90%
Phd. SUAREZ ALVITES ALEJANDRO	90%

Fuente: Elaboración Propia

2.5 Métodos de Análisis de datos

2.5.1 Recojo de Datos

Los datos corresponden a los análisis realizados por semanas durante octubre realizando un total de 3 repeticiones.

Utilizando la ficha de recojo de datos, para completar con los resultados obtenidos en toda la fase de tratamiento (Anexo 1)

- ✓ La recolección de la muestra de suelo, se realizó el 17 del mes de setiembre (Anexo 4)

- ✓ La compra de *Pleurotus ostreatus* un 24 de setiembre (Anexo 6)

Criterio de Inclusión:

Tiene como finalidad limitar a la población en la cual se va a realizar el estudio, es por ello que se tomó en cuenta los siguientes aspectos en el suelo seleccionado:

- ✓ Se tomó 6 puntos de muestreo de los cuales se extrajo 1/2K de suelo y al homogenizar se trabajó con 7k de muestra. El

área de estudio que se tomó fue, 0,5 Ha según el D.S. N° 002-2013-MINAM.

Criterio de exclusión:

Este criterio nos permite identificar a los elementos que originan desviación en los resultados al momento de relacionar las variables, es por ello que se tomó en cuenta los siguientes aspectos:

- ✓ Se tomó 0,5 Ha según el D.S. N° 002-2013-MINAM. Ya que el área contaminada tiene mayor magnitud de suelo contaminados.

2.5.2 Proceso de análisis de datos

(Hernandez, R. et. 2010. p 586) para analizar los datos el investigador confía en los procedimientos estandarizados cuantitativos. El análisis de los datos puede ser sobre los datos originales (“en bruto, “crudos”) se puede requerir su transformación.

En esta investigación se formuló en base al diseño completamente al azar DCA, con tres (03) tratamientos, tres (03) repeticiones como unidad experimental.

Puesto que el instrumento fue no probabilístico (tomada bajo el criterio del investigador). Así mismo se utilizó el software SAS para determinar:

- **Prueba de Anova:** para evaluar significancia y si es eficiente el trabajo
- **Duncan:** para analizar muestras relacionadas

Por otro lado se utilizó el software Microsoft Excel para representar los datos mediante:

- **Tablas:** para obtener un consolidado de datos

Gráficos de barra: para verificar la variación de los datos

El análisis estadístico que se utiliza para los resultados obtenidos se llevaran a cabo por el programa estadístico SAS y Excel de la siguiente manera:

- Los resultados obtenidos en las mediciones de diámetro del crecimiento de las semillas inoculadas con *Pleurotus ostreatus* y el pH se procederá a llenar la base de datos del programa Microsoff Excel.
- La cantidad de plomo en el suelo luego del tratamiento y la cantidad de plomo en las semillas inoculadas con *Pleurotus ostreatus*; se procedieron a evaluar mediante el software SAS.

2.6 Aspectos Éticos

La ética ambiental en este proyecto pretende que podamos conservar y preservar nuestros espacios, como flora y fauna. Es nuestro suelo el que nos brinda riquezas, la calidad de nuestros ambientes va a mejorar y dependerá de nuestros valores ambientales en cuanto al cuidado de nuestros espacios. (Agius, E. et. 2010. p 75) nos indica que la ética ambiental, viene a ser el estudio que cuestiona los principios relacionados entre las interacciones de los seres humanos con el ambiente natural. Es importante para orientar a las personas, la sociedad y los gobiernos empezar a decidir en cuanto a problemas ambientales y ecológicos. La problemática ecológica se da entre el trato de los seres humanos con el sistema del mundo natural. Es así que los problemas por ciencia y tecnología por si solas no podrán ser resueltas, se trata de qué se debe hacer, y el intento de poder solucionarlo, implica recurrir a los valores y principios éticos, y por consiguiente a la ética ambiental.

III. RESULTADOS

Cuadro 5. Resultados de los parámetros químicos y físicos de la muestra inicial

Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida	Tratamiento		
			T1	T2	T3
Parámetro químicos del suelo	Concentración de Plomo	mg/kg	1 122,22	1 122,22	1 122,22
	Ph	-----	3,40	3,42	3,39
Parámetro físicos del suelo	Temperatura	° C	23	23	23
	Humedad Relativa	%	0,1245	0,1469	0,1242

Fuente: Elaboración propia

Se puede observar que para el parámetro químico de la concentración de Plomo en el suelo es la misma para cada tratamiento, no se observa mucha variación en el pH. En los parámetros físicos la temperatura del suelo es constante y la humedad varía relativamente.

Cuadro 6. Resultados de hoja de campo. Diámetro del T1, presencia de Plomo en el hongo *Pleurotus ostreatus*, en diferentes periodos de tiempo 4, 8 y 12 días.

Variable Independiente: Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>											
Fecha	Código de Muestra		Propiedades Físicas		Dosis						Observaciones
			Diámetro de Colonia (mm)	Plomo en trigo inoculado (mg/kg)	Grano/placa			Tiempo (días)			
					3	6	9	4	8	12	
02-10-2017	T1	R _{3.1}	15.35	56.8	x			x			
02-10-2017		R _{3.2}	13.72	74.0	x			x			
02-10-2017		R _{3.3}	14.37	63.6	x			x			
06-10-2017	T1	R _{3.1}	15.35	56.8	x				x		
06-10-2017		R _{3.2}	16.06	74.0	x				x		
06-10-2017		R _{3.3}	16.35	63.6	x				x		
11-10-2017	T1	R _{3.1}	17.01	56.8	x					x	
11-10-2017		R _{3.2}	17.35	74.0	x					x	
11-10-2017		R _{3.3}	18.03	63.6	x					x	

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 7. Resultados de hoja de campo. Diámetro del T2, presencia de Plomo en el hongo *Pleurotus ostreatus*, en diferentes periodos de tiempo 4, 8 y 12 días

Variable Independiente: Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>											
Fecha	Código de Muestra		Propiedades Físicas		Dosis						Observaciones
			Diámetro de Colonia (mm)	Plomo en trigo inoculado (mg/kg)	Grano/placa			Tiempo (días)			
					3	6	9	4	8	12	
02-10-2017	T2	R _{6.1}	13.40	64.6		x		x			
02-10-2017		R _{6.2}	10.70	56.8		x		x			
02-10-2017		R _{6.3}	10.20	66.6		x		x			
06-10-2017	T2	R _{6.1}	13.52	64.6		x			x		
06-10-2017		R _{6.2}	16.18	56.8		x			x		
06-10-2017		R _{6.3}	12.01	66.6		x			x		
11-10-2017	T2	R _{6.1}	16.21	64.6		x				x	
11-10-2017		R _{6.2}	15.02	56.8		x				x	
11-10-2017		R _{6.3}	14.67	66.6		x				x	

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 8. Resultados de hoja de campo. Diámetro del T3, presencia de Plomo en el hongo *Pleurotus ostreatus*, en diferentes periodos de tiempo 4, 8 y 12 días

Variable Independiente: Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>											
Fecha	Código de Muestra		Propiedades Físicas		Dosis						Observaciones
			Diámetro de Colonia (mm)	Plomo en trigo inoculado (mg/kg)	Grano/placa			Tiempo (días)			
					3	6	9	4	8	12	
02-10-2017	T3	R _{9.1}	10.01	33.0			x	x			
02-10-2017		R _{9.2}	13.35	70.2			x	x			
02-10-2017		R _{9.3}	13.13	70.2			x	x			
06-10-2017	T3	R _{9.1}	14.34	33.0			x		x		
06-10-2017		R _{9.2}	15.36	70.2			x		x		
06-10-2017		R _{9.3}	13.90	70.2			x		x		
11-10-2017	T3	R _{9.1}	12.12	33.0			x			x	
11-10-2017		R _{9.2}	15.36	70.2			x			x	
11-10-2017		R _{9.3}	14.01	70.2			x			x	

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 9. Resultados de hoja de campo. Concentración de Plomo en el suelo luego de la biorremediación con *Pleurotus ostreatus*, con una temperatura y humedad estable por encontrarse un una incubadora

Variable Dependiente: Biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb)								
Fecha	Código de Muestra		Parámetros Químicos del Suelo			Parámetros Físicos del Suelo		Observaciones
			Concentración de Plomo (mg/kg)		pH	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)	
			Inicial	Final				
02-10-2017	T1	R _{3,1}	1122.22	785.5	4.40	22%	33%	
02-10-2017		R _{3,2}	1122.22	774.6	4.39	22%	33%	
02-10-2017		R _{3,3}	1122.22	815.9	4.40	22%	33%	
06-10-2017	T2	R _{6,1}	1122.22	840.7	4.42	22%	33%	
06-10-2017		R _{6,2}	1122.22	852.4	4.37	22%	33%	
06-10-2017		R _{6,3}	1122.22	815.5	4.40	22%	33%	
11-10-2017	T3	R _{9,1}	1122.22	915.4	4.39	22%	33%	
11-10-2017		R _{9,2}	1122.22	793.3	4.47	22%	33%	
11-10-2017		R _{9,3}	1122.22	840.3	4.39	22%	33%	

Fuente: Elaboración propia.

Plomo en el suelo

Cuadro 10. Prueba de ANOVA en el parámetro de Plomo en el suelo

	Grado de Libertad	Suma de Cuadros	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
Tratamientos	2	5 460,43556	2 730,21778	1,78	0,2475
Error	6	9 213,20667	1 535,53444		
Suma Total	8	14 673,64222			

Coefficiente de Variabilidad = 4,74

Fuente: Elaboración Propia

Cuadro 11. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de Plomo en el suelo

Duncan Grouping	Promedio	N	TRT
A	849,67	3	T3
A	836,20	3	T2
A	792,00	3	T1

Se obtuvo que los tratamientos no son significativos, pero influye positivamente, porque al someterse a la prueba de contraste de Duncan se encontró que efectivamente hay diferencias; ya que el tratamiento uno (T1) es mejor, seguido del tratamiento dos (T2) y luego el tratamiento tres (T3); lo que significa que la concentración de Plomo (Pb) en el suelo es de 792,00 mg/kg.

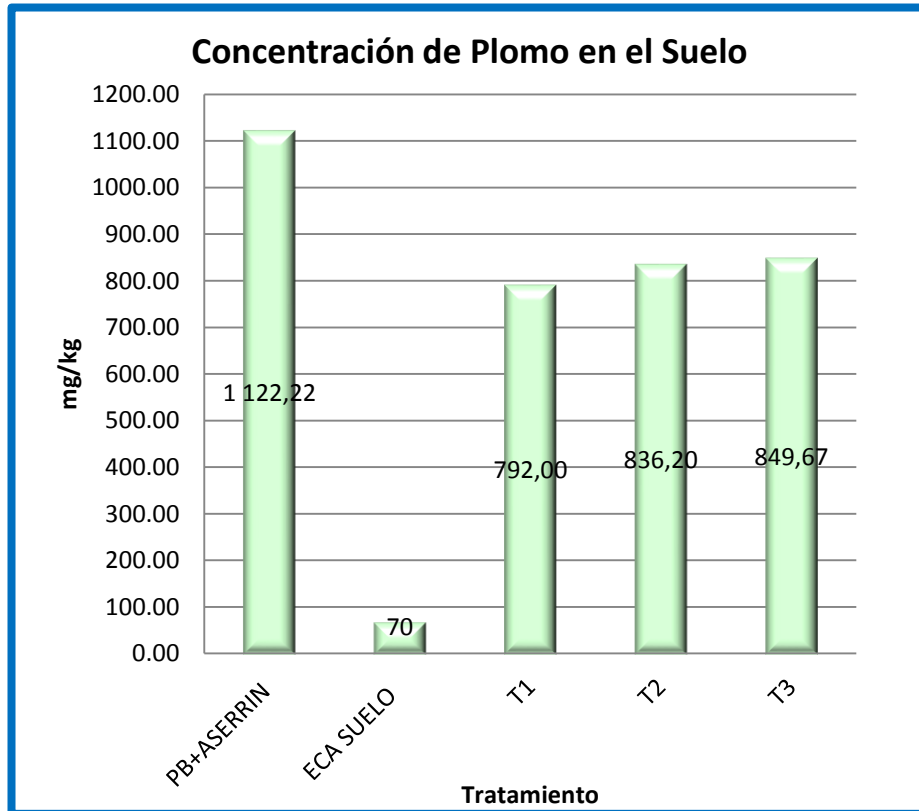
Hipotesis General:

H0: La eficiencia del hongo *pleurotus ostreatus* no es alta para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio – 2017.

H1: La eficiencia del hongo *pleurotus ostreatus* es alta para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio – 2017.

Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna porque influye positivamente, ya que los datos numéricos nos de muestras que hay una eficiencia en cuanto el uso del hongo *Pleurotus ostreatus* para biorremediar el suelo con plomo.

Gráfico 3. Concentración de Plomo en el Suelo



Fuente: Elaboración Propia

En el Cuadro N°3 se puede observar que la concentración de Plomo es menor en el Tratamiento (T1) teniendo en el suelo 792,00 mg/kg a diferencia de la muestra compuesta (Pb+Aserrín) la cual contenía en un inicio 1 122,22 mg/kg de Plomo en el suelo. Si bien no se llegó al ECA para suelo Agrícola, hubo una disminución significativa en un 29,4%.

Plomo en hongo *Pleurotus ostreatus*

Cuadro 12. Prueba de ANOVA en el parámetro de Plomo en *Pleurotus ostreatus*

	Grado de Libertad	Suma de Cuadros	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
Tratamientos	2	83,546 667	41,773 333	0,22	0,8096
Error	6	1 145,333 333	190,888 889		
Suma Total	8	1 228,880 000			

Coefficiente de Variabilidad = 22,33

Fuente: Elaboración Propia

Cuadro 13. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de Plomo en *Pleurotus ostreatus*

Duncan Grouping	Promedio	N	TRT
A	65,13	3	T1
A	62,67	3	T2
A	57,80	3	T3

Fuente: Elaboración Propia

Se obtuvo que los tratamientos no son significativos, pero influye positivamente, porque al someterse a la prueba de contraste de Duncan se encontró que efectivamente hay diferencias; y que el tratamiento uno (T1) es mejor, seguido del tratamiento dos (T2) y luego el tratamiento tres (T3); lo que significa que la concentración de absorción de Plomo (Pb) por el trigo inoculado con el hongo *Pleurotus ostreatus* es de 65,13 mg/kg.

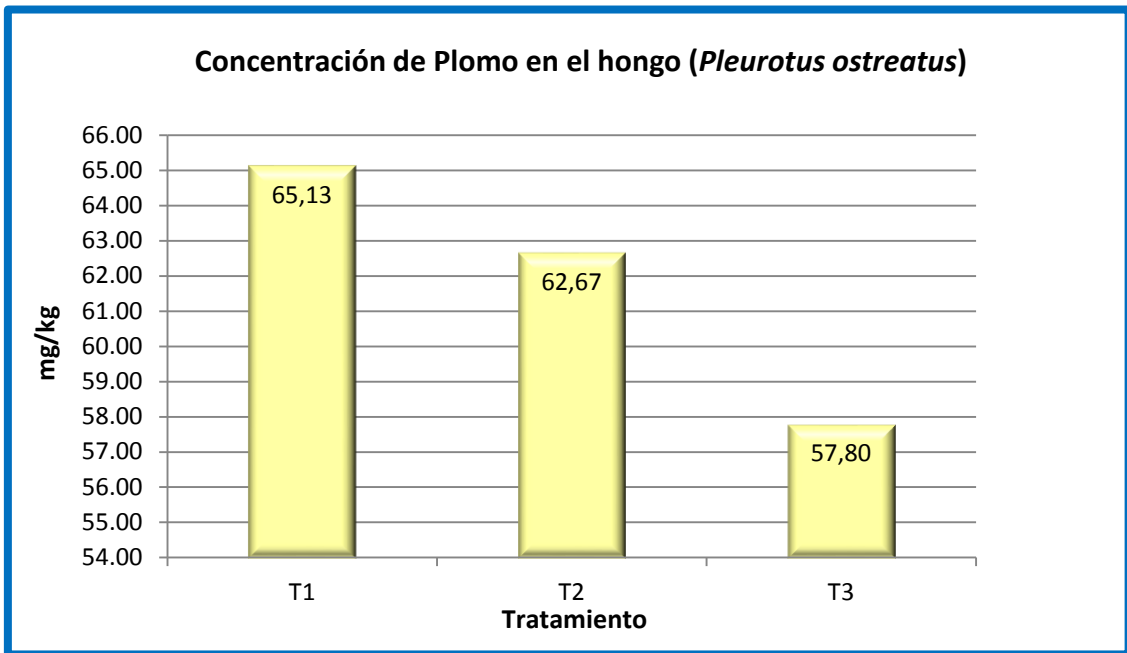
Hipótesis Específicas:

H0: Las propiedades físicas favorecen de manera negativa para biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb)

H1: Las propiedades físicas favorecen de manera positiva para biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb)

Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna, ya que las propiedades físicas como el plomo en el trigo inoculado es positivo, porque los datos numéricos nos demuestran que hay un resultado positivo en cuanto al uso del hongo *Pleurotus ostreatus* para biorremediar el suelo con plomo.

Gráfico 4. Concentración de Plomo en el hongo (*Pleurotus ostreatus*)



Fuente: Elaboración Propia

En el Cuadro N°4 se puede observar que la concentración de Plomo es mayor en el Tratamiento (T1) teniendo la semilla 65,13 mg/kg de absorción siendo la más significativa del tratamiento, y asignándola como la más eficiente; el T1 consta de la presencia de 3 semillas en el suelo contaminado por petróleo; seguido del tratamiento (T2) el segundo en la mejora de la absorción del suelo contaminado con una absorción en la semilla de 62,67 mg/kg y siendo el tratamiento (T3) el de menor absorción con 57,80 mg/kg

Diámetro de Colonia

Cuadro 14. Prueba de ANOVA en el parámetro de diámetro de colonia en el día 4 - 02/10/2017

	Grado de Libertad	Suma de Cuadros	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
Tratamientos	2	16,031 022 22	8,015 511 11	3,83	0,0846
Error	6	12,540 933 33	2,090 155 56		
Suma Total	8	28,571 955 56			

Coefficiente de Variabilidad = 11,41

Fuente: Elaboración Propia

Cuadro 15. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 4 – 02/10/2017

Duncan Grouping	Promedio	N	TRT
A	14,480	3	T1
A	12,193	3	T3
A	11,313	3	T2

Fuente: Elaboración Propia

Se obtuvo que los tratamientos no son significativos, pero influye positivamente, porque al someterse a la prueba de contraste de Duncan se encontró que efectivamente hay diferencias; y que el tratamiento uno(T1) es mejor, seguido del tratamiento dos(T2) y luego el tratamiento tres(T3); lo que significa que el diámetro de crecimiento en la absorción de Plomo (Pb) por *Pleurotus ostreatus* es de 14.48mm

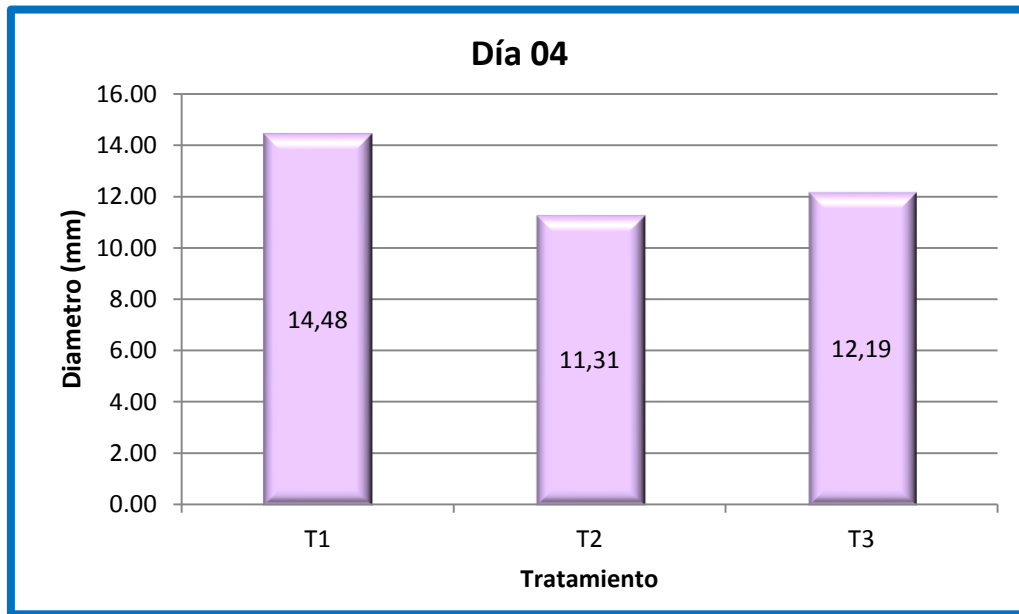
Hipótesis Específicas:

H0: La dosis evaluará si la capacidad de biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb) podrá ser menor al 25%.

H1: La dosis evaluará si la capacidad de biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb) podrá ser mayor al 25%.

Por lo tanto, se acepta la hipótesis alterna, ya que la dosis que se aplica en el tratamiento se refleja en el diámetro de crecimiento del trigo inculado con *Pleurotus ostreatus* dando así un resultado positivo, con un porcentaje de 29.4% de remoción de Plomo en el suelo contaminado.

Gráfico 5. Diámetro de Colonia del día 4 – 02/10/2017



Fuente: Elaboración Propia

A los cuatro días de iniciar el tratamiento se presencié el crecimiento del hongo *pleurotus ostreatus*. Teniendo el T1 con 14,48 mm siendo muy significativo en cuanto a la absorción de Plomo, contiene 3 semillas de trigo pelado con *Pleurotus ostreatus* por cada repetición que se realizó, seguido del T3 con 12,19 mm siendo significativo en cuanto a la absorción de Plomo, contiene 9 semillas de trigo pelado con *Pleurotus ostreatus* por cada repetición que se realizó. Y el T2 con 11,31 mm siendo no tan significativo para la absorción

Cuadro 16. Prueba de ANOVA en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 8 – 06/10/2017

	Grado de Libertad	Suma de Cuadros	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
Tratamientos	2	6,386 688 89	3,193 344 44	1,81	0,2421
Error	6	10,566 133 33	1,761 022 22		
Suma Total	8	16,952 822 22			

Coefficiente de Variabilidad = 8,97

Fuente: Elaboración Propia

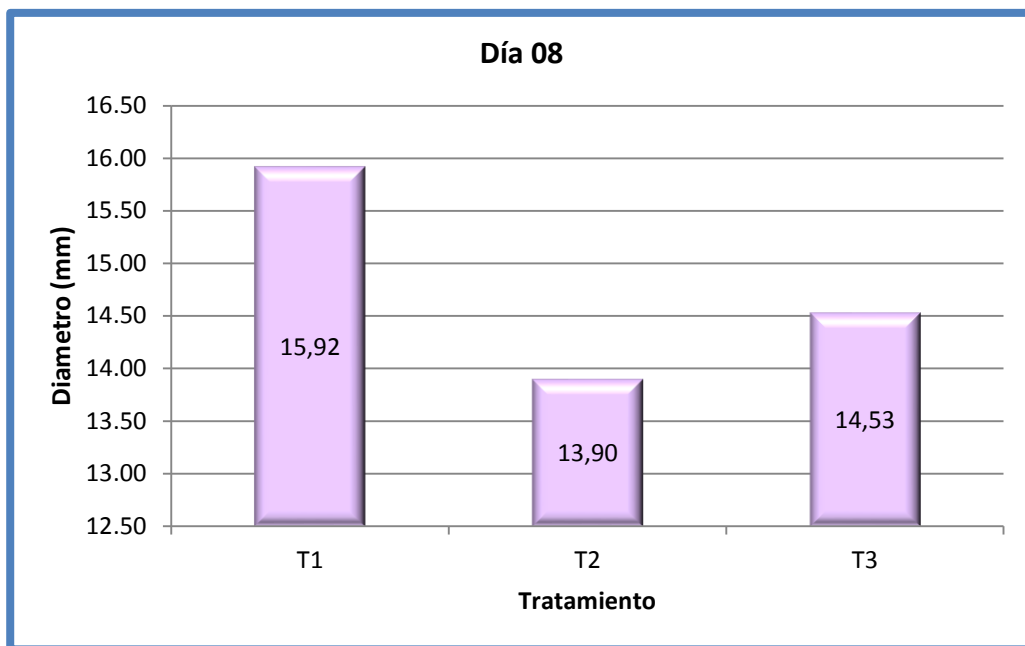
Cuadro 17. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 8 – 06/10/2017

Duncan Grouping	Promedio	N	TRT
A	15,920	3	T1
A	14,533	3	T3
A	13,903	3	T2

Fuente: Elaboración Propia

Se obtuvo que los tratamientos no son significativos, pero influye positivamente, porque al someterse a la prueba de contraste de Duncan se encontró que efectivamente hay diferencias; y que el tratamiento uno (T1) es mejor, seguido del tratamiento dos (T2) y luego el tratamiento tres (T3); lo que significa que el diámetro de crecimiento en la absorción de Plomo (Pb) por *Pleurotus ostreatus* es de 15,92mm y el de menor absorción es el tratamiento 2 con 13,90 mm.

Gráfico 6. Diámetro de Colonia del día 8 – 06/10/2017



Fuente: Elaboración Propia

A los ocho días de iniciar el tratamiento se presencié el crecimiento del hongo *pleurotus ostreatus*. Teniendo el T1 con 15,92 mm siendo muy significativo en cuanto a la absorción de Plomo, contiene 3 semillas de trigo pelado con *Pleurotus ostreatus* por cada repetición que se realizó, seguido del T3 con 14,43 mm siendo significativo en cuanto a la absorción de Plomo, contiene 9 semillas de trigo pelado con *Pleurotus ostreatus* por cada repetición que se realizó. Y el T2 con 13,90 mm siendo no tan significativo para la absorción

Cuadro 18. Prueba de ANOVA en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 12 – 11/10/2017

	Grado de Libertad	Suma de Cuadros	Cuadrado Medio	F Value	Pr > F
Tratamientos	2	20,042 022 22	10,021 011 11	8,42	0,0181
Error	6	7,140 266 67	1,190 044 44		
Suma Total	8	27,182 288 89			

Coficiente de Variabilidad = 7,02

Fuente: Elaboración Propia

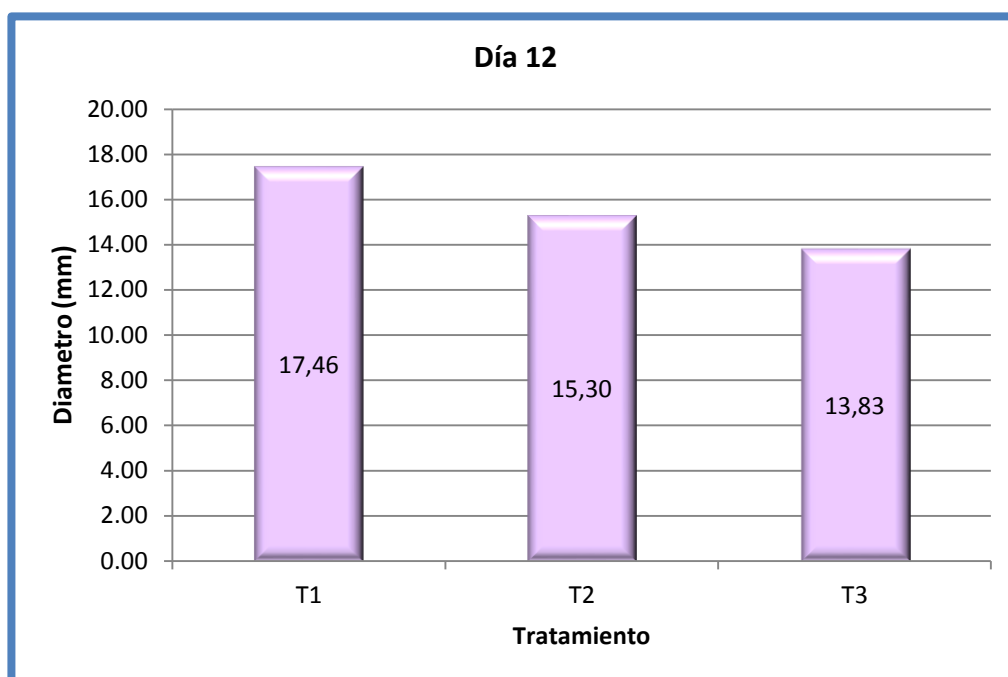
Cuadro 19. Prueba de contraste de Duncan en el parámetro de diámetro de colonia en el Día 12 – 11/10/2017

Duncan Grouping	Promedio	N	TRT
A	17,463	3	T1
A	15,300	3	T2
A	13,830	3	T3

Fuente: Elaboración Propia

Se obtuvo que los tratamientos no son significativos, pero influye positivamente, porque al someterse a la prueba de contraste de Duncan se encontró que efectivamente hay diferencias; y que el tratamiento uno(T1) es mejor, seguido del tratamiento dos(T2) y luego el tratamiento tres(T3); lo que significa que el diámetro de crecimiento en la absorción de Plomo (Pb) por *Pleurotus ostreatus* es de 17,46 mm y el de menor absorción es el tratamiento 3 con 13,83 mm.

Gráfico 7. Diámetro de Colonia del día 12 – 11/10/2017



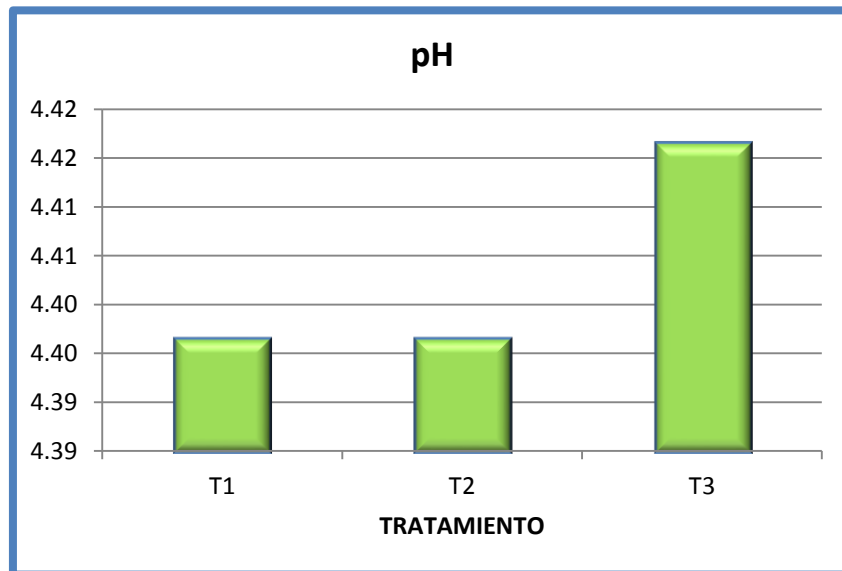
Fuente: Elaboración Propia

A los doce días de iniciar el tratamiento se presencié el crecimiento del hongo *pleurotus ostreatus*. Teniendo el T1 con 17,26 mm siendo muy significativo en cuanto a la absorción de Plomo, contiene 3 semillas de trigo pelado con *Pleurotus ostreatus* por cada repetición que se realizó, seguido del T2 con 13.5 mm siendo significativo en cuanto a la absorción de Plomo, contiene 9 semillas de trigo pelado con *Pleurotus ostreatus* por cada repetición que se realizó. Y el T2 con 11,31 mm siendo no tan significativo para la absorción.

pH

Para que *Pleurotus ostreatus* crezca se han citado rangos de crecimiento entre 4 y 7 de pH, siendo un óptimo entre 5 y 6 (Sánchez, 2001, 59 p.). En los ensayos que se realizaron, no parece mostrar un resultado negativo significativo en el suelo a pesar que el tratamiento tres es mejor seguido del tratamiento dos y tres. Lo que significa que el tratamiento tres es de 4.42 y el menor es de tratamiento uno y dos con 4.40.

Gráfico 8. pH



Fuente: Elaboración Propia

Humedad

El contenido de humedad del sustrato influye de forma directamente sobre el desarrollo del hongo *Pleurotus ostreatus*, ya que afecta a la disponibilidad de los nutrientes. La humedad que presenta el suelo en un estado inicial el suelo es diferente, a la humedad que se tiene en el tratamiento, ya que este suelo fue hidratado alcanzando una humedad al 33%.

IV. DISCUSIÓN

La eficiencia del hongo *Pleurotus ostreatus* es alta para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb).

En el presente trabajo se pudo evaluar la eficiencia del hongo *Pleurotus ostreatus* al analizar el suelo contaminado con Plomo, el cual dio un resultado positivo teniendo una concentración de Plomo (Pb) en el suelo de 792,00 mg/kg menor a la inicial, dando así una eficiencia del 29.4% de remoción de Plomo en el suelo contaminado con relave minero y suplementado con aserrín. **Rosales (2008)** al hacer uso de *Pleurotus ostreatus* inoculado en semilla de sorgo de suelos contaminados con aceites lubricantes automotrices usados teniendo como resultado a los 15 días 14.4% de remoción y a los 30 días 17.8% de remoción. A pesar de no ser el mismo suelo, no comparto la idea en cuanto a la eficiencia del uso de *Pleurotus ostreatus* ya que al analizar el mismo metal y teniendo menos tiempo de tratamiento, los resultados del presente trabajo tienen una eficiencia más significativa empleando el uso de *Pleurotus ostreatus* inoculado en semilla de trigo pelado.

Las propiedades físicas favorecen de manera positiva para biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb).

Los resultados del presente trabajo en cuanto a las propiedades físicas favorecen de manera positiva, ya que el diámetro del hongo *Pleurotus ostreatus* determina la absorción en el suelo contaminado, siendo así el T1 los más eficientes en los días de medición 4, 8 y 12. Por lo cual la absorción de plomo en el trigo se da en el tratamiento T1 con 65.13 mg/kg en el hongo *Pleurotus ostreatus*. Comparto con **Sifuentes (2014)** que realiza el empleo de *Pleurotus ostreatus* en suelos contaminados con Hidrocarburos de petróleo, para cuantificar el crecimiento del diámetro para la biorremediación, con lo cual obtuvo como resultado crecimiento sin suplementos de 2.20 cm y con aserrín 2.17 cm. Sin embargo los resultados del presente trabajo revelo que

el crecimiento de *Pleurotus ostratus* también se puede dar en suelos contaminados con Plomo

El tratamiento evaluará si la capacidad de biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb) podrá ser mayor al 25%.

De acuerdo al presente trabajo mediante los tratamientos se pudo evaluar la capacidad de biorremediación dando como resultado en el suelo un 29.4% de remoción de Plomo en el suelo contaminado con relave minero y suplementado con aserrín. **Coello (2011)** aplica el uso de *Pleurotus ostreatus* como alternativa para biorremediar suelos contaminados con metales, y obtuvo mayor efectividad en la remoción de Co, Cd y menor para el Pb, Cu; llegando a demostrar el rendimiento de la biorremediación como método de limpieza de suelos contaminados por metales pesados y demuestra la viabilidad con el hongo *Pleurotus ostreatus*. Los resultados obtenidos en el presente trabajo también tuvieron efectividad en la remoción de Plomo (Pb) con la finalidad de que se puedan realizar más estudios empleando el hongo *Pleurotus ostreatus* en suelos contaminados con relave y poder seguir determinando la biorremediación en otros metales.

V. CONCLUSIONES

- Conforme a los resultados alcanzados se evaluó la capacidad que tiene el hongo *Pleurotus ostreatus* para biorremediar suelo contaminado con Plomo, la biorremediación se logró mediante la reducción de concentración de Plomo en el suelo siendo el tratamiento T1 el más efectivo con 792.00 mg/kg reduciendo así en un 29.4% de plomo en el suelo.
- Se determinó la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante el diámetro que alcanza cada tratamiento y comprobándolo con la cantidad de Plomo en el hongo *Pleurotus ostreatus*, obteniendo como resultado el diámetro eficiente el tratamiento T1 en cada día de medición; en el día 4 el T1 con 14.48 mm, en el día 8 el T1 con 15.92 mm, en el día 12 el T1 con 17.46 mm y la cantidad de Plomo en el hongo de 65.13 mg/kg.
- Se calculó la capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para biorremediar el suelo mediante dosis de cada tratamiento y en un determinado tiempo, siendo el más eficiente el T1 con una dosis de 3 semillas inoculadas con el hongo *Pleurotus ostreatus* y en 4, 8 y 12 días de la colonización del suelo.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda extender los días de tratamiento, ya que en 12 días la cantidad de Plomo por la absorción del hongo *Pleurotus ostreatus* no llego a resultados mínimos en cuanto al ECA de suelo, pero si hubo una disminución significativa.
- Se recomienda optimizar la humedad o un sistema de regadío en los tratamientos del suelo contaminado con aserrín y relave minero, para prolongar el crecimiento del micelio en el suelo. Más aún cuando se use el aserrín como suplemento debido a que es seco y por su naturaleza absorbe humedad.
- Determinar otros metales que contenga el suelo, para evaluar la eficiencia del hogo, medir el nivel de degradación haciendo uso de los tratamientos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CASTILLO, F. Biotecnología Ambiental [en línea]. Madrid, España: Tébar, 2005 [fecha de consulta: 17 de Mayo de 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=19ffPAm3E3kC&pg=PA366&dq=bioremediaci%C3%B3n&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwigheixvTAhVC7yYKHb4xBD8Q6AEITAA#v=onepage&q=bioremediaci%C3%B3n&f=true>. p. 616
 - a. ISBN: 978-84-7360-211-2.
2. CONTRERA. I. 2015. B1-503 Cultivo y bioaplicaciones del hongo Pleurotus Ostreatus [fecha de consulta: 11 de Mayo de 2017]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/52639/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1 p. 6
3. CRUZ, M. La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales. [en línea]. España: 2007 [fecha de consulta: 17 de Mayo de 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=KPcJltVcQRoC&pg=PA54&dq=metales+pesados+en+el+suelo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwih9_CO0fvTAhVBMMyYKHajRjBG0Q6AEIJzAB#v=onepage&q=metales%20pesados%20en%20el%20suelo&f=true p. 251
 - a. ISBN: 978-84-472-0926-2
4. FRAZAR, Chris. 2000. The Bioremediation and Phytoremediation of Pesticide – contaminated Sites. Prepared for U.S Environmental protection Agency. Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office. Washington, DC [en línea]. <https://clu-in.org/download/studentpapers/Frazar.pdf> p. 55
5. Kurtzman, R. 2005. Oyster Mushroom cultivation [en línea]. [fecha de consulta: 14 Octubre 2017]. Disponible en: <http://www.oystermushrooms.net/front.htm>
6. MARTIN, Carmen., GONZÁLES, Aldo. & BLANCO, Maria. 2004. Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. Revista Iberoamericana de Micología. 21: 103-120

7. ORTIZ, Irene, SANZ, Juana, DORADO, Miriam. & VILLAR, Susana. Técnicas de recuperación de suelos contaminados, 2007. Universidad de Alcalá. España. p. 108
8. Revista Iberoamericana de Micología [en línea]: Madrid, España: Ramiro de Maeztu, 2004 – [fecha de consulta: 14 de Octubre de 2017]. Disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2004-21/103120.pdf>
9. Rivas, G., Gutierrez, S. y Merino, F. 2002. Bioremoción de plomo en solución por *Pseudomonas Fluorescens* M1A-4S aisladas de ambientes minero. Lab. de Microbiología y Biotecnología Microbiana de la Facultad de C.C.B.B UNMSM
10. SÁNCHEZ Vázquez, José y ROYSE, Daniel. La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* 2001. Mexico
11. SAUCEDO, E. Suelos contaminados con elementos Potencialmente Tóxicos Un nuevo método de detección. [en línea]. 2014 [fecha de consulta: 17 de Mayo de 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=qRXVBQAAQBAJ&pg=PT36&dq=plomo+en+el+suelo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiRpKeL1fvTAhWLOSYPKHbUvAZQQ6AEIUzAJ#v=onepage&q&f=true> p. 27-28
 - a. ISBN: 978-1-4633-9696-1
12. SCHMIDT, W. Suelos contaminados con hidrocarburos: la biorremediación como una solución ecológicamente compatible, 2000. Cooperación Técnica Alemana (GTZ). En: http://www.ingenieroambiental.com/3021/Bioremed_Mex2.pdf p.7
13. SHARMA, V.P. y KUMAR, Satish. 2011. Spawn Production Technology. En: Mushrooms Cultivation, Marketing and Consumption. India. 274 p.
14. STAMETS, P. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, 1993. 586 p. ISBN: 0-89815-608-4
15. STAMETS, P. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms. Toronto, 2000. En: http://library.uniteddiversity.coop/Permaculture/Growing_Gourmet_and_Medicinal_Mushrooms.pdf

16. SULLIA, S. Fungal Diversity and Bioremediation 2003
http://fbae.org/2009/FBAE/website/special-topics_student_zone_fungal_diversity_and_bioremediat.html p.17
17. VIGNOTE Peña, Santiago y MARTÍNEZ Rojas, Isaac. Tecnología de la madera [en línea]. 3ed, Madrid: Mundi-Prensa [fecha de consulta: 14 de Octubre de 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=Jn-sFcOqCzwC&pg=PA5&hl=es&source=gbs_selected_pages&cad=2#v=onepage&q=alteraci%C3%B3n%20&f=true
 a. ISBN: 84-8476-263-7

Citas bibliograficas

1. CASTILLO, F.et. Biotecnología Ambiental [en línea]. Madrid, España: Tébar, 2005 [fecha de consulta: 17 Mayo 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=19ffPAm3E3kC&pg=PA366&dq=bioremediaci%C3%B3n&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwigheixvTAhVC7yYKHb4xBD8Q6AEIITAA#v=onepage&q=bioremediaci%C3%B3n&f=true>. p. 366
 ISBN: 978-84-7360-211-2.
2. CONTRERA. I. 2015. B1-503 Cultivo y bioaplicaciones del hongo Pleurotus Ostreatus [fecha de consulta: 11 Mayo 2017]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/52639/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1 p.1
3. CRUZ, M. La contaminación de suelos y aguas.Su prevención con nuevas sustancias naturales. [en línea]. España: 2007 [fecha de consulta: 17 Mayo 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=KPcJltVcQRoC&pg=PA54&dq=metales+pesados+en+el+suelo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwih9_CO0fvTAhVBMMyYKHajRBRG0Q6AEIJzAB#v=onepage&q=metales%20pesados%20en%20el%20suelo&f=true p. 52
 ISBN: 978-84-472-0926-2

4. FRAZAR, Chris. 2000. The Bioremediation and Phytoremediation of Pesticide – contaminated Sites. Prepared for U.S Environmental protection Agency. Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office. Washington, DC [en línea]. <https://clu-in.org/download/studentpapers/Frazar.pdf> p. 11
5. MARTIN, Carmen., GONZÁLES, Aldo. & BLANCO, Maria. 2004. Tratamientos biológicos de suelos contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de hongos en tratamientos de biorrecuperación. Revista Iberoamericana de Micología. 21: 103-120. p.32
6. ORTIZ, Irene, SANZ, Juana, DORADO, Miriam. Y VILLAR, Susana. Técnicas de recuperación de suelos contaminados, 2007. Universidad de Alcalá. España. Disponible en: https://www.madrimasd.org/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/vt/vt6_tecnicas_recuperacion_suelos_contaminados.pdf p. 10
7. Rivas, G., Gutierrez, S. y Merino, F. 2002. Bioremoción de plomo en solución por *Pseudomonas Fluorescens* M1A-4S aisladas de ambientes minero. Lab. de Microbiología y Biotecnología Microbiana de la Facultad de C.C.B.B UNMSM
8. SAUCEDO, E. Suelos contamiandos con lementos Potencialmente Tóxicos Un nuevo método de detección. [en línea]. 2014 [fecha de consulta: 17 Mayo 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=qRXVBQAAQBAJ&pg=PT36&dq=plomo+en+el+suelo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiRpKeL1fvTAhWLOSYPKHbUvAZQQ6AEIUzAJ#v=onepage&q&f=true> p. 38
ISBN: 978-1-4633-9696-1
9. SÁNCHEZ Vázquez, José y ROYSE, Daniel. La biología y el cultivo de *Pleurotus spp.* 2001. Mexico. p. 87
10. STAMETS, P. Growing Gourmet and Medicinal Mushrooms, 1993. p.280
ISBN: 0-89815-608-4
11. SHARMA, V.P. y KUMAR, Satish. 2011. Spawn Production Technology. En: Mushrooms Cultivation, Marketing and Consumption. India. p. 31

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Instrumentos - Ficha de recojo de Información de campo

TÍTULO: "Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017"				
Responsable: Apellidos y Nombre	Firma	Correo	Tipo de Fuente	Ubicación
Zegarra Minaya Regina Enith		reginazm@25gmail.com	Industrial	Laboratorio

Variable Independiente: Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i>											
Fecha	Código de Muestra		Propiedades Físicas		Dosis						Observaciones
			Diámetro de Colonia (mm)	Plomo en trigo inoculado (mg/kg)	Grano/placa			Tiempo (días)			
					3	6	9	4	8	12	

Fuente: Elaboración propia

TÍTULO: "Capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017"				
Responsable: Apellidos y Nombre	Firma	Correo	Tipo de Fuente	Ubicación
Zegarra Minaya Regina Enith		reginazm@25gmail.com	Industrial	Laboratorio

Variable Dependiente: Biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb)								
Fecha	Código de Muestra		Parámetros Químicos del Suelo			Parámetros Físicos del Suelo		Observaciones
			Concentración de Plomo (mg/kg)		pH	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)	
			Inicial	Final				

Fuente: Elaboración propia

Anexo 2: Validación de Instrumentos



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y Nombres del validador: Dr./Mg: Delgado Arenas, Antonio Leonardo
- 1.2. Cargo e institución donde labora: Coord de Investigación de la EP de Sag. Amb
- 1.3. Especialidad del validador: Ing Químico - Hidrología
- 1.4. Nombre del instrumento: Ficha de Observación
- 1.5. Título de la investigación: Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la bioremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017
- 1.6. Autor del instrumento: Zegura Minaya, Regina Guith

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

CRITERIOS	INDICADORES	Deficiente 00-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy buena 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Esta formulado con lenguaje apropiado y específico.					90%
2. Objetividad	Esta expresado en conductas observables.					90%
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología.					90%
4. Organización	Existe una organización lógica.					90%
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad.					90%
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos de las estrategias.					90%
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos					90%
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores y dimensiones.					90%
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico.					90%
10. Pertinencia	El instrumento es funcional para el propósito de la investigación.					90%
PROMEDIO DE VALIDACIÓN						90%



III. PERTINENCIA DE LOS ÍTEMS O REACTIVOS DEL INSTRUMENTO

PRIMERA VARIABLE: Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus*

DIMENSION	INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE
Propiedades Físicas	Variación de Peso	✓		
	Variación de Tamaño	✓		
Tratamiento	Dosis	✓		
	Tiempo	✓		

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 90 %.

- El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado
 El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

San Juan de Lurigancho, 24 de Noviembre del 2017

Firma del experto informante.

DNI N° 29631642 Teléfono N° 999106180



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y Nombres del validador: Dr./Mg: Delgado Arenas, Antonio Leonardo
 1.2. Cargo e institución donde labora: Coord de Investigación de la EP de Sag. Amb
 1.3. Especialidad del validador: Ing Químico - Perú de Lege
 1.4. Nombre del instrumento: Ficha de Observación
 1.5. Título de la investigación: Capacidad del hongo Pleurotus ostreatus para la bioremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017
 1.6. Autor del instrumento: Figueroa Minaya, Regina Smith

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

CRITERIOS	INDICADORES	Deficiente 00-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy buena 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Esta formulado con lenguaje apropiado y específico.					90%
2. Objetividad	Esta expresado en conductas observables.					90%
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología.					90%
4. Organización	Existe una organización lógica.					90%
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad.					90%
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos de las estrategias.					90%
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos					90%
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores y dimensiones.					90%
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico.					90%
10. Pertinencia	El instrumento es funcional para el propósito de la investigación.					90%
PROMEDIO DE VALIDACIÓN						90%



VII. PERTINENCIA DE LOS ÍTEMS O REACTIVOS DEL INSTRUMENTO

SEGUNDA VARIABLE: Biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb)

DIMENSION	INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE
Parámetros Químicos	Espectrometría de Absorción Atómica	✓		
	pH	✓		
Parámetros Físicos	Temperatura	✓		
	Humedad Relativa	✓		

VIII. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 90 %.

- El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado
 El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

San Juan de Lurigancho,..... de..... del 201....

Firma del experto informante.

DNI N° 2967642 Teléfono N° 999106180



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y Nombres del validador: Dr./Mg: GAMARRA CHAVARRY, LUIS FELIPE
- 1.2. Cargo e institución donde labora: DIRECTOR SENAMHI - DOCENTE UCV
- 1.3. Especialidad del validador: INGENIERO GEOGRAFO - ECONOMISTA
- 1.4. Nombre del instrumento: _____
- 1.5. Título de la investigación: _____
- 1.6. Autor del instrumento: _____

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

CRITERIOS	INDICADORES	Deficiente 00-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy buena 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Esta formulado con lenguaje apropiado y específico.					90
2. Objetividad	Esta expresado en conductas observables.					90
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología.					90
4. Organización	Existe una organización lógica.					90
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad.					90
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos de las estrategias.					90
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos					90
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores y dimensiones.					90
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico.					90
10. Pertinencia	El instrumento es funcional para el propósito de la investigación.					90
PROMEDIO DE VALIDACIÓN						90



III. PERTINENCIA DE LOS ÍTEMS O REACTIVOS DEL INSTRUMENTO

PRIMERA VARIABLE: Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus*

DIMENSION	INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE
Propiedades Físicas	Variación de Peso	✓		
	Variación de Tamaño	✓		
Tratamiento	Dosis	✓		
	Tiempo	✓		

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 90 %.

- () El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado
(x) El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

San Juan de Lurigancho, 07 de DICIEMBRE del 2017.


Firma del experto informante.

DNI N° 10228440 Teléfono N° 952872387



VII. PERTINENCIA DE LOS ÍTEMS O REACTIVOS DEL INSTRUMENTO

SEGUNDA VARIABLE: Biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb)

DIMENSION	INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE
Parámetros Químicos	Espectrometría de Absorción Atómica	✓		
	pH	✓		
Parámetros Físicos	Temperatura	✓		
	Humedad Relativa	✓		

VIII. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 90 %.

- () El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado
(X) El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

San Juan de Lurigancho, D.Y. de DI CIEMBRE del 2017.


Firma del experto informante.

DNI N° 10228440 Teléfono N° 952872387



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN

I. DATOS GENERALES:

- 1.1. Apellidos y Nombres del validador: Dr./Mg: Alejandra Sáenz Alvarado PhD
- 1.2. Cargo e institución donde labora: UCV - LAMZ - ESTE
- 1.3. Especialidad del validador: Jy. Química
- 1.4. Nombre del instrumento: Ficha de Observación
- 1.5. Título de la investigación: Capacidad del humo Plástico estructural para la bioremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - IET
- 1.6. Autor del instrumento: Zegarra Mancayo, Regina.

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN:

CRITERIOS	INDICADORES	Deficiente 00-20%	Regular 21-40%	Buena 41-60%	Muy buena 61-80%	Excelente 81-100%
1. Claridad	Esta formulado con lenguaje apropiado y específico.					90
2. Objetividad	Esta expresado en conductas observables.					90
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología.					90
4. Organización	Existe una organización lógica.					90
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad.					90
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar aspectos de las estrategias.					90
7. Consistencia	Basados en aspectos teóricos-científicos					90
8. Coherencia	Entre los índices, indicadores y dimensiones.					90
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico.					90
10. Pertinencia	El instrumento es funcional para el propósito de la investigación.					90
PROMEDIO DE VALIDACIÓN						90%



III. PERTINENCIA DE LOS ÍTEMS O REACTIVOS DEL INSTRUMENTO

PRIMERA VARIABLE: Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus*

DIMENSION	INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE
Propiedades Físicas	Variación de Peso	✓		
	Variación de Tamaño	✓		
Tratamiento	Dosis	✓		
	Tiempo	✓		

IV. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 90 %.

- El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado
 El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

San Juan de Lurigancho, 06 de Diciembre del 2017


Firma del experto informante.

DNI N° 07106445 Teléfono N° 945-405-402



VII. PERTINENCIA DE LOS ÍTEMS O REACTIVOS DEL INSTRUMENTO

SEGUNDA VARIABLE: Biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb)

DIMENSION	INSTRUMENTO	SUFICIENTE	MEDIANAMENTE SUFICIENTE	INSUFICIENTE
Parámetros Químicos	Espectrometría de Absorción Atómica	✓		
	pH	✓		
Parámetros Físicos	Temperatura	✓		
	Humedad Relativa	✓		

VIII. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 90 %.

- El instrumento puede ser aplicado, tal como está elaborado
 El instrumento debe ser mejorado antes de ser aplicado.

San Juan de Lurigancho, 6 de Diciembre del 2017

Firma del experto informante.

DNI N° 07106495 Teléfono N° 945-405-402

Anexo 3 Matriz de Consistencia

“Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017”

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLE	MARCO CONCEPTUAL	OPERACIONALIZACIÓN DE LA VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Problema General ¿Cuál será la capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017?	Objetivo General Evaluar la capacidad del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.	Hipotesis General: La eficiencia del hongo <i>pleurotus ostreatus</i> es alta para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio – 2017.	Variable Independiente: CAPACIDAD DEL HONGO <i>Pleurotus ostreatus</i>	Los hongos de pudrición blanca tienen la habilidad de degradar los suelos contaminados, se consideran muy prometedores en su aplicación; poseen ventajas sobre las bacterias por el hecho de sus hifas que pueden penetrar el suelo contaminado y producir enzimas extracelulares que degradan los contaminantes. Los hongos son además, muy buenos en la acumulación de metales pesados como el plomo, ya que producen una enzima extracelular llamada lacasa, esta cataliza una reacción que degrada la lignina, un compuesto aromático. (Coello, J. 2011)	Se utilizó trigo pelado inoculado con <i>Pleurotus ostreatus</i> y se agregó a los platos petri con diferentes medios de cultivo SDA (Sabouraud Dextrose Agar) y para su multiplicación, mantenimiento y crecimiento micelial; se preparó los cultivos para cada medio de cultivo. A quienes se les incubaron a 25 °C por un fase de 7 días hasta que el micelio crezca y cubra el plato petri. El desarrollo se llevará a cabo cada dos semanas después del crecimiento total del micelio.	PROPIEDADES FÍSICAS	Diametro de Colonia	mm
							Plomo en trigo inoculado	mg/kg
						DOSIS	3	Grano/placa
							6	
9								
Tiempo	días							
Problemas Específicos ¿De qué manera las propiedades físicas tendrán la capacidad para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017? ¿Cómo influye la dosis en la capacidad de la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017?	Objetivos Específicos Determinar la capacidad de las propiedades físicas para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017. Calcular la capacidad de la dosis para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017.	Hipotesis Especificas: Las propiedades físicas favorecen de manera positiva para biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb). La dosis evaluará si la capacidad de biorremediar el suelo contaminado por Plomo (Pb) podrá ser mayor al 25%.	Variable Dependiente: BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR PLOMO (Pb)	La presencia en el suelo de concentraciones nocivas de algunos elementos químicos y compuestos se le denomina contaminación. Se considera contaminante aquel que en concentraciones mayores de las habituales generan un efecto adverso. El plomo es considerado una sustancia tóxica que no tiende a ser degradada. Se observa en los cuerpos de agua mediante los procesos industriales o por la extracción de minerales, siendo esta última el origen primario de la contaminación, daña la cadena alimenticia y genera la bioacumulación en organismos de la cadena trófica. Los parámetros químicos y físicos favorecerán para determinar cómo se encuentra el suelo contaminado por Plomo (Pb). (Rivas, G., Gutierrez, S. y Merino, F2002).	En cada punto de muestreo se recogerán muestras de suelo para analizar la presencia del metal. Se utilizará el equipo de Espectrometría de Absorción Atómica para cuantificar los metales pesados que se encuentran presentes. Se debe pulverizar con un mortero este suelo para que con el multiparametro se pueda medir; la temperatura (°C), humedad relativa (%) y pH.	PARÁMETROS QUÍMICOS DEL SUELO	Concentración de Plomo	mg/kg
							pH	-
						PARÁMETROS FÍSICOS DEL SUELO	Temperatura	°C
							Humedad Relativa	%

Anexo 4. Muestreo Zigzag

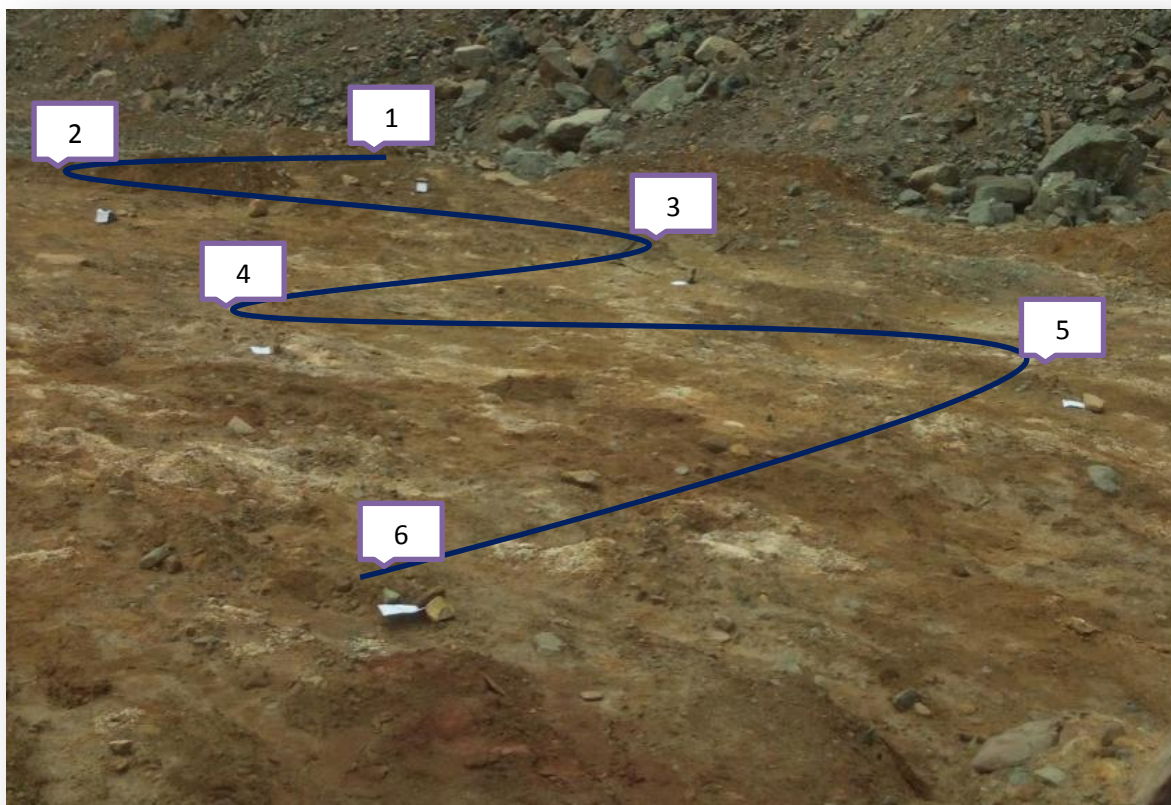


Figura 5. Puntos de Muestreo



Figura 6. Método de cuarteo de muestras



Figura 7. Homogenización de la muestra

Anexo 5. Resultado Inicial de Plomo – DELTALAB



Pág. 1/1

INFORME DE ENSAYO N° 1709050

Cliete : REGINA ENITH ZEGARRA MINAYA
Domicilio legal : Jr. Tahuantinsuyo N° 874 Zarate, San Juan de Lurigancho – Lima – Lima.
Producto : Suelo
Referencia del cliente : No Indica.
Procedencia de las muestras : Muestreado por el cliente indicando lugar de muestreo: Corcona – Lima – Lima.
Referencia del plan de muestreo : No Aplica.
Procedimiento de muestreo : No Aplica.
Fecha de recepción de las muestras : 2017/09/18
Fecha de inicio del ensayo : 2017/09/18
Fecha de término del ensayo : 2017/09/22

Método de Referencia	Ensayo	Límite de Detección del Método	Límite de Cuantificación del Método	Resultado	Unidad
APHA 3111 B	Plomo total (Pb)	1,00	3,00	1 107,72	mg/kg

Ensayo: Descripción del Método de Referencia:

Plomo: SMEWW - APHA – AWWA – WEF 3030 E, 3111 B. Direct Air - Acetylene Flame Method. 22nd Edition. 2012
EPA 3050 B. Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils.

Notas:

- Condición y estado de la muestra ensayada: Las muestras llegaron conservadas.
- Las muestras llegaron en frascos de polietileno.
- Las muestras se mantendrán por un periodo de 10 días luego entregado el informe de ensayo a excepción de las muestras perecibles.
- Toda corrección o enmienda física al presente informe de ensayo será emitido con la Declaración "Suplemento al informe de Ensayo"
- Estos resultados no deben ser utilizados como certificación de conformidad con normas del producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
- Resultados por debajo del límite de cuantificación del método son referenciales.
- La toma de muestras no ha sido acreditado por el INACAL-DA.


DELTA LAB S.A.C.
KETY NOELIA LEON PALOMINO
JEFE DE LAB. DE HIDROBIOLOGIA Y MICROBIOLOG.
CBP N° 8592

Lima, 22 de Setiembre del 2017.

Este informe no podrá ser reproducido total o parcialmente sin la autorización de DELTA LAB S.A.C.
Los resultados presentados corresponden solo a la muestra indicada

Av. Carretera Central Km. 9.3 Mz. "A" Lt. 6 As. Ntra. Sra. de La Merced - Ate - Lima 03 - PERÚ
Telefax: (511) 3560230 Celular: 947148233 Email: servicioalcliente@deltalabsac.com www.deltalabsac.com

Anexo 6. Informes de Ensayo del Laboratorio de Biotecnología - UCV

ENSAYO N° 10A-2017- II -TESIS

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA – UCV
INFORME DE RESULTADOS
SUELO


Empresa: Universidad Cesar Vallejo
Dirección: Av. Del parque 6ta cuadra, San Juan de Lurigancho , Lima
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Relave Minero
Identificación de la muestra: T1, T2, T3
Descripción de la muestra: pH en relave minero
Muestra tomada por: Regina Enith, Zegarra Minaya
Fecha de ingreso de muestra: 28 Setiembre del 2017
Lugar que se realizó el ensayo: Laboratorio de biotecnología -UCV
Fecha de realización de ensayos: 16 Noviembre del 2017

Tabla N° 1 Condiciones iniciales de relave minero

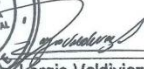
PARÁMETRO	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO		
			T1	T2	T3
Potencial de hidrógeno (pH)	Numérico	Metodo electrométrico, SM 4500 – H + B	3.40	3.42	3.39

Tabla N° 2 Condiciones finales de relave minero

PARÁMETRO	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO		
			T1	T2	T3
Potencial de hidrógeno (pH)	Numérico	Metodo electrométrico, SM 4500 – H + B	4.40	4.42	4.42


Daniel Neciosup Gonzales
Asistente Del Laboratorio De Biotecnología




Lorgio Valdiviezo Gonzales

ENSAYO N° 10B-2017- II -TESIS

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA – UCV
 INFORME DE RESULTADOS
 SUELO

Empresa:	Universidad Cesar Vallejo
Dirección:	Av. Del parque 6ta cuadra, San Juan de Lurigancho , Lima
Tipo de ensayos:	Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra:	Relave Minero
Identificación de la muestra:	T1, T2, T3
Descripción de la muestra:	Plomo en relave minero
Muestra tomada por:	Regina Enith, Zegarra Minaya
Fecha de ingreso de muestra:	14 Noviembre del 2017
Lugar que se realizó el ensayo:	Laboratorio de biotecnología -UCV
Fecha de realización de ensayos:	18 Noviembre del 2017

Tabla N° 3 Resultado final de Plomo en el suelo

PARÁMETRO	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO								
			T1			T2			T3		
			R3.1	R3.2	R3.3	R6.1	R6.2	R6.3	R9.1	R9.2	R9.3
Plomo Total (Pb)	mg/ kg	SMEWW – APHA – AWWA – WEF 3030 E, 3111 B. Direct Air – Acetylene Falme Method. 22nd Edition. EPA 3050. Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils	785.5	774.6	815.9	840.7	852.4	815.5	915.4	793.3	840.3

[Firma]

Daniel Neciosup Gonzales
 Asistente Del Laboratorio De Biotecnología



[Firma]

Mg. Lorgio Valdiviezo Gonzales


ENSAYO N° 10C-2017- II -TESIS

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA – UCV
 INFORME DE RESULTADOS
 SUELO

Empresa: Universidad Cesar Vallejo
Dirección: Av. Del parque 6ta cuadra, San Juan de Lurigancho , Lima
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Relave Minero
Identificación de la muestra: T1, T2, T3
Descripción de la muestra: Plomo en semilla inoculada con *Pleurotus ostreatus*
Muestra tomada por: Regina Enith, Zegarra Minaya
Fecha de ingreso de muestra: 14 de Noviembre del 2017
Lugar que se realizó el ensayo: Laboratorio de biotecnología - UCV
Fecha de realización de ensayos: 18 de Noviembre del 2017

Tabla N° 4 Resultado final de Plomo en el Semilla

PARÁMETRO	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO								
			T1			T2			T3		
			R3.1	R3.2	R3.3	R6.1	R6.2	R6.3	R9.1	R9.2	R9.3
Plomo Total (Pb)	mg/ kg	SMEWW – APHA – AWWA – WEF 3030 E, 3111 B. Direct Air – Acetylene Falme Method. 22nd Edition. EPA 3050. Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils	56.8	75.0	63.6	64.6	56.8	66.6	33.0	70.2	70.2



Daniel Neciosup Gonzales
 Asistente Del Laboratorio De Biotecnología




Mg. Lorgio Valdiviezo Gonzales

ENSAYO N° 10D-2017- II -TESIS

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA – UCV
INFORME DE RESULTADOS
SUELO

Empresa: Universidad Cesar Vallejo
Dirección: Av. Del parque 6ta cuadra, San Juan de Lurigancho , Lima
Tipo de ensayos: Análisis fisicoquímicos
Tipo de muestra: Relave Minero
Identificación de la muestra: ASERR
Descripción de la muestra: Plomo en aserrín
Muestra tomada por: Regina Enith, Zegarra Minaya
Fecha de ingreso de muestra: 14 Noviembre del 2017
Lugar que se realizó el ensayo: Laboratorio de biotecnología -UCV
Fecha de realización de ensayos: 18 Noviembre del 2017

Tabla N° 4 Resultado inicial de Plomo en aserrín

PARÁMETRO	UNIDADES	MÉTODO	RESULTADO
Plomo Total (Pb)	mg/ kg	SMEWW – APHA – AWWA – WEF 3030 E, 3111 B. Direct Air – Acetylene Falme Method. 22nd Edition. EPA 3050. Acid Digestion of Sediments, Sludges and Soils	14.50

Daniel Neciosup Gonzales
Asistente Del Laboratorio De Biotecnología

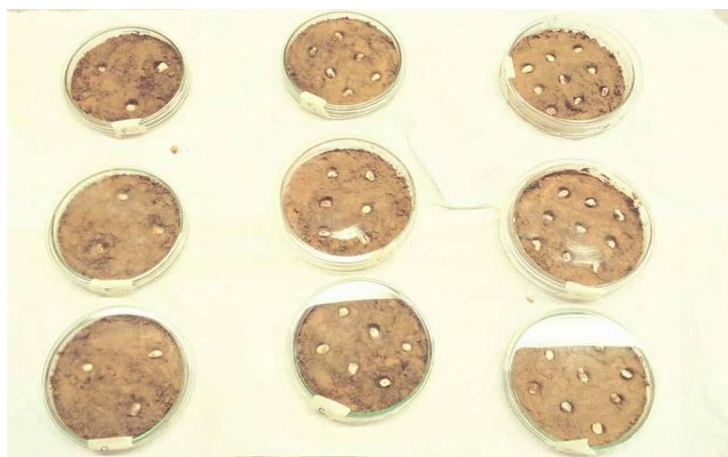


V. B. Benito Largo Valdiviezo Gonzales

Anexo 7. Trigo pelado inoculado con Pleurotus Ostreatus



Anexo 8. Muestra Pura



Anexo 9. Muestra Compuesta



Anexo 10. Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para suelo. D.S 002-2013-MINAM

El Peruano
Lima, lunes 25 de marzo de 2013

 **NORMAS LEGALES**

491497

AMBIENTE

Aprueban Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo

**DECRETO SUPREMO
N° 002-2013-MINAM**

EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA

CONSIDERANDO:

Que, el numeral 22 del artículo 2° de la Constitución Política del Perú establece que toda persona tiene derecho a gozar de un ambiente equilibrado y adecuado al desarrollo de su vida;

Que, según el artículo I del Título Preliminar de la Ley N° 28611, Ley General del Ambiente, toda persona tiene el derecho irrenunciable a vivir en un ambiente saludable, equilibrado y adecuado para el pleno desarrollo de la vida y el deber de contribuir a una efectiva gestión ambiental y de proteger el ambiente, así como a sus componentes asegurando particularmente la salud de las personas en forma individual y colectiva, la conservación de la diversidad biológica, el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales y el desarrollo sostenible del país;

Que, el artículo 3° de la Ley N° 28611, referido al rol de Estado en materia ambiental, dispone que éste a través de sus entidades y órganos correspondientes diseña y aplica, entre otros, las normas que sean necesarias para garantizar el efectivo ejercicio de los derechos y el cumplimiento de las obligaciones y responsabilidades contenidas en dicha Ley;

Que, el artículo 31° de la Ley N° 28611, define al Estándar de Calidad Ambiental (ECA) como la medida que establece el nivel de concentración o del grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, presentes en el aire, agua o suelo en su condición de cuerpo receptor, que no representa riesgo significativo para la salud de las personas ni al ambiente. El ECA es obligatorio en el diseño de las normas legales y las políticas públicas; así como referente obligatorio en el diseño y aplicación de todos los instrumentos de gestión ambiental;

Que, de conformidad con el literal d) del artículo 7° del Decreto Legislativo N° 1013, que aprueba la Ley de Creación, Organización y Funciones del Ministerio del Ambiente, este Ministerio tiene como función específica elaborar los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y Límites Máximos Permisibles (LMP), que deberán contar con la opinión del sector correspondiente, debiendo ser aprobados o modificados mediante Decreto Supremo;

Que, la Política Nacional del Ambiente, aprobada mediante Decreto Supremo N° 012-2009-MINAM, consigna entre los Lineamientos de Política del Eje 2: Gestión Integrada de la Calidad Ambiental, referidos al control integrado de la contaminación, el de contar con parámetros de contaminación para el control y mantenimiento de la calidad del aire, agua y suelo;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 225-2012-MINAM, se aprobó el Plan de Estándares de Calidad Ambiental (ECA) y Límites Máximos Permisibles (LMP) para el Período 2012-2013, estando programada la elaboración del ECA para Suelo;

Que, asimismo, la Agenda Nacional de Acción Ambiental – AgendAmbiente 2013-2014, aprobada por Resolución Ministerial N° 026-2013-MINAM, establece en su Objetivo 9 – Prevenir y Disminuir la Contaminación de los Suelos, la aprobación e implementación de los Estándares de Calidad Ambiental para Suelo, por el Ministerio del Ambiente;

Que, en el marco de lo dispuesto en el Reglamento sobre Transparencia, Acceso a la Información Pública Ambiental y Participación y Consulta Ciudadana en Asuntos Ambientales aprobada por Decreto Supremo N° 002-2009-MINAM, la propuesta normativa fue sometida a Consulta Pública, habiéndose recibido aportes y comentarios para su formulación;

Que, en ese sentido, corresponde aprobar los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo, conforme a lo establecido en el artículo 7° del Decreto Legislativo N° 1013;

De conformidad con lo dispuesto en la Ley N° 28611, Ley General del Ambiente, el Decreto Legislativo N° 1013, que aprueba la Ley de Creación, Organización y Funciones del Ministerio del Ambiente y el artículo 118° de la Constitución Política del Perú.

DECRETA:

Artículo 1°.- Aprobación de los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo

Apruébese los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo, contenidos en el Anexo I del presente Decreto Supremo.

Artículo 2°.- Ámbito de Aplicación

Los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo son aplicables a todo proyecto y actividad, cuyo desarrollo dentro del territorio nacional genere o pueda generar riesgos de contaminación del suelo en su emplazamiento y áreas de influencia.

Artículo 3°.- Definiciones

Para los fines de la presente norma, se utilizarán las definiciones contenidas en el Anexo II del presente Decreto Supremo.

Artículo 4°.- Prohibición de mezcla de suelos

Prohibase la adición de un suelo no contaminado a un suelo contaminado, con la finalidad de reducir la concentración de uno o más contaminantes para alcanzar los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo.

Artículo 5°.- Instrumentos de Gestión Ambiental y el ECA para Suelo

Los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo son referente obligatorio en el diseño y aplicación de

todos los instrumentos de gestión ambiental, lo que incluye planes de descontaminación de suelos o similares.

Artículo 6°.- Aplicación del ECA para Suelo para proyectos nuevos

Para el caso de proyectos nuevos, los titulares están obligados a determinar como parte de su Instrumento de Gestión Ambiental, la concentración de las sustancias químicas, que caracteriza sus actividades extractivas, productivas o de servicios, en el suelo de su emplazamiento y áreas de influencia, estén o no comprendidas en el Anexo I de la presente norma, lo que constituirá su nivel de fondo.

En base a lo señalado en el párrafo precedente, se establecerán los mecanismos y acciones a incluir en la estrategia de manejo ambiental, medidas o planes del Instrumento de Gestión Ambiental correspondiente.

Artículo 7°.- Aplicación de ECA para Suelo para actividades en curso

Los titulares con actividades en curso deberán actualizar sus instrumentos de gestión ambiental aprobados por la autoridad competente, en concordancia con los Estándares de Calidad Ambiental (ECA) para Suelo, en un plazo no mayor de doce (12) meses, contados a partir de la vigencia del presente Decreto Supremo.

Artículo 8°.- Planes de Descontaminación de Suelos (PDS)

Cuando se determine la existencia de un sitio contaminado derivado de las actividades extractivas, productivas o de servicios, el titular debe presentar el Plan de Descontaminación de Suelos (PDS), el cual es aprobado por la autoridad competente.

El PDS determina las acciones de remediación correspondientes, tomando como base los estudios de caracterización de sitios contaminados, en relación a las concentraciones de los parámetros regulados en el Anexo I. En caso el nivel de fondo de un sitio excediera el ECA correspondiente para un parámetro determinado, se utilizará dicho nivel como concentración objetivo de remediación.

Para sitios afectados mayores a 10000 m2, se podrá tomar como base los niveles de remediación que se determinen del estudio de evaluación de riesgos a la salud y al ambiente, a cargo del titular de la actividad. Para el caso de la evaluación de riesgos a la salud humana, la autoridad competente requerirá la opinión técnica favorable de la Autoridad de Salud, previa a la aprobación del PDS.

Las entidades de fiscalización ambiental o autoridades competentes podrán identificar sitios contaminados y exigir, a través de estas últimas, la elaboración de Planes de Descontaminación de Suelos, que deberán ser presentados en un plazo no mayor de doce (12) meses, contados desde la fecha de notificación al titular de la actividad extractiva, productiva o de servicios, responsable de la implementación de las medidas de remediación correspondientes.

El plazo para la ejecución del PDS no será mayor a tres (03) años, contados desde la fecha de aprobación del mismo. Solo por excepción y en caso técnicamente justificado, se podrá ampliar este plazo por un (01) año como máximo.

Artículo 9°.- Descontaminación de Suelos derivados de una emergencia

En casos de emergencia, el titular deberá activar el Plan de Contingencia correspondiente, procediendo a ejecutar inmediatamente las acciones de remediación destinadas a reducir los impactos ocasionados. En caso el titular de la actividad no contara con este instrumento, ello no lo exime de la ejecución inmediata de medidas destinadas a cumplir con los ECA de suelo vigentes. En ambos casos señalados anteriormente, el cronograma de remediación es remitido a la entidad de fiscalización ambiental correspondiente para el seguimiento del cumplimiento del mismo.

Artículo 10°.- Planes de Descontaminación de Suelos (PDS) derivados de actividades extractivas, productivas o de servicios

Los titulares con actividades en curso, cuenten o no con un instrumento de gestión ambiental aprobado o vigente, deberán realizar un muestreo exploratorio del

suelo dentro del emplazamiento y áreas de influencia de sus actividades extractivas, productivas o de servicios, debiendo comunicar los resultados obtenidos a la autoridad competente y a la entidad de fiscalización ambiental correspondiente.

Si como resultado del muestreo señalado encontrasen sitios contaminados, deberán presentar el Plan de Descontaminación de Suelos respectivo a la autoridad competente para su aprobación, en un plazo no mayor de doce (12) meses, contados a partir de la vigencia del presente Decreto Supremo.

Artículo 11°.- Análisis de Muestras

El análisis de las muestras de suelo deberá ser realizado por laboratorios acreditados ante el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI), para los métodos de ensayo señalados en el Anexo I de la presente norma. En tanto no se disponga de laboratorios acreditados se utilizarán los laboratorios aceptados expresamente por las autoridades competentes.

Artículo 12°.- Contaminantes no comprendidos en el Anexo I

En caso que la actividad genere o maneje sustancias químicas no comprendidas en el Anexo I, se aplicará lo establecido en el numeral 33.3 del artículo 33° de la Ley N° 28611, Ley General del Ambiente.

Artículo 13°.- Incumplimiento de las obligaciones

El incumplimiento de las obligaciones comprendidas en la presente norma constituye infracciones administrativas sancionables por las entidades de fiscalización ambiental, para lo cual se encuentran facultadas a ejercer las acciones de supervisión y fiscalización correspondientes.

La responsabilidad administrativa será objetiva e independiente de la responsabilidad civil o penal que pudiera derivarse por los mismos hechos.

Artículo 14°.- Fondos de Garantía

Las autoridades competentes deben establecer mecanismos para generar fondos de garantía que aseguren el cumplimiento del Plan de Descontaminación de Suelos por parte de los titulares de las actividades extractivas, productivas y de servicios.

Artículo 15°.- Revisión del ECA para suelo

El Ministerio del Ambiente complementará o modificará, mediante Decreto Supremo, lo dispuesto en la presente norma.

Artículo 16°.- Vigencia

El presente Decreto Supremo entrará en vigencia al día siguiente de su publicación en el Diario Oficial El Peruano.

Artículo 17°.- Refrendo

El presente Decreto Supremo será refrendado por el Ministro del Ambiente.

DISPOSICIONES COMPLEMENTARIAS FINALES

Primera.- El Ministerio del Ambiente aprobará la Guía para Muestreo de Suelos y la Guía para la Elaboración de Planes de Descontaminación de Suelos en un plazo no mayor de tres (03) meses, contados a partir de la vigencia del presente Decreto Supremo.

Segunda.- El Ministerio del Ambiente aprobará la Guía para la Elaboración de Estudios de Evaluación de Riesgos a la Salud y el Ambiente, en un plazo no mayor de seis (06) meses, contados a partir de la vigencia del presente Decreto Supremo, sin perjuicio del cumplimiento de los Planes de Descontaminación de Suelos aprobados.

Tercera.- Para el caso de pasivos ambientales de hidrocarburos y de minería, se utilizarán los ECA para suelo aprobados mediante la presente norma, bajo los procedimientos establecidos en la Ley N° 29134, Ley que Regula los Pasivos Ambientales del Subsector Hidrocarburos y su Reglamento, así como en la Ley N° 28271, Ley que regula los pasivos ambientales de la actividad minera, su Reglamento y la Ley N° 28090, Ley que regula el Cierre de minas y su Reglamento.

Cuarta.- El Ministerio del Ambiente, mediante Resolución Ministerial, dictará las normas complementarias para la mejor aplicación del presente Decreto Supremo.

Dado en la Casa de Gobierno, en Lima, a los veinticuatro días del mes de marzo del año dos mil trece.

OLLANTA HUMALA TASSO
Presidente Constitucional de la República

MANUEL PULGAR-VIDAL OTALORA
Ministro del Ambiente

ANEXO I
ESTÁNDARES DE CALIDAD
AMBIENTAL PARA SUELO

N°	Parámetros	Usos del Suelo			Método de ensayo
		Suelo Agrícola	Suelo Residencial/Parques	Suelo Comercial/Industrial/Extractivos	
I Orgánicos					
1	Benceno (mg/kg MS)	0,03	0,03	0,03	EPA 8260-B EPA 8021-B
2	Tolueno (mg/kg MS)	0,37	0,37	0,37	EPA 8260-B EPA 8021-B
3	Etilbenceno (mg/kg MS)	0,082	0,082	0,082	EPA 8260-B EPA 8021-B
4	Xileno (mg/kg MS)	11	11	11	EPA 8260-B EPA 8021-B
5	Naftaleno (mg/kg MS)	0,1	0,6	22	EPA 8260-B
6	Fracción de hidrocarburos F1 (C5-C10) (mg/kg MS)	200	200	500	EPA 8015-B
7	Fracción de hidrocarburos F2 (C10-C28) (mg/kg MS)	1 200	1 200	5 000	EPA 8015-M
8	Fracción de hidrocarburos F3 (C28-C40) (mg/kg MS)	3 000	3 000	6 000	EPA 8015-D
9	Benzo(a) pireno (mg/kg MS)	0,1	0,7	0,7	EPA 8270-D
10	Bifenilos policlorados - PCB (mg/kg MS)	0,5	1,3	33	EPA 8270-D
11	Aldrín (mg/kg MS) ₍₂₎	2	4	10	EPA 8270-D
12	Endrín (mg/kg MS) ₍₃₎	0,01	0,01	0,01	EPA 8270-D
13	DDT (mg/kg MS) ₍₃₎	0,7	0,7	12	EPA 8270-D
14	Heptacloro (mg/kg MS) ₍₁₎	0,01	0,01	0,01	EPA 8270-D
II Inorgánicos					
15	Cianuro libre (mg/kg MS)	0,9	0,9	8	EPA 9013-A/APHA-AWWA-WEF 4500 CN F
16	Arsénico total (mg/kg MS) ₍₂₎	50	50	140	EPA 3050-B EPA 3051
17	Bario total (mg/kg MS) ₍₂₎	750	500	2 000	EPA 3050-B EPA 3051
18	Cadmio total (mg/kg MS) ₍₂₎	1,4	10	22	EPA 3050-B EPA 3051
19	Cromo VI (mg/kg MS)	0,4	0,4	1,4	DIN 19734
20	Mercurio total (mg/kg MS) ₍₂₎	6,6	6,6	24	EPA 7471-B
21	Plomo total (mg/kg MS) ₍₂₎	70	140	1 200	EPA 3050-B EPA 3051

EPA: Environmental Protection Agency (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos)

DIN: German Institute for Standardization

MS: materia seca a 105 °C, excepto para compuestos orgánicos y mercurio no debe exceder 40 °C, para cianuro libre se debe realizar el secado de muestra fresca en una estufa a menos de 10 °C por 4 días. Luego de secada la muestra debe ser tamizada con malla de 2 mm. Para el análisis se emplea la muestra tamizada < 2mm.

Nota 1: Plaguicidas regulados debido a su persistencia en el ambiente, en la actualidad está prohibido su uso, son Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP).

Nota 2: Concentración de metales totales.

ANEXO II

DEFINICIONES

Autoridad competente: Entidad del Estado del nivel nacional, regional o local que con arreglo a sus atribuciones y según lo disponga su normativa específica ejerce competencia en materia de evaluación de impacto ambiental, en el marco de lo establecido por la Ley N° 27446, Ley del Sistema Nacional de Evaluación de Impacto Ambiental, su Reglamento aprobado por Decreto Supremo N° 019-2009-MINAM, y demás disposiciones complementarias o modificatorias.

Caracterización de sitios contaminados: Determinación cualitativa y cuantitativa de los contaminantes químicos o biológicos presentes, provenientes de materiales o residuos peligrosos, para estimar la magnitud y tipo de riesgos que conlleva dicha contaminación.

Contaminante: Cualquier sustancia química que no pertenece a la naturaleza del suelo o cuya concentración excede la del nivel de fondo susceptible de causar efectos nocivos para la salud de las personas o el ambiente.

Emergencia: Cuando la contaminación del sitio derive de una circunstancia o evento, indeseado o inesperado, que ocurra repentinamente y que traiga como resultado la liberación no controlada, incendio o explosión de uno o varios materiales peligrosos o residuos peligrosos que afecten la salud humana o el ambiente, de manera inmediata.

Entidad de fiscalización ambiental: Entidad del Estado del nivel nacional, regional o local que tiene atribuida de forma expresa alguna o todas las funciones comprendidas en el macroproceso de fiscalización ambiental (evaluación, supervisión, fiscalización y sanción), en el marco de lo establecido por la Ley N° 29325, Ley del Sistema Nacional de Evaluación y Fiscalización Ambiental, y demás disposiciones complementarias o modificatorias.

Evaluación de riesgos a la salud y el ambiente: Es el estudio que tiene por objeto definir si la contaminación existente en un sitio representa un riesgo tanto para la salud humana como para el ambiente, así como los niveles de remediación específicos del sitio en función del riesgo aceptable y las acciones de remediación que resulten necesarias.

Fracción de hidrocarburos F1 o hidrocarburos fracción ligera: Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre cinco y diez átomos de carbono (C₅ a C₁₀). Los hidrocarburos fracción ligera deben analizarse en los siguientes productos contaminantes: mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, gasavión, gasolvente, gasolininas, gas nafta.

Fracción de hidrocarburos F2 o hidrocarburos fracción media: Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre diez y veintiocho átomos de carbono (C₁₀ a C₂₈). Los hidrocarburos fracción media deben analizarse en los siguientes productos contaminantes: mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, gasóleo, diesel, turbosina, queroseno, mezcla de creosota, gasavión, gasolvente, gasolininas, gas nafta.

Fracción de hidrocarburos F3 o hidrocarburos fracción pesada: Mezcla de hidrocarburos cuyas moléculas contengan entre veintiocho y cuarenta átomos de carbono (C₂₈ a C₄₀). Los hidrocarburos fracción pesada deben analizarse en los siguientes productos contaminantes: mezcla de productos desconocidos derivados del petróleo, petróleo crudo, combustóleo, parafinas, petrolatos, aceites derivados del petróleo.

Nivel de fondo: Concentración en el suelo de los químicos regulados que no fueron generados por la actividad objeto de análisis y que se encuentran en el suelo de manera natural o fueron generados por alguna fuente antropogénica ajena a la considerada.

Plan de Descontaminación de Suelos: Instrumento de gestión ambiental que tiene por finalidad remediar los impactos ambientales originados por una o varias actividades pasadas o presentes en los suelos. Los tipos de acciones de remediación que se podrán aplicar,

sola o en combinaciones, son: acciones de remediación para la eliminación de los contaminantes del sitio, acciones para evitar la dispersión de los contaminantes, acciones para el control del uso del suelo, y acciones para monitoreo del sitio contaminado. La presentación del Plan de Descontaminación de Suelos no exime de la responsabilidad de elaborar y presentar ante la autoridad competente, los demás instrumentos de gestión ambiental propios de la actividad.

Parámetro: Cualquier elemento o sustancia química del suelo que define su calidad y que se encuentra regulado por el presente Decreto Supremo.

Remediación: Tarea o conjunto de tareas a desarrollarse en un sitio contaminado con la finalidad de eliminar o reducir contaminantes, a fin de asegurar la protección de la salud humana y la integridad de los ecosistemas.

Sitio contaminado: Aquel suelo cuyas características químicas han sido alteradas negativamente por la presencia de sustancias químicas contaminantes depositadas por la actividad humana, en concentraciones tal que en función del uso actual o previsto del sitio y sus alrededores represente un riesgo a la salud humana o el ambiente.

Suelo: Material no consolidado compuesto por partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y organismos, que comprende desde la capa superior de la superficie terrestre hasta diferentes niveles de profundidad.

Suelo agrícola: Suelo dedicado a la producción de cultivos, forrajes y pastos cultivados. Es también aquel suelo con aptitud para el crecimiento de cultivos y el desarrollo de la ganadería. Esto incluye tierras clasificadas como agrícolas, que mantienen un hábitat para especies permanentes y transitorias, además de flora y fauna nativa, como es el caso de las áreas naturales protegidas.

Suelo comercial: Suelo en el cual, la actividad principal que se desarrolla está relacionada con operaciones comerciales y de servicios.

Suelo industrial/extractivo: Suelo en el cual, la actividad principal que se desarrolla abarca la extracción y/o aprovechamiento de recursos naturales (actividades mineras, hidrocarburos, entre otros) y/o, la elaboración, transformación o construcción de bienes.

Suelo residencial/parques: Suelo ocupado por la población para construir sus viviendas: incluyendo áreas verdes y espacios destinados a actividades de recreación y de esparcimiento.

916305-1

Anexo 11. Porcentaje de TURNITIN

The screenshot displays the Turnitin Feedback Studio interface. The main document area shows the following text:

UNIVERSIDAD CESAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio - 2017

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Ingeniero Ambiental

AUTORA
Zegarra Minaya Regina Enith

On the right side, a 'Resumen de coincidencias' (Summary of matches) panel shows a total similarity score of 21%. Below this, a list of sources and their respective percentages is provided:

Rank	Source	Percentage
1	repositorio.lamolina.ed... Fuente de Internet	4 %
2	www.scribd.com Fuente de Internet	2 %
3	intranet.cip.org.pe Fuente de Internet	1 %
4	www.monografias.com Fuente de Internet	1 %
5	www.cienciaperu.org Fuente de Internet	1 %
6	docplayer.es Fuente de Internet	1 %
7	Entregado a Universida... Trabajo del estudiante	1 %