



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**Aplicaciones de Microorganismos para Remediar Suelos
Contaminados por Petróleo y sus Residuos o Derivados.
Revisión Sistemática 2021**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AMBIENTAL

AUTORES:

Tamayo Doria, Nelson Oscar (ORCID: 0000-0002-1184-8555)

Cariga Plaza, Jellen Beatriz (ORCID: 0000-0003-0141-0119)

ASESOR:

Mg. Cabello Torres, Rita Jaqueline (ORCID: 0000-0002-9965-9678)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

2021

Dedicatoria

A Dios, por habernos permitido llegar hasta esta etapa, habiendo culminado con satisfacción nuestra formación profesional con mucha salud.

A nuestros padres, por sus consejos, los valores enseñados, su apoyo moral y económico.

Agradecimiento

A Dios, por guiar nuestros pasos y darnos salud y permitir a cumplir nuestros objetivos ya que sin el nada sería posible.

A nuestros Padres, por hacer un esfuerzo en apoyarnos en toda la etapa de nuestras vidas.

A los docentes, por los conocimientos, enseñanzas que nos impartieron para superarnos cada día.

Índice de Contenido

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenido	iv
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA	17
3.1. Tipo y diseño de investigación	20
3.2. Categorías, subcategorías y matriz de Operacionalización	20
3.3. Escenario de estudio	23
3.4. Participantes	23
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	23
3.6. Procedimiento	24
3.7. Rigor científico	24
3.8. Métodos de análisis de la información	24
3.9. Aspectos éticos	24
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	25
V. CONCLUSIONES	45
VI. RECOMENDACIONES	47
REFERENCIAS	48
ANEXOS	
Anexo 1. Declaratoria de autenticidad (autores)	
Anexo 2. Declaratoria de autenticidad (asesor)	
Anexo 3. Matriz de Operacionalización	

Índice de tablas

Tabla 1:	Matriz de Categorización Apriorística	21
Tabla 2:	Características de suelos contaminados con compuestos petrolígenos en experimentos de bioremediación	27
Tabla 3:	Técnicas de bioremediación para remover compuestos petrolígenos	33
Tabla 4:	Microorganismos y predominantes en el proceso de degradación de los contaminantes petrolígenos	38

Índice de figuras

Figura 1:	Configuración experimental aplicada con (a) el aislamiento d bacteriano del suelo contaminado; (b) preparado de la suelo seco contaminado (SOP); (c) preparado de una suspensión de suelo contaminado (SLP); y (d) <i>A. salina</i> cultivada.	4
Figura 2:	Remociones de petróleo obtenidos aplicando inóculos en adsorbentes, aplicado por Tao et al (2019).	5
Figura 3:	Determinación de la Abundancia relativa reportada por Wang et al. (2021) en el tratamiento de suelos contaminados con HAP. Fuente: Wang et al. (2021).	6
Figura 4:	Modelo propuesto para los microbiomas mixtos en suelo. Los diferentes microbiomas del suelo desarrollaron una comunidad microbiana mixta, se reconfiguraron las interacciones entre los miembros y se alteró la función del ecosistema.	13
Figura 5:	Proceso degradativo en 18 meses residuos de petróleo en suelos artificialmente contaminados por bioremediación informado por Vasilyeva, et al. (2019).	15
Figura 6:	Propuesta de Kadri et al. 2017 sobre la degradación aerobia de los hidrocarburos aromáticos mediante la aplicación de hongos.	18
Figura 7:	Áreas de desplazamiento de aceite de motor quemado obtenidas utilizando los dispersantes: (A) agua; (B) detergente comercial; (C) tensioactivo químico (SDS) y (D) biosurfactante crudo producido por <i>R. arrhizus</i> UCP 1607.	19
Figura 8:	Distribución y conectividad entre la comunidad microbológica en el suelo planteada por Tao et al. (2019).	43

Resumen

La contaminación de suelos por hidrocarburos de petróleo y sus derivados, ha obligado al desarrollo de nuevas técnicas de biorremediación en el tratamiento de suelos. Con el objetivo de evaluar las aplicaciones de microorganismos en la remediación de suelos contaminados por petróleo, se ha aplicado la metodología de Revisión sistemática de artículos científicos de los últimos 7 años, considerando las características fisicoquímicas de suelos contaminados y de toxicidad, las técnicas de biorremediación, la dinámica de los microorganismos. Los resultados han indicado que en la actualidad se vienen combinando distintas técnicas clásicas, son embargo la bioaumentación sigue resultando la más efectiva especialmente si es combinado con otras como la adsorción en polvos orgánicos, así mismo, se ha evidenciado que los mecanismos metabólicos aun requieren ser estudiados con mayor profundidad especialmente para comprender la biodegradabilidad y las características catabólicas de los hongos y bacterias gran positivas y negativa (Asemoloye et al. 2017). La naturaleza de los suelos juega un rol importante, así como el contenido de nutrientes y de materia orgánica necesaria para la adaptabilidad de los microorganismos inoculados ante la dinámica de la microbiota nativa para la degradación de los hidrocarburos de petróleo. En consecuencia la aplicación de microorganismos es sin duda una técnica efectiva que aunque resulta de largo plazo también es altamente eficiente y amigable con el ambiente. Sin embargo se deben profundizar investigaciones relacionadas con las rutas de biodegradación para mejorar la remoción de los compuestos alifáticos y aromáticos presentes en los suelos contaminados.

Palabra clave: hidrocarburos de petróleo, microorganismos, suelos, biorremediación.

Abstract

Soil contamination by petroleum hydrocarbons and their derivatives has forced the development of new bioremediation techniques in soil treatment. In order to evaluate the applications of microorganisms in the remediation of oil-contaminated soils, the methodology of Systematic Review of scientific articles from the last 7 years has been applied, considering the physicochemical characteristics of contaminated soils and toxicity, bioremediation techniques, the dynamics of microorganisms. The results have indicated that at present different classical techniques are being combined, however bioaugmentation continues to be the most effective, especially if it is combined with others such as adsorption in organic powders, likewise, it has been shown that metabolic mechanisms still need to be studied in greater depth especially to understand the biodegradability and catabolic characteristics of fungi and large positive and negative bacteria. The nature of the soils plays an important role, as well as the content of nutrients and organic matter necessary for the adaptability of the inoculated microorganisms to the dynamics of the native microbiota for the degradation of petroleum hydrocarbons. Consequently, the application of microorganisms is undoubtedly an effective technique that, although it is long-term, is also highly efficient and environmentally friendly. However, research related to biodegradation routes should be deepened to improve the elimination of aliphatic and aromatic compounds present in contaminated soils.

Keyword: petroleum hydrocarbons, microorganisms, soils, bioremediation.

I. INTRODUCCION

Muchos hidrocarburos alifáticos saturados o insaturados en los combustibles y sus derivados plantean peligros considerables para los receptores biológicos debido a la formación de metabolitos tóxicos y cancerígenos (Daccò et al. 2020).

La contaminación por petróleo crudo, que causa graves daños al medio ambiente, despierta la preocupación del público y muere de hambre por tecnologías de limpieza de alta eficiencia y respetuosas con el medio ambiente Tao et al (2019). La degradación microbiana es una vía efectiva para la remoción de petróleo crudo de ambientes contaminados (Guarino et al., 2017).

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son compuestos recalcitrantes y se encuentran ampliamente en varios compartimentos ambientales, incluidos suelos, aguas superficiales y subterráneas (Aranda, 2016). En particular, la toxicidad y la persistencia de los HAP aumentan con el aumento del número de anillos y, por lo tanto, los HAP de alto peso molecular (HMW) son motivo de especial preocupación (Wang et al. 2021). El benzo [a] pireno (BaP), un HMW-PAH con una estructura de cinco anillos, se ha asignado a la primera clase de "carcinógenos humanos" y se detecta con frecuencia en los suelos Wang et al. 2021.

Actualmente, la "biorremediación" (el uso de organismos vivos para mitigar la contaminación ambiental) está ganando atención pública debido a su rentabilidad y estrategias favorables al medio ambiente. La comprensión de los mecanismos de biodegradación es de gran importancia ecológica; se basa en el uso de microorganismos autóctonos para transformar / mineralizar los contaminantes de hidrocarburos (Daccò et al. (2020).

Se ha comprobado que los procesos de degradación por hongos degradan muchos hidrocarburos, ya que poseen diferentes casetes de enzimas que les permiten degradar y utilizar diferentes hidrocarburos como únicas fuentes de carbono / energía (Daccò et al. (2020).

En este contexto es necesario identificar las condiciones fisicoquímicas y la naturaleza de los suelos que incluyen en la distribución y dinámica de los microorganismos, así como comprender los mecanismos o rutas metabólicas seguidas no solo por las bacterias sino los organismos fúngicos que permitan

comprender mejor los procesos catabólicos que llevan a la degradación de los hidrocarburos. Esta investigación busca analizar las condiciones actuales de la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos que se justifica en la actualización de los enfoque teóricos relacionados, con la necesidad de actualizar el conocimiento desarrollado sobre las combinaciones de los principios fisicoquímicos de los microcosmos y macrocosmos presente en los suelos, capaces de adaptarse a condiciones de alta presión por los niveles tóxicos de los contaminantes inmersos en los suelos, así como a la textura y estructura de los suelos especialmente dentro de los primeros centímetros de la capa superficial. También la investigación se justifica en el enfoque ambiental que busca la conservación de los recursos naturales debido a que los suelos representa la base fundamental de la agricultura y en la búsqueda de contribuir con la calidad de vida de los seres humanos considerado la sostenibilidad de los procesos o actividades económicas.

Esta investigación ha planteado como problema general ¿Cuáles son las aplicaciones de microorganismos para remediar suelos contaminados por compuesto petrolígenos y como PROBLEMAS específicos

PE1: ¿Cuáles son las características fisicoquímicas de los suelos contaminados con compuestos petrolígenas y sus requerimientos para la biorremediación?

PE2: ¿Que técnicas de biorremediación para remover compuestos petrolígenos se aplican en la actualidad?

PE3: ¿Cómo responde la comunidad de microorganismos en la degradación de los contaminantes petrolígenos?

PE4: ¿Cuáles son los cambios en la microbiota del suelo y la actividad microbiana?

El objetivo general de la investigación fue: Evaluar las aplicaciones de microorganismos para remediar suelos contaminados por compuesto petrolígenos y como objetivos específicos:

OE1: Identificar las características fisicoquímicas de los suelos contaminados con compuestos petrolígenas y sus requerimientos para la biorremediación

OE2: Analizar las técnicas de biorremediación para remover compuestos petrolígenos

OE3: Analizar la comunidad de microorganismos y la degradación de los contaminantes petrolígenos

OE4: Analizar los cambios en la comunidad bacteriana del suelo y la actividad microbiana

II. MARCO TEÓRICO

Los problemas de contaminación de suelos por compuestos petrolígenos, ha sido motivo de la aplicación de microorganismo aprovechando su potencial de degradación de una diversidad de compuestos orgánicos. Maddela, et al. (2016), investigadores de los suelos ecuatorianos de la selva amazónica contaminados por hidrocarburos de petróleo usaron los microorganismos de dichos suelos capaces de remover componentes de los hidrocarburos totales de petróleo crudo (TPH). Después del análisis de la secuencia de ADNr 16/18S, se identificaron microorganismos del suelo eficientes en la eliminación de TPH como *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Geomyces pannorum* y *Geomyces sp.* Se probó entonces un cultivo mixto de los dos aislados de bacterias y dos de hongos para determinar su capacidad de eliminación de los TPH en el petróleo crudo en suelo fase sólida (SOP) y en una fase suspendida de suelo (SLP). (Ver figura 1).

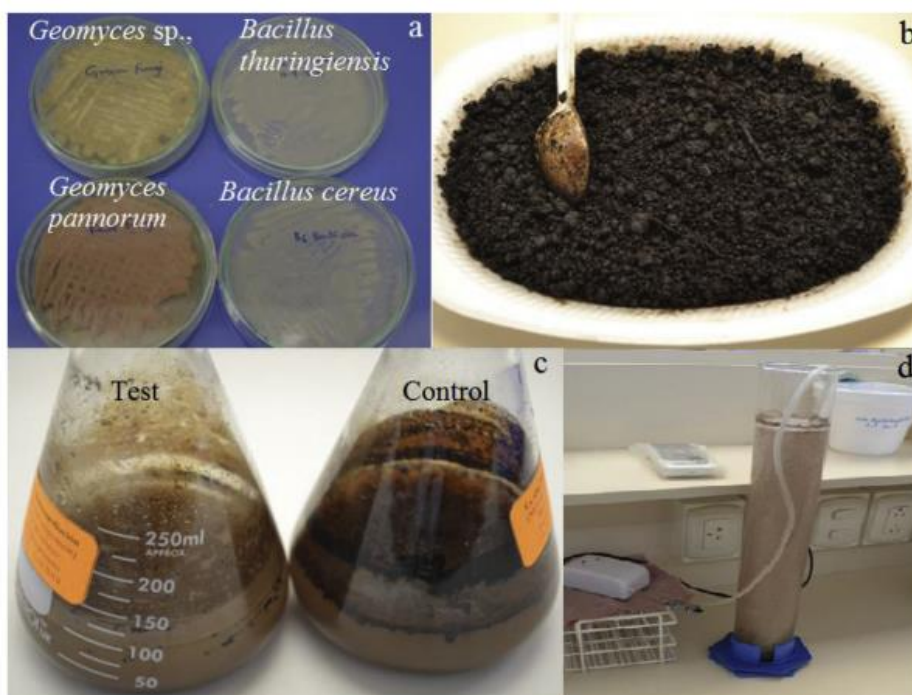


Figura 1. Configuración experimental aplicada con (a) el aislamiento bacteriano del suelo contaminado; (b) preparado de la suelo seco contaminado (SOP); (c) preparado de una suspensión de suelo contaminado (SLP); y (d) *A. salina* cultivada. Fuente: Maddela, et al. (2016).

Asimismo, Tao et al. (2019) han estudiado tanto la eficiencia de remoción de petróleo crudo usando consorcios bacterianos inmovilizados con paja seca de *Eichhornia crassipes* como los cambios en la comunidad bacteriana del suelo en respuesta a la estrategia de bioaumentación. Se comprobó que dicha tecnología de inmovilización celular que utiliza materiales de residuos vegetales como vehículos ayudan a mejorar la fertilidad del suelo y a mitigar la competencia entre los microorganismos autóctonos e inoculados con nutrientes, ofrece mejorar la eliminación de compuestos petrolígenos (ver figura 2).

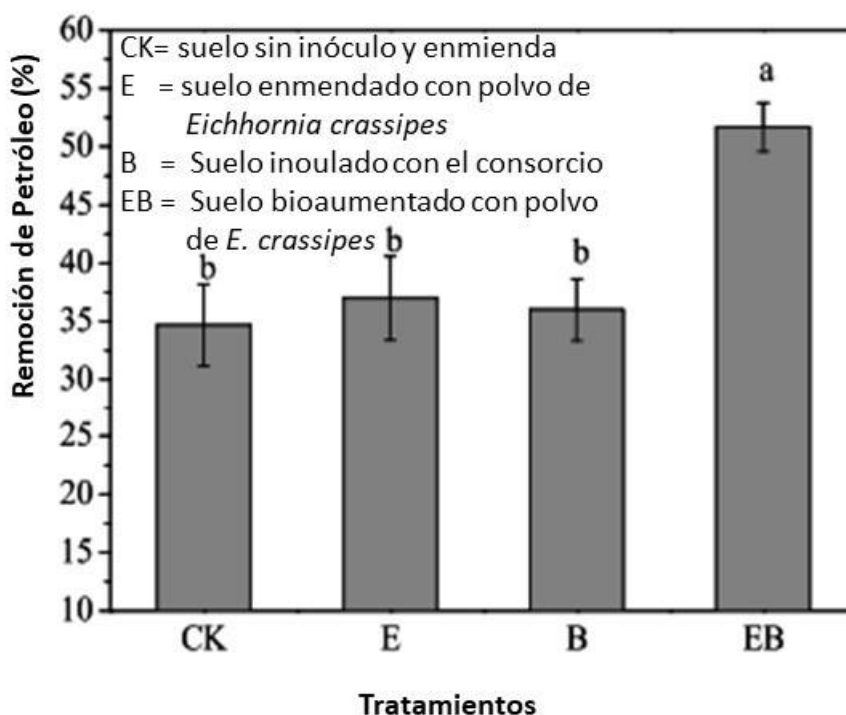
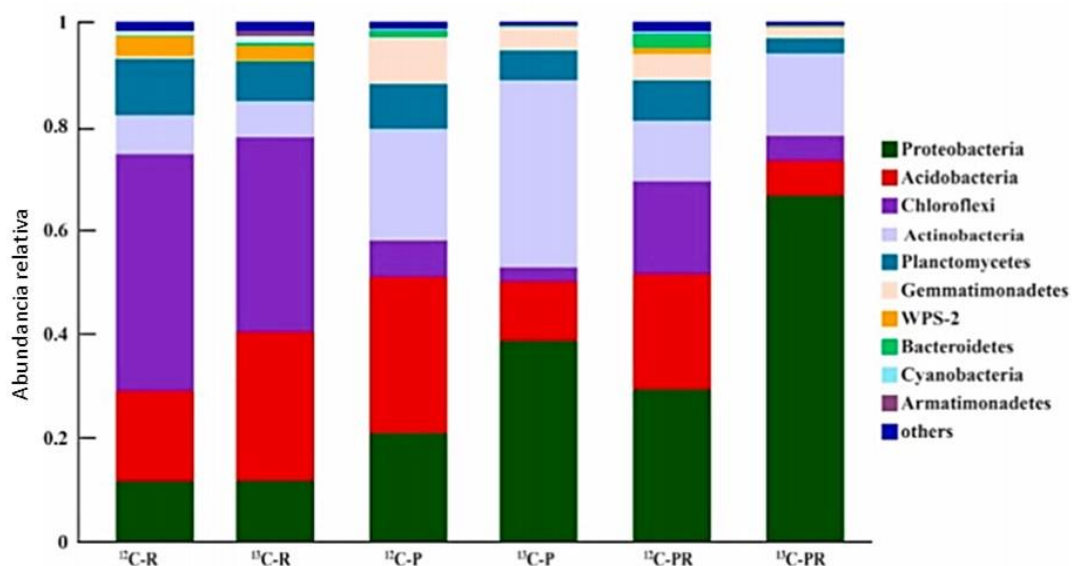


Figura 2. Remociones de petróleo obtenidos aplicando inóculos en adsorbentes, aplicado por Tao et al (2019).

También se ha estudiado la biodegradación de los compuestos aromáticos como el benzo [a] pireno (BaP) sobre suelos de naturaleza diversa, buscando la identificación de la biota responsable. Wang et al. (2021) informo el tratamiento de suelos de arroz y suelos minerales rojos utilizando tecnología DNA-SIP para detectar degradadores activos de BaP implicados en la biodegradación de este contaminante en estos suelos por separado y en mezcla. Los investigadores concluyeron que los degradadores de BaP activos en el microbioma mixto eran

idénticos a los degradadores de BaP activos en el suelo de arroz (OTU356 y OTU328), pero también fueron únicos en el microbioma mixto, como OTU393 y OTU392. Los genes funcionales de las dioxigenasas hidroxilantes del anillo PAH (PAH-RHD α) se expresaron y se relacionaron positivamente con la eliminación de BaP, y las bacterias degradantes de BaP activas incluyeron bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas. Así fueron reportados por primera vez *Saccharothrix*, *Phylobacterium*, *Micromonospora* y *Nocardioideis* como degradadores de BaP usando la técnica de DNA-SIP, la figura 3 muestra la abundancia relativa registrada en la dinámica microbiana.

Figura 3. Determinación de la Abundancia relativa reportada por Wang et al. (2021)



en el tratamiento de suelos contaminados con HAP. Fuente: Wang et al. (2021)

Anteriormente Wang et al. (2018) establecieron microbiomas de suelo mixto mediante la introducción de alícuotas de un suelo de arroz en un suelo rojo para metabolizar hidrocarburos aromáticos policíclicos de alto peso molecular (PAH, pireno) en las mezclas de suelo. Este experimento fue importante porque permitió determinar la importancia y naturaleza del suelo en la formación de los microbiomas mixtos que bien pueden ser estimulados para remover los hidrocarburos polinucleoaromáticos (PAH) cuando los suelos no cuentan con alta capacidad propia para remover estos compuestos petrolígenos (Gambino et al. 2017).

Por ejemplo, en el área industrial de Dukhan y la costa de AlZubara se han registrado sitios aceitosos meteorizados debido al clima extremo, característico de Qatar, con presencia de bacteria adaptables para la biodegradación, entonces AlKaabi et al. (2020) adaptaron bacterias autóctonas las que estarían muy adaptadas, su re-introducción o estimulación en el suelo, contribuiría a la rehabilitación de estos sitios. Los investigadores aplicaron una estrategia de biorremediación del petróleo degradado experimental para posibilitar un futuro tratamiento del sitio. Se realizó un muestreo sistemático del suelo y se analizaron tales muestras. Concluyeron que se podrían utilizar bacterias endógenas altamente adaptadas para biorremediar suelos contaminados con petróleo en condiciones difíciles.

Vasilyeva et al. (2019) determinaron el potencial de biorremediación por adsorción, esta técnica de adsorción microbiana se aplicó a un suelo de bosque gris altamente contaminado (5, 10 y 15% de petróleo crudo) mediante el uso del adsorbente mixto (ACD) en combinación con un biopreparado. Además de estudiar el efecto del adsorbente sobre la tasa de biorremediación, fitotoxicidad y recuento microbiano, también se estudió la influencia del adsorbente en la lixiviación de hidrocarburos y metabolitos polares de los suelos. Se prepararon entonces los adsorbentes y se obtuvo un adsorbente mixto compuesto de carbón activado granular de 1 a 2 mm y diatomita (3: 1 p/p) pulverizada, la mezcla fue pulverizada en un mortero hasta obtener partículas <0,5 mm de tamaño de grano la cual evidencio resultados aceptables de bioremediación del suelo contaminado.

Sabiendo que la degradación microbiana es la principal responsable de la eliminación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) de los suelos contaminados, comprender este proceso es fundamental para definir enfoques de biorremediación eficaces. Con la finalidad de evaluar la contribución de varios grupos microbianos en la degradación del antraceno y el benzo [a] pireno del suelo, Bellino, et al. (2019) emplearon el análisis de perfiles de ácidos grasos fosfolípidos (PLFA) característicos indicadores de los componentes celulares y técnicas de aprendizaje automático para analizar las concentraciones de PAH. A lo largo de 274 días de incubación de una microbiota autóctona del mesocosmos de suelos contaminados artificialmente con antraceno y benzo [a] pireno, estos fueron

sometidos a diferentes tratamientos: suelos no tratados y suelos tratados con compost de residuos biológicos o consorcio fúngico. Luego, se construyeron modelos forestales aleatorios, calculando concentraciones de antraceno o benzo [a] pireno como variables dependientes y PLFA como predictores, para evaluar la contribución de cada variable en la degradación de PAH. Los perfiles de PLFA variaron sustancialmente entre los tratamientos del suelo y a lo largo del tiempo, con el aumento de actinomicetos en suelos añadidos con hongos y otras bacterias Gram positiva en suelos modificados con compost. Los primeros, junto con los hongos, fueron los principales responsables de la degradación del antraceno y el benzo [a] pireno en ambos suelos tratados, proceso en el que también participaron metanótrofos y otras bacterias Grampositivas y Gramnegativas. En cambio en los suelos no tratados, la cooperación de una multitud de microorganismos diferentes fue la responsable de una menor eficiencia de eliminación de PAH con respecto a suelos tratados.

Los hongos filamentosos telúricos también han sido investigados para conocer su potencial, Benguenab y Chibani (2021), descubrieron hongos eficientes para degradar los contaminantes de los hidrocarburos del petróleo aislando seis cepas de hongos de suelo contaminado con aceite de motor usado (UE). De esta manera los investigadores evaluaron la capacidad de degradación de los hidrocarburos de petróleo crudo aplicando este tipo de hongos, también evaluaron la remoción de diésel y de aceite UE. Con este objetivo aislaron y seleccionaron de acuerdo a la NCBI dos hongos, el *Aspergillus ustus* HM3.aaa y *Purpureocillium lilacinum* HM4.aaa. Ambos microorganismos se usaron para probar su tolerancia bajo distintas concentraciones de los contaminantes mencionados usando la técnica de medición de diámetro de crecimiento radial. El porcentaje de remoción de hidrocarburos se evaluó gravimétricamente, entonces se estudió la cinética de degradación del petróleo crudo en un intervalo de tiempo de 10 días. Aunque los hongos seleccionados resultaron interesantes para la biodegradación de los aceites de petróleo y su aplicación para la biorremediación del suelo es necesario continuar profundizando estudios que expliquen una mejor aplicación y su metabolismo, especialmente considerando las propiedades enzimáticas que aceleran los procesos degradativos.

La aplicación de enzimas fue estudiada por Pele et al. (2018), propusieron producir biosurfactante por *Rhizopus arrhizus* UCP 1607 utilizando glicerol crudo y licor de maceración de maíz como sustratos. Además, se caracterizó la biomolécula y se investigó su eficiencia para eliminar petroderivados del suelo marino. Se aplicó un diseño factorial 22 y la mejor condición para producir biosurfactantes usando como sustratos glicerol crudo y licor de maceración de maíz. Los investigadores demostraron la capacidad de *R. arrhizus* UCP1607 para producir un biosurfactante de bajo costo caracterizado como glicoproteína y su uso potencial en la biorremediación de contaminantes hidrófobos de aceite diésel en suelos marino

Sin embargo, el aislamiento de microorganismo varía con la profundidad del suelo, siendo la colecta de muestras de suelo, el punto de partida para obtener la microbiota que puede ser probada para la biodegradación. Benguenab y Chibani (2021) recolectaron muestras de suelo no contaminado de la superficie del suelo (0 a 15 cm de profundidad) en Kherrouba (Argelia), se secó al aire y tamizó (2 mm) para homogeneizar y eliminar partículas grandes, luego, se determinaron las características físicas y químicas de 04 kg de un suelo contaminado artificialmente, dispuesto en fuentes plastificados de 3000 ml, luego se agregaron 100 ml de aceite UE mezclando continuamente para lograr una concentración uniforme en toda la mezcla. Se preparó un suelo de control sin contaminación por hidrocarburos en las mismas condiciones y las muestras preparadas de suelo se incubaron bajo condiciones aerobias dispuestas al ambiente por 03 meses.

Benguenab y Chibani (2021) después de 3 meses de incubación de un suelo artificialmente contaminado, se llevó a cabo el recuento de hongos heterótrofos en el suelo contaminado con aceite y el control mediante el método de recuento en placa de dilución. Se añadió 1 g de suelo a 9 ml de agua destilada esterilizada, se mezcló bien con vórtice, luego se hicieron diluciones seriadas (10^{-5}) y se inocularon 0,5 ml de cada dilución en placas de agar dextrosa de patata (PDA) añadidas con cloranfenicol como antibiótico (250 mg/l). Posteriormente todas las placas sembradas fueron incubadas a una temperatura de 25 °C por el lapso de cinco días, luego se escogieron las colonias de hongos más representativas y fueron transferidas hacia nuevas placas para la obtención de colonias puras. Los aislados

puros se identificaron de acuerdo con sus características culturales y morfológicas utilizando claves de identificación

De otro lado, Vasilyeva et al. (2019) bioprepararon suspensiones a partir de cepas. Se utilizó como biopreparado la asociación de dos cepas bacterianas *Pseudomonas putida* B -2187 y *Rhodococcus erythropolis* Ac -859, cuya acción degradadora de compuestos derivados de petróleo como los hidrocarburos alifáticos y los componentes aromáticos biodegradados de manera muy eficiente ya que se usan como sustratos para el crecimiento bacteriano, la técnica empleada para su uso fue la preparación de la biomasa microbiana en un medio completo. La suspensión concentrada del biopreparado se obtuvo de la siguiente manera: la biomasa de cada microorganismo se mezcló en igual proporción y se diluyó con un tampón salino en una concentración de aproximadamente 5×10^8 UFC/mL por cada cepa (UFC - unidades formadoras de colonias). La densidad celular inicial total en el suelo alcanzó 10^7 UFC/g. Se repitió la enmienda del suelo con el BP (tratamientos BP y ACD + BP) en 3.5 meses.

Todavía existe una escasez de conocimiento sobre la capacidad de los hongos para la degradación de hidrocarburos alifáticos con respecto a los aromáticos, esto se debe principalmente a que los hidrocarburos alifáticos e encuentran dispersos con mayor abundancia en toda mezcla de crudo de petróleo o en sus derivados, las investigaciones se han centrado en analizar las rutas metabólicas o mecanismos bioquímicos relacionados en los procesos degradativos y evaluar las diferencias existentes entre *Ascomycota* (micromicetos) y *Basidiomycota* (macromicetos). La aplicación de hongos en la biorremediación en experiencias a escala de campo también se discute a la luz de las limitaciones ambientales (Daccò et al. (2020).

Respecto a las condiciones de cultivo de hongos y producción de biosurfactante, Pele et al. (2018) desarrollo experimentos en matraces Erlenmeyer de 250 mL que contenían 100 mL del medio para la producción de biosurfactante consistente en la solución salina de conteniendo KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, agua destilada y una solución rica en oligoelementos ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{MnSO}_4 + \text{ZnSO}_4$), glicerina se utilizó también como fuentes de carbono y nitrógeno, en concentraciones variables de acuerdo con un diseño factorial. El pH del medio de producción en los matraces se ajustó a 5.5 y se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min. Luego se

preparó una suspensión de esporangiosporas de *R. arrhizus* UCP 1607 cultivada en medio de papa dextrosa agar a 28 ° C durante 96 h, en agua destilada y ajustado a 10⁷ esporas/ml. Se inoculó el 5% (v / v) de la suspensión de esporas en cada matraz que contenía el medio de producción y se incubó a 28 °C durante 96 h. Los caldos libres de micelios se obtuvieron mediante filtración y luego se utilizaron en los análisis de selección para la producción de biosurfactantes. Pele y col. (2018), lograron aislar el hongo y aplicaron un subcultivo purificado a partir del cultivo madre en Sabouraud dextrosa almacenada bajo refrigeración (4°C) que fue luego transferida a placas inclinadas frescas Sabouraud dextrosa cada tres meses y así garantizar su viabilidad.

La producción de petróleo a granel ha producido una extensa contaminación del suelo, y diversas técnicas de biorremediación han sido aplicados y las investigaciones son muy específicas, en cada caso hay que hacer pruebas experimentales con controles básicos para establecer su práctica y bajo costo y eficiencia, por ejemplo las biopilas son usadas aprovechando residuos de la agricultura combinadas con bioaumentación (Maddela, et al. 2016). Muchos investigadores saben que experimentar con microorganismos es relevante para eliminar de manera constante los contaminantes peligrosos presentes en el ambiente, una tarea complicada pero no imposible. En los últimos tiempos, se ha prestado mucha atención a la biorremediación de sitios contaminados con petróleo utilizando diversas especies microbianas y métodos innovadores (Silva-Castro et al., 2015). A pesar de que anteriormente han sido identificados alrededor de 70 especies de *Bacillus* como especies degradadoras de los compuestos petrolígenos (Romanowska et al., 2015); no obstante, aún no han sido identificados por completo el papel de ciertos hongos en esta lista aparece por ejemplo *Geomyces sp.* Que se ha demostrado como un degradador de los hidrocarburos de petróleo (Maddela, et al. 2016).

La eficiencia de los microorganismos en la degradación de los hidrocarburos de petróleo se investiga generalmente en los microcosmos del suelo después de la biorremediación en fase sólida (SOP), pero rara vez mediante la biorremediación en fase de suspensión (SLP) (Maddela, et al. 2016). La fase acuosa se agrega en SLP para mejorar la mezcla física, mientras que en SOP solo se agregan nutrientes

y el lecho de suelo se agita mecánicamente a intervalos (Maddela, et al. 2016). No obstante, la biorremediación de SLP es mucho más rápida que muchas otras técnicas de biorremediación (Maddela, et al. 2016), y es muy útil en los casos en que los contaminantes deben descomponerse muy rápidamente, además los suelos en suspensión puede ser ventajoso en los procesos de biorremediación en el proceso de contaminación.

En general, la bioaumentación con microorganismos exógenos se utiliza a menudo como una estrategia para mejorar la eliminación de contaminantes (Wu et al., 2017). Sin embargo, el resultado final de la bioaumentación depende de la supervivencia y la actividad de los microorganismos inoculados que pueden verse influenciados por factores bióticos, incluida la competencia con los microorganismos autóctonos por los nutrientes Tao et al. (2019). Se deben encontrar formas viables de asegurar de manera efectiva la supervivencia y la actividad del consorcio bacteriano inoculado para mejorar la remoción del petróleo crudo en los suelos (Tao et al. 2019).

La comunidad microbiana puede jugar un papel importante en el funcionamiento especializado, mientras que la composición de la comunidad en los suelos estuvo mediada por perturbaciones ambientales (Wang, et al. 2018). Los resultados analíticos demostraron que las dinámica microbiana respondió a la naturaleza del suelo, es decir ante las propiedades fisicoquímicas, siendo el valor de uno de los principales factores seguido del contenido de fósforo total y del N total en el suelo en condiciones ambientales (Wang, et al. 2018). Las propiedades del suelo de arroz y del suelo rojo eran muy diferentes debido a factores generales como el material parental y el tipo de uso de la tierra ambientales (Wang, et al. 2018). Cuando se formó la mezcla, las comunidades microbianas necesitaban hacer frente a los cambios ambientales ajustándose, incluida la inactividad de algunos microorganismos activos y la actividad de los microorganismos inactivos debido a los cambios en el estado de los nutrientes y otras condiciones ambientales (Wang, et al. 2018) que determinan la fertilidad del suelo que involucra una serie de interacciones que suelen ser muy complejas y determinando la dinámica microbiana en el suelo. La perturbación ambiental altera la estructura y composición de las comunidades microbianas del suelo y la funcionalidad del ecosistema se

ajustará en función de la abundancia y diversidad de las comunidades (Mendes et al., 2015). Asimismo resulta más complicado la adaptación microbiana a un nuevas condiciones ambientales de otro suelo, ay que requieren enfrentarse a las nuevas condiciones y a las interacciones de la microbiota indígenas (Wang, et al. 2018), esto implica una complejidad en la respuesta entre las especies o poblaciones agrupados mediante consorcios (Wang, et al. 2018).

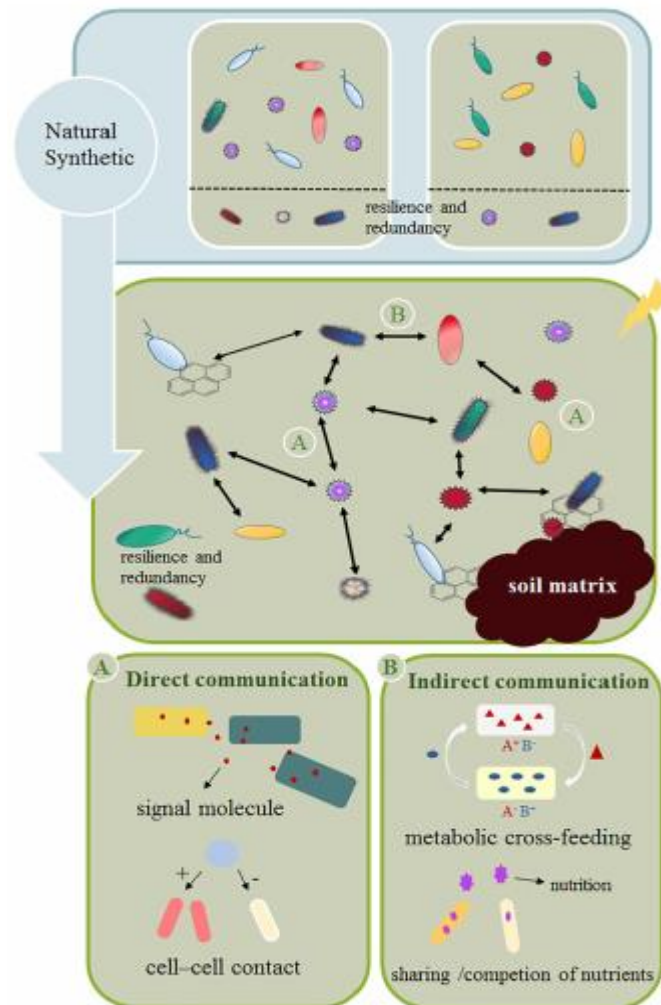


Figura 4. Modelo propuesto para los microbiomas mixtos en suelo. Los diferentes microbiomas del suelo desarrollaron una comunidad microbiana mixta, se reconfiguraron las interacciones entre los miembros y se alteró la función del ecosistema. Fuente: (Wang, et al. 2018).

Estas interacciones pueden involucrar cooperación (+ / +) y competencia (- / -), mientras que los microorganismos pueden comunicarse directamente con otros, por ejemplo, mediante el intercambio de moléculas de señal dedicadas y el contacto de célula a célula, y la comunicación indirecta, como el intercambio de nutrientes ambientales (Wang, et al. 2018).

Una vez que los grupos de microbiomas mixtos se contactan entre sí ya sea de manera directa o indirecta, se resolverán dinámicas de cooperativas y de competencia, esto genera una división efectiva de las diversas actividades entre los microorganismos, con un desenlace que permite una rápida adaptación en el nuevo medio y el desarrollo de la nueva comunidad para lograr un nuevo estado de estabilidad ambiental o de inhibición (Wang, et al. 2018) (Ver figura 4).

En una bioremediación las técnicas deben ser seleccionadas convenientemente, en la actualidad se incluyen procesos de adsorción a través de la aplicación de polvos que adsorben o inmovilizan a los microorganismos y mejoran la eliminación de los petrolígenos. Vasilyeva et al. (2019) experimentó durante 18 meses la bioremediación de muestras de suelo, para ello colectaron muestras de suelos contaminados superficialmente con petróleo crudo y se dejaron durante 5 días. Se preparó un adsorbente mixto biopreparado que fue agregado a algunas muestras tratadas. También se agregó fertilizante de manera fraccionada y así evitar una fuerte acidificación del suelo. Durante el experimento, se tomaron muestras de los suelos periódicamente para realizar análisis químicos y biológicos. En la muestra se determinó el contenido de TPH y sus metabolitos polares (principalmente hidrocarburos de petróleo oxidado total, TOPH), el número de microorganismos que degradan los hidrocarburos, el pH del suelo y la fitotoxicidad logrando finalmente la degradación al cabo de 18 meses que se observar en la figura 5..

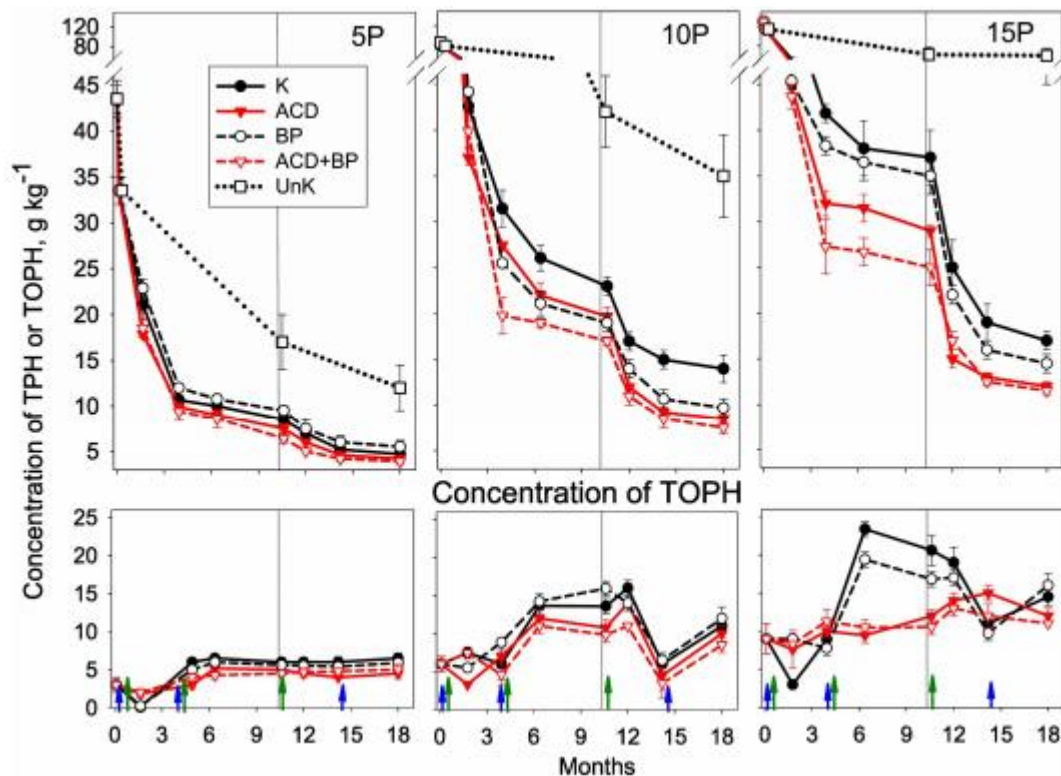


Figura 5. Proceso degradativo en 18 meses residuos de petróleo en suelos artificialmente contaminados por bioremediación informado por Vasilyeva, et al. (2019). Fuente: Vasilyeva, et al. 2019.

Es importante comprender los mecanismos de degradación microbiana, considerando que los hidrocarburos alifáticos son también eliminados usando microorganismos fúngicos a través de las enzimas implicadas. Uno de los principales mecanismos por los que se pueden eliminar los contaminantes de hidrocarburos del medio ambiente son las actividades de biodegradación de las poblaciones naturales de hongos y bacterias. Normalmente el proceso degradativo de los compuesto petrolígenos efectuado por los hongos se realiza a través del consumo de oxígeno en un medio aerobio, mientras que las aplicaciones de las levaduras se desarrollan en sus ausencia (anaeróbico), aunque hay registros que los hongos filamentosos que realizan los procesos degradativos en medio anaerobio (Rouches et al. 2016, Aydin et al. 2017).

Los hongos generan enzimas biocompuestos que oxidan los componentes hidrocarbonados formando agua y otros residuos poco tóxicos o sin efectos (Daccò et al. 2020), bajo condiciones aeróbicas; sin embargo la complejidad de la

biodegradación depende de la estructura química de los petrolígenos lo que implica que son susceptibles al ataque microbiano, por lo que normalmente se ha establecido un orden decreciente de degradación microbiana de tales compuestos: n-alcanos > alcanos ramificados > aromáticos de bajo peso molecular > alcanos cíclicos > compuestos aromáticos de alto peso molecular y aromáticos policíclicos (Varjani et al., 2015). De acuerdo a esta relación, los alifáticos y la posición del enlace doble se convierte en una variables importante que determina el grado de remoción de los compuestos orgánicos; de manera específica los alquenos que poseen el doble enlace en una posición terminal, serían más fácilmente degradables frente a los alquenos que poseen un doble enlace interno (Daccò et al. (2020). Además, los alifáticos cíclicos son los compuestos más resistentes al ataque de hongos porque el paso primario se ve obstaculizado por la ausencia de un grupo terminal expuesto (Varjani et al. 2017). Anteriormente, Dallinger et al. (2016) analizaron la ruta metabólica de transformación del ciclohexano en subproductos causados por la *Candida maltosa* y *Trichosporon spp.*, lo cual dependió de las concentraciones del hidrocarburo. Las vías metabólicas observadas en hongos, requieren la oxidación del sustrato en microsomas mediada por citocromo P450 (CYP) monooxigenasas (EC: 1.14.13.12) que contienen enzimas alcano-oxigenasa (Durairaj et al., 2015; Asemoloye et al., 2019).

De esta forma se producen diferentes reacciones que llegan a ser catalizadas por isoformas del citocromo P450; a través de la reacción de la enzima monooxigenasa que conduce normalmente a la generación de epóxidos, con posterior oxidación de los alcoholes e hidroxilación de componentes ya sea alifáticos o aromáticos. En este ámbito diferentes especies de levaduras identificadas como *Yarrowia lipolytica*, *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. maltosa*, *C. apicola* y *Debaryomyces hansenii* utilizan la diversidad de las formas microsomales del citocromo P450 para biodegradar los compuestos orgánicos aprovechando su múltiple actividad (Daccò et al. (2020). En la etapa de hidroxilación, se introduce un átomo de oxígeno en la estructura del grupo metilo terminal y así se logra formar nuevas moléculas de alcohol (Meng et al. 2017).

Una vez formado el alcohol, este es oxidado al aldehído correspondiente y luego este se descompone formando el ácido graso correspondiente. Sin embargo, e

ácido graso producido es incorporado en las rutas catabólicas principales del sistema mediante la p-oxidación, esto significa el inicio de activación del ácido graso que forma un éster de acil-CoA. La presencia de ácido cítrico y su ciclo bioquímico permite la contabilización de los compuestos derivados produciendo electrones en el proceso de cadenas de transporte de electrones (Prenafeta-Boldú et al., 2019) para lo cual se ha descrito posibles mecanismos enzimáticos:

- I. Las enzimas bacterianas tipo metano monooxigenasa que catabolizan la degradación de alcanos C₁-C₄ (de metano a butano) (Prenafeta-Boldú et al., 2019);
- II. Las enzimas hierro oxigenasas no hemo, que catabolizan la degradación de alcanos C₅-C₁₆ (de pentano a hexadecano)
- III. Los sistemas enzimáticos esencialmente desconocidos que catabolizan la degradación del C₁₇ y alcanos más largos.

Diversos investigadores han reportado trabajos de aislamiento de cepas de hongos desde distintos suelos contaminados por residuos de petróleo y sus derivados. Existe un alto porcentaje de hongos capaces de crecer en mixturas complejas de petrolígenos como única fuente de carbono, ello implica la adopción de estrategias ambientales para superar la toxicidad de los suelos contaminados (Daccò et al. (2020), entre los hongos más destacado se han nominado al filo *Ascomycota*, aislados generalmente como anamorfos (Prenafeta-Boldú et al., 2019), en menor proporción *Basidiomycota* y muy raras veces a phylas, como *Mucoromycota*, como *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.* y *Cunninghamella echinulata* (Hatami et al., 2018; Prenafeta-Boldú et al., 2019, Daccò et al. 2020).

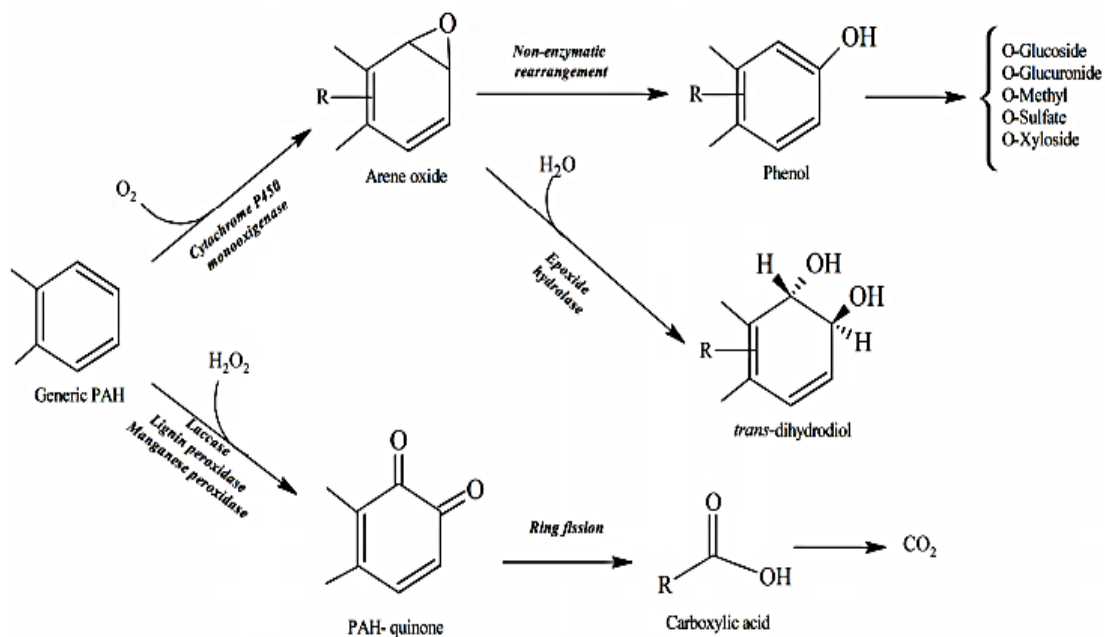


Figura 6. Propuesta de Kadri et al. 2017 sobre la degradación aerobia de los hidrocarburos aromáticos mediante la aplicación de hongos.

Como era de esperarse, la mayoría de los hongos capaces de utilizar hidrocarburos alifáticos se encuentran entre los saprófitos, es decir, son independientes de un huésped vivo. En realidad hay menos información sobre hongos micorrízicos o patógenos vegetales relacionados con la degradación de compuestos petrolígenos (Daccò et al. (2020) en cambio otras como la Ascomycota, contiene una especie muy conocida como es la levadura *Candida lipolytica*, aislada normalmente en sustratos específicos como margarinas en mal estado, pulpas de aceituna, aguas de malos olores u otras fuentes, aceite crudo, etc. guardando una relación muy amplia con su potencial degradador muy pronunciada. En particular, se observó que *C. lipolytica* (como *Yarrowia lipolytica*) degrada eficazmente los triglicéridos, alcanos y ácidos grasos.

Además, la especie de levadura de descomposición de *Pichia* o *Geotrichum* similar a la levadura, extremadamente común en el suelo o en plantas y alimentos en descomposición (Daccò et al. (2020). También se ha aislado de agua o suelo contaminados con hidrocarburos). La eficacia en la degradación de alcanos por levaduras fue medida por Gargouri et al. (2015); los aislados de las aguas

residuales de la refinería industrial pudieron utilizar los n-alcanos C11 a C26 presentes en una muestra de petróleo en 12 días.

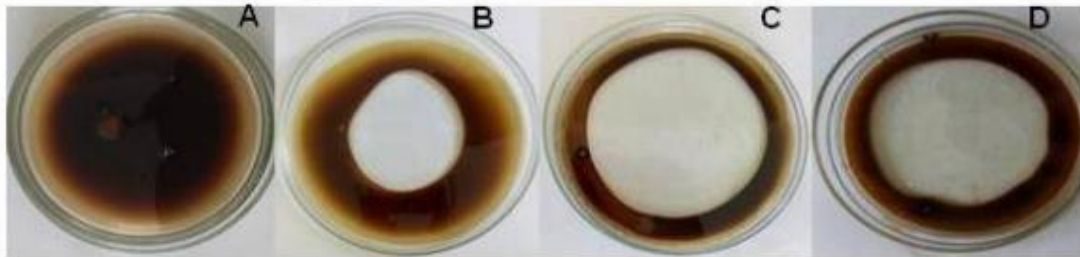


Figura 7. Áreas de desplazamiento de aceite de motor quemado obtenidas utilizando los dispersantes: (A) agua; (B) detergente comercial; (C) tensioactivo químico (SDS) y (D) biosurfactante crudo producido por *R. arrhizus* UCP 1607. Fuente: Pele et al. (2018).

III. METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

Esta investigación es de tipo cualitativo, narrativo de tópicos y revisión sistemática basada en las actuales aplicaciones de microorganismos bacterianos y fúngicos para biorremediar o tratar suelos contaminados con petróleo sus residuos o derivados. Explica además e fenómeno causado por el cambio climático (Hernández, Fernández y Baptista, 2017, p. 470).

3.2. Categorías, Subcategorías y matriz de categorización apriorística

En la tabla 3 se detalla la matriz de categorización apriorística donde señala los objetivos específicos, problemas específicos, las categorías y sub categorías.

Tabla. 1 Matriz de categorización apriorística

Objetivos específicos	Problemas específicos	Categorías	Subcategorías	Referencias
OE1: Identificar las características fisicoquímicas de los suelos contaminados con compuestos petrolígenas y sus requerimientos para la bioremediación	¿Cuáles son las características fisicoquímicas de los suelos contaminados con compuestos petrolígenas y sus requerimientos para la bioremediación?	Características fisicoquímicas	pH, nutrientes, carbono, mineralogía	Maddela, et al (2016), Tao et al. (2019), Wu et al. (2017)
OE2: Analizar las técnicas de bioremediación para remover compuestos petrolígenos	¿Qué técnicas de bioremediación para remover compuestos petrolígenos se aplican en la actualidad?	Técnicas de bioremediación	bioestimulación, bioaumentación, compost, adsorción	Wang et al (2021), Wang et al. (2019)
OE3: Analizar la comunidad de microorganismos y la degradación de los contaminantes petrolígenos	Como responde la comunidad de microorganismos en la degradación de los	Comunidad de microorganismos	bacterias hongos	Benguenab et al. (2021), AlKaabi et al. (2020)

	contaminantes petrolígenos			
OE4: Analizar los cambios en la microbiota del suelo y la actividad microbiana	¿Cuáles son los cambios en la microbiota del suelo y la actividad microbiana?	Cambios en la microbiota	rutas metabólicas	Bellino et al. (2019) Vasilyeva et al. (2019), Pele et al. (2018)

3.3. Escenario de estudio

No se presenta un escenario definido, debido a que este estudio es totalmente una revisión bibliográfica sobre la aplicación de microorganismos que incluyen bacterias u hongos para degradar compuestos tóxicos de petróleo o derivados para lo cual se ha revisado la base de datos Scopus y Sciencedirect..

3.4. Participantes

Se han seleccionado artículos provenientes de Scopus, de Sciencedirect y de la base de datos Google académico, considerando su relevancia para el tema.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se ha desarrollado una búsqueda y colecta de la información aplicando el análisis documental, que servirá como base para la investigación (Domínguez, 2016, p. 15). El inicio de la búsqueda bibliográfica, ha dependido del tema central con palabras clave relacionadas con la aplicación microbiana y fúngica sobre suelos contaminados sea por las actividades humanas o contaminadas artificialmente como pruebas de laboratorio para medir la eficiencia de las aplicaciones, que incluyen el uso de los biosurfactantes. El aprovechamiento de la información colectada se ha relacionada con el análisis de cada artículo, lo cual ha permitido organizar apropiadamente de manera sistemática los distintos contenidos permitiendo una planificación adecuada de la estructura del informe y de la ruta final aplicada en el trabajo analítico posterior cumplido posteriormente y presentado en este documento final (Cegarra, 2011, p. 102). De acuerdo con la investigación, se definirán las técnicas de recolección de datos: que pueden ser documentales y observación (Domínguez, 2016, p. 55).

Según lo mencionado anteriormente en esta investigación se hizo uso una base de datos en Excel, la cual incluye información de: título, autor (es), tipo de documento, indexación, objetivo, método, resultado y conclusiones.

3.6. Procedimientos

Documentar y evaluar la situación actual y el nivel de investigación alcanzado respecto a las técnicas más recientes usadas en la bioremediación de suelos contaminados por petróleo y derivados por acción microbiana y fúngica.

3.7. Rigor científico

Para esta investigación se desarrollaron los siguientes criterios descritos por Varela y Vives (2016, p.194), quienes explican aspectos relevantes sobre el criterio de dependencia de la consistencia de la información, mediante los artículos científicos extraídos de bases de datos científicos. También se destaca la credibilidad debido las fuentes confiables, extraídas desde las fuentes científicas acreditadas. La confirmabilidad, se demuestra en los artículos seleccionados para esta investigación escogidos por sus descripciones teóricas.

3.8. Método de análisis de información

La información se agrupó de acuerdo a las categorías y sub categorías, El método comprende la revisión sistematizada de todos documentos que aparecen en la base de datos de la base Scopus que mantiene la Universidad Cesar Vallejos.

3.9. Aspectos éticos

Esta investigación presenta el aporte de artículos de investigación que aparecen en las bases de datos de revistas indexadas, se usa también las referencias bibliográficas siguiendo el manual ISO 690 de la Universidad César Vallejo, el análisis de resultados será respaldado por los criterios de rigor científico establecidos.

IV. Resultados y Discusión

OE1: Identificar las características fisicoquímicas de los suelos contaminados con compuestos petrolígenos y sus requerimientos para la bioremediación

La tabla presenta los resultados de revisión relacionados con las características de los suelos tratados experimentalmente para la remoción de compuestos petrolígenos. De acuerdo a la revisión generalmente se ha observado que los suelos contaminados con petróleo crudo presenta valores de pH más mayores que los suelos no contaminados, comparo una muestra de suelo de un campo petrolífero (pH=6.21) contra el suelo adyacente no contaminado (pH= 5.21) asociado a un mayor contenido de materia orgánica (Maddela, et al. 2016).

Según AlKaabi et al. (2020), para suelos muy contaminados como el de Dukhan (Qatar), los contenidos de carbono e hidrógeno en el suelo suelen ser altos y cuando el contenido de nitrógeno y fósforo es bajo (0.5 a 0.09 mg/kg) genera relaciones bajas de C/N/P (238/0.5/0.09) no resulta apropiado para el crecimiento microbiano en la bioremediación es necesario brindarle una relación apropiada sugerida por Benyahia y Embaby (2016) de (100/10/0.5 a 100/20/1) con pHs alrededor de 7, además el nitrato de amonio resulta apropiado como fuente de nitrógeno para las bacterias endógenas degradadoras de los hidrocarburos en el suelo, si como una humedad (13%) a 30 ° C mejora la proliferación bacteriana y la remoción de TPH, estas características sumadas a un proceso de bioaumentación de especies como *Bacillus licheniformis* y *Pseudomonas aeruginosa* aumentaría la remoción de TPHs.

La proporción óptima de carbono orgánico del petróleo a macroelementos (C: N:P:K) es uno de los factores cruciales en la remediación de suelos muy contaminados por acción microbiana, en esta relación han surgido proporciones de 100:1:1:1 y de otras recomendaciones como 50:1:1:1. Vasilyeva et al. (2019), trató suelos con elevada carga de hidrocarburos (34-114 g/kg), por lo que uso elevadas dosis de fertilizantes minerales (entre 340 y 2300 mg NPK/kg) pero su aplicación se efectuó de manera fraccionada incluyendo el encalado para no

acidificar el suelo por acumulaciones de ácidos como el HNO_3 o H_3PO_4 y entonces inhibir el crecimiento bacteriano, su tratamiento duro entre 6 y 12 meses (Ver tabla 2).

Tabla 2. Características de suelos contaminados con compuestos petrolígenos en experimentos de bioremediación.

pH	Nitrógeno Total/Nitrogenados	Fósforo	Potasio	COT (g/kg)	Concentración de Contaminantes petrolígenos	Preparación de suelos	Referencias
3.08	0.24	21.3	0.066 (meeq /100 ml)		31500 TPH (mg/kg)	Suelo sólidos	Maddela, et al (2016)
					21500 TPH (mg/kg)	Suelo en suspension	
7.9	0.35 NT g/kg	386.84 (ppm)	-	9.17	5000 TPH (mg/kg)	CK-suelo sin inóculo o enmienda	Tao et al. (2019)
7.4	0.57 NT g/kg	366.58 (ppm)	-	16.27	5000 TPH (mg/kg)	E-suelo modificado con polvo de paja seca de <i>Eichhornia crassipes</i> (10% p / p)	
7.58	0.44 NT g/kg	334.57 (ppm)	-	8.95	5000 TPH (mg/kg)	B-suelo inoculado con la suspensión del consorcio bacteriano	
7.56	0.5 NT g/kg	337.5 (ppm)	-	12.59	5000 TPH (mg/kg)	EB-suelo bioaumentado con el consorcio de bacterias inmovilizadas con paja seca de <i>Eichhornia crassipes</i> (10% p / p)	
-	-	-	-	-	10000 benzo [a] pireno (mg/kg)	suelos arrozales	Wang et al (2021)
					10000 benzo [a] pireno (mg/kg)	suelos rojos (acrisoles férricos y antrosoles)	
7.63	0.0448 NT g/kg	3.126 (mg/kg)	95.55 (mg/kg)	0.48	petróleo crudo	suelo contaminado artificialmente	Benguenab et al. (2021).
					petróleo crudo	suelo contaminado artificialmente	

					diesel	suelo contaminado artificialmente	
					diesel	suelo contaminado artificialmente	
					aceite	suelo contaminado artificialmente	
					aceite	suelo contaminado artificialmente	
-	-	-	-	-	< 200 PAH ug/kg	suelo rojo mineral	Wang et l. (2018)
					< 200 PAH ug/kg	suelo rojo mineral	
					10.3 pireno (ug/kg)	suelo de arroz	
					50.4 pireno (ug/kg)	suelo de arroz	
7.2	0.007 ug/g (NO3) +NO2(0.136 ug/g)	0.35 (PO4 ug/g)	0.4 mg/g		TPH-DRO(<1 ug/kg) y TPH (ORO =280 mg/kg) equivalente a n-heptadecano/pristano y n-octadecano/fitano	Suelo de AlZubara	AlKaabi et al. (2020)
6.73	0.002 ug/g (NO3) +NO2(0.025 ug/g)	0.09 (PO4 ug/g)	0.09 (mg/g)		TPH-DRO(6250 ug/kg) y TPH (ORO =39700 mg/kg) equeivalente a n-heptadecano/pristano y n-octadecano/fitano	Suelo de Dukhan	
-	-	-	-	-	150 antraceno (mg/kg)	Suelo con compost de residuos biológicos	Bellino et al. (2019)
					151 benzo [a] pireno (mg/kg)	Suelo con micelio fúngico	

5.8	13 (mg/kg)	46 (mg/kg)	94 (mg/kg)	-	petróleo 50, 100 o 150 (g/kg)	Suelo de Pushchino contaminados artificialmente (Rusia) con 26.6% de alcanos, 32.9% de cicloalcanos, 26.5% de aromáticos, 10.0% de resinas y 4.0% de asfaltenos	Vasilyeva et al. (2019)
-	-	-	-	-	100000 aceite diesel (mg/Kg)	Suelos marinos tratado con biosurfactante de la cepa	Pele et al. (2018)
8.4	921 (mg/kg)	160 (mg/kg)	-	765 (g/kg)	alcano: 15400 (mg/kg)	Suelo seco sin tratar (CK)	Wu et al. (2017)
					alcano: 15400 (mg/kg)	Adición de 20% de humedad en el suelo (WHC)	
					alcano: 15400 (mg/kg)	Bioaumentación con consorcio de bacterias, y 20% de humedad (BA)	
					alcano: 15400 (mg/kg)	Bioestimulación con (NH ₄) ₂ SO ₄ y KH ₂ PO ₄ y 20% de humedad (BS)	
					aromaticos = 2180 (mg/kg)	Suelo seco sin tratar (CK)	
					aromáticos = 2180 (mg/kg)	Adición de 20% de humedad en el suelo (WHC)	
					aromáticos = 2180 (mg/kg)	Bioaumentación con consorcio de bacterias, y 20% de humedad (BA)	
					aromáticos = 2180 (mg/kg)	Bioestimulación con (NH ₄) ₂ SO ₄ y KH ₂ PO ₄ y 20% de humedad (BS)	

OE2: Analizar las técnicas de bioremediación para remover compuestos petrolígenos

Tao et al. (2019) La aplicación de *Eichhornia crassipes* bajo dos formas, la primera inmovilizada en paja seca y la segunda en una suspensión sobre un suelo contaminado con THP, demostró que la bacteria inmovilizada se adapta mejor a las condiciones del suelo que presenta una comunidad indígena debido a la estimulación de la biodegradación del TPH ya que aumentaría el suministro de oxígeno y nutrientes al suelo, en cambio la suspensión añadida ante un suelo con una comunidad de microorganismos indígenas (tratamiento E) genera una competencia en la que predominaría las microorganismos indígenas con limitada capacidad para biodegradar el TPH.

La aplicación de microorganismos para tratar suelos y matrices ambientales contaminados por compuestos petrolígenos según Asemoloye et al. (2019) se rigen por el concepto de ser respetuoso con el ambiente, además de mostrar seguridad y de ser rentable, ya que genera un entorno apropiado para la rehabilitación de suelos contaminados, plantea una fórmula simple para mostrar la ruta metabólica seguida en proceso aerobios y anaeróbicos en la remoción de hidrocarburos de petróleo en el suelo, de acuerdo a la siguiente expresión:

Biodegradación aeróbica:

Biota + Compuesto de hidrocarburos + Oxígeno O₂ + - Enzima = Biota + Agua (H₂O) + Residuo ecuación (1)

Biodegradación anaeróbica:

Biota + Compuesto de hidrocarburo + Dióxido de carbono (CO₂) + - Enzima = Biota + metano (CH₄) + Agua (H₂O) + Residuo ecuación (2)

AlKaabi et al. (2020) demostró la variedad de comunidades bacterianas en suelos superficiales contaminados y a 20 cm de profundidad (suelos de Qatar: AlZubara y Dukhan), asociado a contenidos pobres de compuestos orgánicos biodegradables requeridos para el crecimiento y mantenimiento de las células, eso implica que pocas células son capaces de adaptarse y subsistir especialmente cuando la toxicidad del contaminantes es elevada como el caso del diésel (10

equivalente a 75 g/L. Entre las cepas que se adaptaron se contabilizaron las de *Providencia rettgeri* (aceite), del genero *Pseudomonas*, *Bacillus* (*Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis*) en muestras de suelo superior e inferior mientras que especies de *Pantoea calida* fue registrada sólo en la muestra de suelo inferior. Cuando se trata de bacterias degradantes del petróleo inoculadas se espera que estas prosperan en suelos bajo el nicho de competencia especialmente si están sujetas a la inmovilización celular ya que Tao et al. (2019) demostró que esta técnica mejora la supervivencia celular y ofrece una protección a las células que han sido inoculadas ante la adversidad de factores ambientales así se reduce la competencia con microorganismos autóctonos.

Bellino et al. (2019) ha informado que en un suelo contaminado con antraceno y el **benzo [a] pireno** en suelos no tratados, se produce una remoción sustancial de estos PAH con una dinámica lenta debido a una dinámica sucesional natural que ocurre en las comunidades microbianas explicada en la reducción progresiva de los recursos tróficos requeridos por los microorganismos que metabolizan los PAHs destacando la acción grupos microbianos como hongos y metanótrofos (tipo II) en la degradación de antraceno y el benzo [a] pireno, por lo que un alto contenido de materia orgánica genera abundantes recursos tróficos para los microorganismos mejorando sus condiciones para su crecimiento. Posteriormente, **Benguenab et al. (2020)**, demostró la capacidad de biodegradación de los hongos sobre los suelos contaminados con aceite, diésel y crudo, tales como el *Aspergillus ustus* HM3.aaa, *Purpureocillium lilacinum* HM4.aaa, capaces de crecer en aceites de petróleo (0, 2, 4 y 6%), sin embargo a pesar de contar con los requerimientos nutricionales existen diferencias fisiológicas intrínsecas entre género y especie, evidencio que el *A. ustus* toleró altas concentraciones de petróleo crudo (2%) a (6%) sin inhibiciones en su tasa de crecimiento, siendo tolerantes a estos contaminantes petrolígenos, mientras que *P. lilacinum* seria afectado significativamente con concentraciones de 6% de los aceites estudiados siendo afectado por la toxicidad en su metabolismo afectándolo en la degradación de los xenobióticos.

Vasilyeva, et al. (2019), informe que la base de material microbiano autóctono inicial ascendió de una base de 104 UFC/g en el suelo de fondo hasta 108 a 109 UFC/g durante dos años de biorremediación. Sin embargo, incluyeron cepas de

Pseudomonas putida B -2187 y *Rhodococcus erythropolis* las que fueron inhibidas significativamente en aquellos suelos altamente contaminados por su elevada toxicidad.

Wu et al. (2017), experimento durante 8 semanas de tratamiento suelos contaminado con compuesto petrolígenos aplicando 04 tipos distintos de técnicas, los resultados indicaron remociones de alcanos dejando el suelo solo a condiciones ambientales (CK) del 20%, el segundo tratamiento en el que solo se agregó 20% de humedad redujo el 21% (WHC), el tercero en el que aplico una bioestimulación usando $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y KH_2PO_4 y 20% de humedad (BS) logro una mayor remoción de 53.2% y el cuarto aplicando una bioaumentación con cepas *Pseudomonas stutzeri* GQ-4 cepa KF453954, *Pseudomonas* SZ-2 cepa KF453956 y *Bacillus* SQe2 cepa KF453961, + 20% de humedad (BA) logró el 60% de remoción. También cuantificó la eliminación de HAPs y reporto una remoción del 12.84% de suelo seco sin tratar (CK), 21.1% en los suelos humedecidos (WHC), 25.2% en los suelos bioestimulados (BS) y el 48.6% en suelos en los que se aplicó la bioaumentación (BA), lo cual evidenció que el tratamiento de bioaumentación fue más efectivo para remover los HAPs y alcanos que otros autores también han evidenciado (Chen et al. 2015, Aranda 2016) (ver tabla 3).

Tabla 3. Técnicas de bioremediación para remover compuestos petrolígenos

Aplicación de Microorganismos	Tipo de preparación de suelos	Concentración de Contaminantes petrolígenos	Concentración final (mg/kg)	Referencias
Bioaumentación	Suelo sólidos	31500 TPH (mg/kg)	6500	Maddela, et al (2016)
Bioaumentación	Suelo en suspensión	21500 TPH (mg/kg)	2600	
Atenuación natural	CK-suelo sin inóculo o enmienda	5000 TPH (mg/kg)	3267	Tao et al. (2019)
Atenuación natural	E-suelo modificado con polvo de paja seca de <i>Eichhornia crassipes</i> (10% p / p)	5000 TPH (mg/kg)	3150	
Bioaumentación	B-suelo inoculado con la suspensión del consorcio bacteriano	5000 TPH (mg/kg)	3200	
Bioaumentación	EB-suelo bioaumentado con el consorcio de bacterias inmovilizadas con paja seca de <i>Eichhornia crassipes</i> (10% p / p)	5000 TPH (mg/kg)	2417	
Atenuación natural	suelos arrozales	10000 benzo [a] pireno (mg/kg)	6900	Wang et al (2021)
Atenuación natural	suelos rojos (acrisoles férricos y antrosoles)	10000 benzo [a] pireno (mg/kg)	7500	
Atenuación natural	suelo rojo mineral	< 200 PAH ug/kg	25.5	Wang et I. (2018)
Atenuación natural	suelo rojo mineral	< 200 PAH ug/kg		
Atenuación natural	suelo de arroz	10.3 pireno (ug/kg)	0.5	
Atenuación natural	suelo de arroz	50.4 pireno (ug/kg)		

Bioaumentación	Suelo de AlZubara	TPH-DRO(<1 ug/kg) y TPH (ORO =280 mg/kg) equivalente a n-heptadecano/pristano y n-octadecano/fitano	224	AlKaabi et al. (2020)
Bioaumentación	Suelo de Dukhan	TPH-DRO(6250 ug/kg) y TPH (ORO =39700 mg/kg) equivalente a n-heptadecano/pristano y n-octadecano/fitano	6892.5	
Bioaumentación	Suelo con compost de residuos biológicos	150 antraceno (mg/kg)	-	Bellino et al. (2019)
	Suelo con micelio fúngico	151 benzo [a] pireno (mg/kg)	-	
Bioaumentación	Suelo de Pushchino contaminados artificialmente (Rusia) con 26.6% de alcanos, 32.9% de cicloalcanos, 26.5% de aromáticos, 10.0% de resinas y 4.0% de asfaltenos	petróleo 50000, 100000 o 150000 (mg/kg)	3100, 5900 y 9200	Vasilyeva et al. (2019)
Bioaumentación	Suelos marinos tratado con biosurfactante de la cepa	100000 aceite diesel (mg/Kg)	20600	Pele et al. (2018)
Atenuación natural	Suelo seco sin tratar (CK)	15400 alcano (mg/kg)	12300	Wu et al. (2017)
-	Adición de 20% de humedad en el suelo (WHC)	15400 alcano (mg/kg)	12200	
Bioaumentación	Bioaumentación con consorcio de bacterias, y 20% de humedad (BA)	15400 alcano (mg/kg)	6160	

Bioestimulación	Bioestimulación con (NH ₄) 2SO ₄ y KH ₂ PO ₄ y 20% de humedad (BS)	15400 alcanos (mg/kg)	7200	
Atenuación natural	Suelo seco sin tratar (CK)	2180 aromáticos (mg/kg)	1900	
-	Adición de 20% de humedad en el suelo (WHC)	2180 aromáticos (mg/kg)	1720	
Bioaumentación	Bioaumentación con consorcio de bacterias, y 20% de humedad (BA)	2180 aromáticos (mg/kg)	1630	
Bioestimulación	Bioestimulación con (NH ₄) 2SO ₄ y KH ₂ PO ₄ y 20% de humedad (BS)	2180 aromáticos (mg/kg)	1120	

OE3: Analizar la comunidad de microorganismos y la degradación de los contaminantes petrolígenos

Alcanos. Para un contenido de grupos de alcano de carbonos de peso bajo a medio (C11-C25), luego de 30 días de tratamiento con la aplicación de inóculos de *Eichhornia crassipes* inmovilizada o en suspensión se logró que los grupos C20-C25 fueran eliminados casi al 50%, mientras que los grupos de carbonos alcanos entre C11-C13 fueron los más recalcitrantes Tao et al. (2019).

Benguenab et al. (2020), uso *P. lilacinum* un hongo que presento niveles significativos de remoción de petróleo crudo (44.55%) y diésel (27.66%), una prueba de comparación en la biodegradación con *A. ustus*, demostró una diferencia significativa de remoción entre *P. lilacinum* (44,55%) y *A. ustus* (30,43%) en la degradación del petróleo crudo, que fue el aceite más degradado en comparación con el diésel y el aceite. El aceite es menos metabolizado por ambos hongos, sugiriendo una baja capacidad de degradación debido a que el aceite contiene metales pesados e hidrocarburos aromáticos policíclicos tóxicos que son muy recalcitrantes. Es importante destacar que los microorganismos generan enzimas que producen biosurfactantes y su aplicación se ha extendido, Pele et al (2018) produjo biosurfactantes a partir de la cepa *R. arrhizus* UCP 1607 para eliminar el aceite diésel del suelo marino contaminado artificialmente, logrando remover el 79,4% del diésel impregnado en suelo marino.

Aromáticos. Wang et al. (2021) experimentó eliminando benzo [a] pireno en suelos de arroz y suelos rojos (acrisoles férricos), el estudio fue aplicado de la siguiente manera, solo suelo rojo (R) con *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes* y *Gemmatimonadetes*, solo suelo de arroz (P) con proliferación de *Proteobacteria* y *Actinobacteria*, *Acidobacteria* y *Chloroflexi*, mezcla de suelo rojo con el de arroz (PR) y los controles de todos pero esterilizados, de acuerdo a la tabla, luego de 14 días, la concentración inicial de BaP de 10000 mg/kg se redujeron a 6.9 y 7.5 mg/kg para el suelo de arroz y suelo rojo de arroz, mientras que el suelo rojo casi no removió nada ya que registró un BaP residual de 9.8 mg/kg y los controles resultaron recalcitrantes esto sugiere que el microbioma del suelo rojo mineral mantiene un potencial débil para eliminar BaP y que la combinación de suelos genera microbiomas mixto que mejoran la remoción de BaP. El potencial del

tipo de suelo y sus comunidades fue demostrado antes para eliminar PAH y pireno para estas mismas matrices con una mayor eficiencia de remoción en los suelos de arroz (98%) mientras que los suelos minerales rojos (19%) fue mucho menor cuando fueron sometidos a un periodo de 42 días de tratamiento (Wang et al. 2018).

Vasilyeva et al. (2019) trató suelos artificialmente contaminados con petróleo para eliminar el TPH que tuvo valores iniciales de 43.5, 87.6 y 130.5 g/kg durante 2 años lográndose reducir a 12, 35 y 60 g/kg con remociones de 64, 56 y 47%, su evaluación a lo largo de este periodo mostró que la biodegradación se aceleraba durante estaciones cálidas como el verano y lenta en estaciones frías, del mismo modo la velocidad de remoción fue mayor durante el primer año, mientras que en el segundo año esta se redujo debido a la menor tasa de degradación de los hidrocarburos de alto peso molecular, además la aplicación de adsorbentes individuales de carbón activado y diatomita como su mezcla, demostró la mejora de las degradaciones de HTP con estas destacando la mezcla de ambos adsorbentes con mejor rendimiento para la dinámica microbiana.

Tabla 4. Microorganismos y predominantes en el proceso de degradación de los contaminantes petrolígenos

Microorganismos	Tipo de preparacion de suelos	Contaminantes petrolígenos	Remoción	Referencias
<i>Bacillus cereus, Bacillus thuringiensis, Geomyces pannorum y Geomyces sp.</i>	Suelo solido	31500 TPH (mg/kg)	79.36%	Maddela, et al (2016)
<i>Bacillus cereus, Bacillus thuringiensis, Geomyces pannorum y Geomyces sp.</i>	Suelo en suspension	21500 TPH (mg/kg)	87.90%	
<i>Cytophagales Rhizobiales</i>	CK-suelo sin inóculo o enmienda	5000 TPH (mg/kg)	34.60%	Tao et al. (2019)
	E-suelo modificado con polvo de paja seca de <i>Eichhornia crassipes</i> (10% p / p)	5000 TPH (mg/kg)	37%	
<i>Burkholderiales</i>	B-suelo inoculado con la suspensión del consorcio bacteriano	5000 TPH (mg/kg)	36%	
<i>Cytophagales Rhizobiales</i>	EB-suelo bioaumentado con el consorcio de bacterias inmovilizadas con paja seca de <i>Eichhornia crassipes</i> (10% p / p)	5000 TPH (mg/kg)	51.60%	
<i>Proteobacteria y Actinobacteria , Acidobacteria y Chloroflexi</i>	suelos arrozales	10000 benzo [a] pireno (mg/kg)	31%	Wang et al (2021)
<i>Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Actinobacteria, Planctomycetes y Gemmatimonadetes,</i>	suelos rojos (acrisoles férricos y antrosoles)	10000 benzo [a] pireno (mg/kg)	25%	

<i>Aspergillus ustus</i> HM3.aaa	suelo contaminado artificialmente	petróleo crudo	30.43%	Benguenab et al. (2021).
<i>Purpureocillium lilacinum</i> HM4.aaa	suelo contaminado artificialmente	petróleo crudo	44.55%	
<i>Aspergillus ustus</i> HM3.aaa	suelo contaminado artificialmente	diesel	21.27%	
<i>Purpureocillium lilacinum</i> HM4.aaa	suelo contaminado artificialmente	diesel	27.66%	
<i>Aspergillus ustus</i> HM3.aaa	suelo contaminado artificialmente	aceite	16.00%	
<i>Purpureocillium lilacinum</i> HM4.aaa	suelo contaminado artificialmente	aceite	14.39%	
<i>Nevskia, Ralstonia, Gemmatimonas y Lysobacter</i>	suelo rojo mineral	< 200 PAH ug/kg	19%	Wang et l. (2018)
	suelo rojo mineral	< 200 PAH ug/kg		
pireno dioxigenasa (nidA)	suelo de arroz	10.3 pireno (ug/kg)	98%	
	suelo de arroz	50.4 pireno (ug/kg)		
<i>Bacillus y Virgibacillus</i>	Suelo de AlZubara	TPH-DRO(<1 ug/kg) y TPH (ORO =280 mg/kg) equivalente a n-heptadecano/pristano y n-octadecano/fitano	20%	AlKaabi et al. (2020)
<i>Bacillus y Pseudomonas</i>	Suelo de Dukhan	TPH-DRO(6250 ug/kg) y TPH (ORO =39700 mg/kg) equeivalente a n-heptadecano/pristano y n-octadecano/fitano	85%	

<i>Armillaria mellea</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Pleurotus eryngii</i> y <i>Stropharia ferii</i>	Suelo con compost de residuos biológicos	150 antraceno (mg/kg)	-	Bellino et al. (2019)
	Suelo con micelio fúngico	151 benzo [a] pireno (mg/kg)	-	
<i>Pseudomonas putida</i> B - 2187 y <i>Rhodococcus erythropolis</i>	Suelo de Pushchino contaminados artificialmente (Rusia) con 26.6% de alcanos, 32.9% de cicloalcanos, 26.5% de aromáticos, 10.0% de resinas y 4.0% de asfaltenos	petrleo 50, 100 o 150 (g/kg)	93%, 94.1%, 93.8%	Vasilyeva et al. (2019)
<i>Rhizopus arrhizus</i> UCP 1607	Suelos marinos tartado con biosurfactante de la cepa	100000 aceite diesel (mg/Kg)	79.40%	Pele et al. (2018)
-	Suelo seco sin tratar (CK)	15400 alcano (mg/kg)	20.1	Wu et al. (2017)
-	Adición de 20% de humedad en el suelo (WHC)	15400 alcano (mg/kg)	20.10%	
<i>Pseudomonas stutzeri</i> GQ-4 cepa KF453954, <i>Pseudomonas</i> SZ-2 cepa KF453956 y <i>Bacillus</i> SQe2 cepa KF453961	Bioaumentación con consorcio de bacterias, y 20% de humedad (BA)	15400 alcano (mg/kg)	60%	
-	Bioestimulación con (NH ₄) ₂ SO ₄ y KH ₂ PO ₄ y 20% de humedad (BS)	15400 alcano (mg/kg)	53.20%	
-	Suelo seco sin tratar (CK)	2180 aromáticos (mg/kg)	12.84%	
-	Adición de 20% de humedad en el suelo (WHC)	2180 aromáticos (mg/kg)	21.10%	

<i>Pseudomonas stutzeri</i> GQ-4 cepa KF453954, <i>Pseudomonas</i> SZ-2 cepa KF453956 y <i>Bacillus</i> SQe2 cepa KF453961	Bioaumentación con consorcio de bacterias, y 20% de humedad (BA)	2180 aromáticos (mg/kg)	25.20%	
-	Bioestimulación con (NH ₄) 2SO ₄ y KH ₂ PO ₄ y 20% de humedad (BS)	2180 aromáticos (mg/kg)	48.60%	

OE4: Analizar los cambios en la microbiota del suelo y la actividad microbiana

Tao et al (2019) registró los cambios en la comunidad nativa del suelo contaminado con n-alcanos, al aplicarse polvo de la paja seca de la especie vegetal *Eichhornia crassipes* en 04 formas, la primera tratando el suelo bioaumentado con *Burkholderia sp* inmovilizadas con paja seca (10% p/p) en la cual predominó una primera categoría de géneros desde *Steroidobacter* hasta *Catellatospora*; un segundo tratamiento independiente de suelo modificado con polvo de paja seca de *Eichhornia crassipes* (10% p/p) en la que proliferó una segunda categoría de microorganismos que cubrió *Promicromonospora* a *Actinotalea*; un tercer tratamiento de suelo sin inóculo o enmienda (CK) que resalto una tercera categoría que cubrió desde *Nocardioides* a *Rhodoplanes* y un cuarto tratamiento de suelo inoculado con la suspensión del consorcio bacteriano (B) que generó una cuarta categoría cubierta por los géneros de *Perlucidibaca* a *Gemmata*. Los órdenes *Cytophagales* y *Rhizobiales* participaron en dicho proceso y su efecto sinérgico puede contribuir a mejorar la fertilidad del suelo. Además, las abundancias relativas de *Pseudomonadales*, *Burkholderiales*, *Saprospirales* y *Myxococcales* se correlacionaron negativamente con la abundancia de *Actinomycetales*, lo que puede sugerir el efecto antagonista de *Actinomycetales* con la capacidad de sintetizar policétidos y antibióticos peptídicos no ribosómicos en los microcosmos del suelo Tao et al (2019).

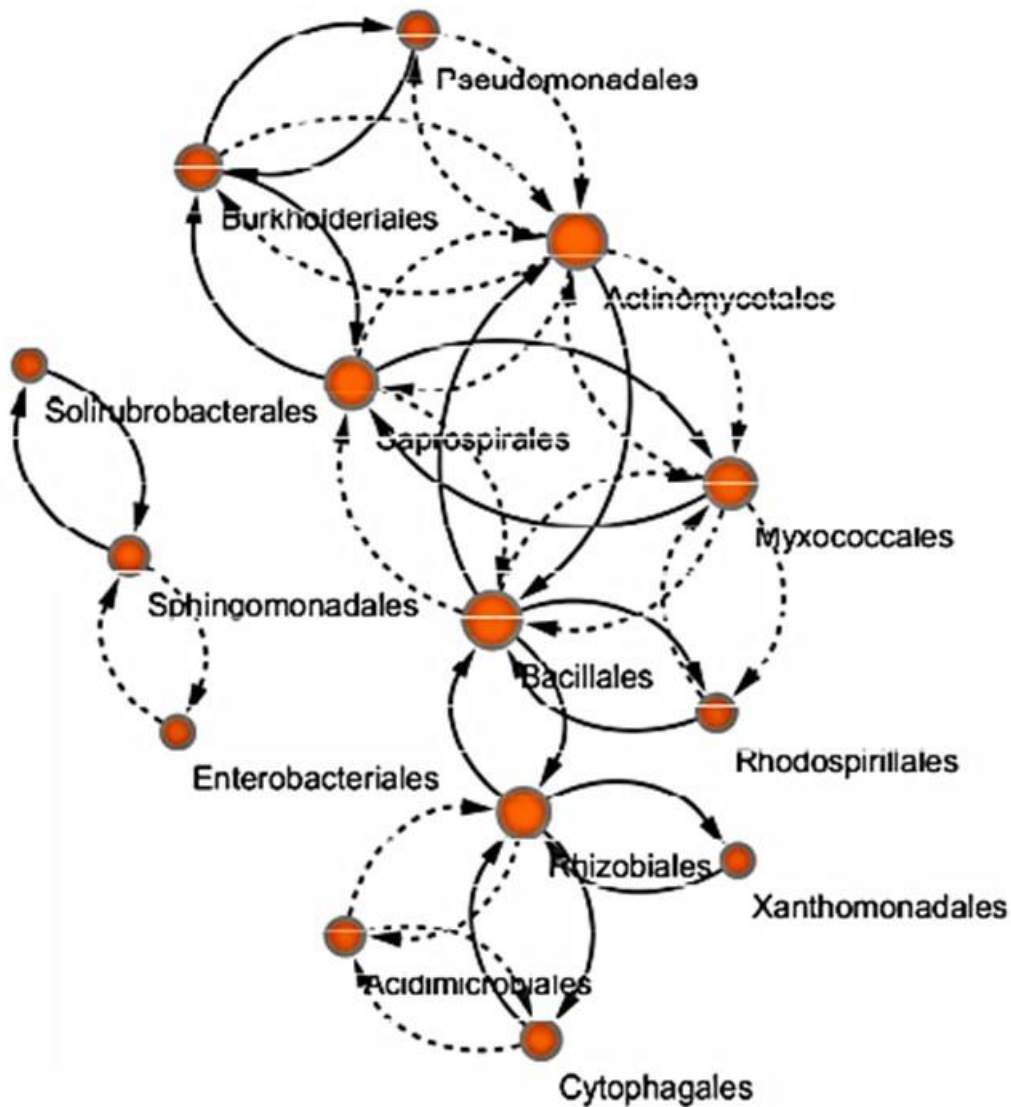


Figura 8. Distribución y conectividad entre la comunidad microbológica en el suelo planteada por Tao et al. (2019).

Wang et al. (2021), en su tratamiento de suelos para la eliminación de benzo [a] pireno en suelos de arroz y de mineral rojo, descubrió que las comunidades dominantes fueron de *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes* y *Gemmatimonadetes*, con abundancias relativas distintas debido a la naturaleza de cada tipo de suelos, de tal forma que las *Acidobacterias* fueron más abundantes en el suelo rojo y las *Proteobacteria* y *Actinobacteria* en los suelos de arroz (P) y una menor abundancia relativa de *Acidobacteria* y *Chloroflexi*, lo cual evidencio comunidades microbianas distintas de los suelos rojos y arrozales. Suelos minerales rojos con géneros de *Gammaproteobacteria* actúan como

una comunidad degradadora de BaP, mientras que cuatro taxones *Saccharothrix*, *Phylobacterium*, *Micromonospora* y *Nocardioideis* fueron responsables de la biodegradación del BaP en el suelo autóctono. Mientras que en la eliminación de HAP y pireno en estos mismo suelos, solo el de arroz permitió una mayor abundancia relativa de géneros se clasifican como *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Proteobacteria* a nivel de *phylum*. (Wang et al. 2018).

Las comunidades capaces de degradar los diversos tipos de hidrocarburos como el diésel no necesariamente se encuentran distribuidos homogéneamente en las primeras cm de profundidad de os suelos afectado, por ejemplo en los suelos contaminados de Qatar se reportaron género *Bacillus* (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* y *Bacillus circulans*), cepas de *Providencia rettgeri* capaces de mantenerse en el suelo superficial mientras que las especies *Virgibacillus halodenitrificans* y *Vrgibacillus marismortui* se registraron en capas de suelo más bajas (AlKaabi et al. 2020).

Bellino et al. (2019) demostró la variación estructural bacteriana en suelo contaminado con antraceno y benzo [a] pireno al tratarlos con compost y con un consorcio de hongos, vio que la adición de compost (residuos biológicos) no provocaba cambios significativos en la estructura de la comunidad microbiana al suelo no contaminado debido al alto contenido de materia orgánica propia del suelo, pero si encontró abundancia de bacterias Gram positivas en el especialmente actinobacterias gracias los compost y por ende fue más abundante en suelos con adición de hongos de actinomicetos (Sekaran et al., 2019).

V. CONCLUSIONES

OE1: Las características fisicoquímicas de los suelos resultan cruciales porque determinan la distribución microbiológica y la dinámica e interacciones en los distintos niveles de las capas del suelo, el pH resulta crucial y suele ser elevado en suelos muy contaminados, debido a la materia orgánica presente, sin embargo los niveles de contaminantes presenta dependiendo de su estructura química tales como alifáticos o aromáticos podrían limitar la adaptación y abundancia relativa microbiana, su bioremediación requiere altos contenidos de carbono e hidrógeno con relación de nutrientes C/N/P apropiadas para el crecimiento microbiano en rangos cercanos a 100/10/0.5 y pHs neutros. Asimismo una temperatura resuelta mesofílica en el rango de los 30°C y humedad relativa mejora la proliferación bacteriana y por ende la movilidad y remoción de los contaminantes petrolígenos

OE2: Se han descrito diversas técnicas de bioremediación y aun se va incursionando en nuevas técnicas además de los clásicos procesos de bioaumentación usando consorcios bacterianos y de bioventeo, también se cuentan las técnicas de inmovilización usando materiales como polvos seco de plantas o adsorbentes minerales como el carbón activo y tierras no metálicas que permiten proteger a las células y asegurar su supervivencia entre la comunidad nativa, la aplicación es válida no solo para las bacterias sino para hongos aerobios. La técnica del compostaje también es aplicada mediante pilas con suficiente dosis de nutrientes, se suelen aplicar también reactores con suelos suspendidos que permiten una mayor movilidad de los microorganismos, sin embargo la toxicidad de los hidrocarburos influirá en la tolerancia o respuesta de los microorganismos.

OE3: La aplicación de microorganismos no solo comprende a las bacterias sino también a los hongos filamentosos en el modo aerobio de distintos tipo de compuestos hidrocarbonados, sin embargo su potencial es variado dependiendo de las condiciones ambientales y de la estructura, toxicidad y de la presencia de sustancias recalcitrantes. Los alcanos son eliminados con facilidad por cierto grupo fúngico, se ha demostrado que el *P. lilacinum*, *A. ustus*, son capaces de remover petróleo crudo, aceites. La generación de enzimas resulta cruciales, debido a que

estas difieren en su polaridad y en su naturaleza intracelular o extracelular. Los actinomicetos pueden presentar enzimas intracelulares lipofílicas que actúan sobre componentes hidrocarbonados de mayor peso molecular como los alcanos C10 en adelante mientras que las *Pseudomonas* tiende a ser más polares con enzimas extracelulares que degradan mejor carbonos de cadena más corta. Inclusive los hongos generan biosurfactantes como al especie *R. arrhizus* que tiene potencial de biodegradación. Los hidrocarburos aromáticos como benzo [a] pireno, pireno y otros entre otros han sido degradados por una serie de microorganismos como *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Actinobacteria*, *Planctomycetes* y *Gemmatimonadetes*. Su actividad se vuelve dependiente de las condiciones estacionales, ya que estaciones cálidas aceleran el proceso mientras que estaciones frías la desaceleran.

OE4: La composición y estructura de la comunidad microbiana y su dinámica determinan el grado de eliminación de los hidrocarburos del petróleo en los suelos, esto dependerá de las propiedades fisicoquímicas de los suelos, así como de las condiciones ambientales, como temperatura, precipitación, radiación solar etc., esto quiere decir que la composición y estructura de la microbiota varía con el tiempo. Se ha comprobado que la materia orgánica biodegradable y nutrientes presentes definen la dinámica microbiana, además dependerá de la técnica de bioremediación aplicada, en un proceso de bioaumentación, por ejemplo, la presencia de residuos agrícolas favorecen la adsorción microbiana, y con ello la adaptabilidad de los microorganismos degradadores frente a la competencia de los nativos, se han identificado bacterias gram positivas y gram negativas, generalmente se han reportado entre muchos a las especies de *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp, *Burkholderia* sp y géneros de *Steroidobacter*, *Catellatospora*; *Promicromonospora*, *Rhodoplanes* entre otros, también se han descrito órdenes como como *Cytophagales* y *Rhizobiales* entre otros.

VI. RECOMENDACIONES

Se sugieren más estudios para examinar el potencial de bacterias y hongos candidatos para la degradación de hidrocarburos en microcosmos del suelo y se deben realizar pruebas de ecotoxicidad para evaluar la efectividad del enfoque de biorremediación en la preservación y rehabilitación del suelo.

Se recomienda investigar los CYP de los microorganismos especialmente de los hongos para comprender su fisiología y explotar sus funciones como catalizador

También es importante ahondar en la búsqueda de nuevas enzimas fúngicas y bacterianas y sus variantes dirigidos a la eliminación de sustancias recalcitrantes

Es importante seguir explorando las vías biodegradativas aeróbicas y anaeróbicas de los hidrocarburos alifáticos, aromáticos y de los genes relacionados

Experimentar técnicas combinadas de biorremediación que mejoren la remoción amistosa de los suelos disminuyendo los impactos secundarios por el tratamiento.

REFERENCIAS

1. ALKAABI, N., AL-GHOUTI, M. A., JAOUA, S., & ZOUARI, N. (2020). Potential for native hydrocarbon-degrading bacteria to remediate highly weathered oil-polluted soils in Qatar through self-purification and bioaugmentation in biopiles. *Biotechnology Reports*, 28, e00543. doi:10.1016/j.btre.2020.e00543
2. ARANDA, E., 2016. Promising approaches towards biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons with Ascomycota fungi. *Curr. Opin. Biotechnol.* 38, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.12.002>.
3. ASEMOLOYE, M.D., JONATHAN, S.G., JAYEOLA, A.A., AHMAD, R. (2017). Mediatonal influence of spent mushroom compost on phytoremediation of black-oil hydrocarbon polluted soil and response of *Megathyrus maximus* Jacq. *J. Environ. Manag.* 200, 253–262. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.05.090>
4. ASEMOLOYE, M.D., JONATHAN, S.G., RAFIQ, A. (2019). Synergistic plant-microbes interactions in the rhizosphere: a potential headway for the remediation of hydrocarbon polluted soils. *International Journal of Phytoremediation*, DOI: 10.1080/15226514.2018.1474437
5. AYDIN, S., KARAÇAY, H.A., SHAHI, A., GÖKÇE, S., INCE, B., INCE, O., (2017). Aerobic and anaerobic fungal metabolism and Omics insights for increasing polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation. *Fungal Biol. Rev.* 31 (2), 61–72.
6. BELLINO, A., BALDANTONI, D., PICARIELLO, E., MORELLI, R., ALFANI, A., & DE NICOLA, F. (2019). Role of different microorganisms in remediating PAH-contaminated soils treated with compost or fungi. *Journal of Environmental Management*, 252, 109675. doi:10.1016/j.jenvman.2019.109675
7. BENGUENAB A., CHIBANI A. (2021). Biodegradation of petroleum hydrocarbons by filamentous fungi (*Aspergillus ustus* and *Purpureocillium lilacinum*) isolated from used engine oil contaminated soil. *Acta Ecologica Sinica*. <https://doi.org/10.1016/j.chnaes.2020.10.008>

8. BENYAHIA F., EMBABY A.S. (2016). Bioremediation of crude oil contaminated desert soil: effect of biostimulation, bioaugmentation and bioavailability in biopile treatment systems, *Int. J. Environ. Res. Pub. Health* 13, 219. doi:[http://dx. doi.org/10.3390/ijerph13020219](http://dx.doi.org/10.3390/ijerph13020219).
9. CEGARRA S. J. (2011). Metodología de la Investigación científica y tecnológica. Universidad Politecnica de Cataluña. <https://cienciaenlautn.files.wordpress.com/2018/08/cegarra-metodologacc81-de-la-investigaciocc81n-cienticc81fica-y-tecnolocc81gica-cap-2-3-y-4-unidad-1.pdf>
10. CHEN, M., XU, P., ZENG, G., YANG, C., HUANG, D., ZHANG, J. (2015). Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons, petroleum, pesticides, chlorophenols and heavy metals by composting: applications, microbes and future research needs. *Biotechnol. Adv.* 33, 745–755.
11. DACCÒ C., Girometta C., Asemoloye M. D., Carpani G., Picco A. M., Tosi S. (2020). Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation* 147-104866. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104866>
12. DALLINGER, A., DULDHARDT, I., KABISCH, J., SCHLÜTER, R., SCHAUER, F. 2016. Biotransformation of cyclohexane and related alicyclic hydrocarbons by *Candida maltosa* and *Trichosporon* species. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 107, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.11.015>.
13. DOMÍNGUEZ G. B. (2016). Manual de metodología de la investigación científica. Universidad católica Los Angeles Chimbote. 3er edición. https://evidencia.com/wp-content/uploads/2016/01/Manual_metodologia_investigacion_evidencia.pdf
14. DURAIRAJ, P., MALLA, S., NADARAJAN, S.P., LEE, P.G., JUNG, E., PARK, H.H., KIM, B.G., YUN, H. (2015). Fungal cytochrome P450 monooxygenases of *Fusarium oxysporum* for the synthesis of ω -hydroxy fatty acids in

- engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb.Cell Factories* 14, 1–16.
<https://doi.org/10.1186/s12934-015-0228-2>
15. FENG, S., SU, Y., ZHANG, W., CHEN, X., & HE, X. (2015). Effects of slope position and soil horizon on soil microbial biomass and abundance in Karst Primary Forest of Southwest China. *Huan Jing Ke Xue*, 36, 3832–3838.
 16. FERNÁNDEZ M.M, GARCÍA J. N., DE CASO-FUERTE A. M., ARIAS-GUNDÍN O. (2006). El aprendizaje basado en problemas: revisión de estudios empíricos internacionales. *Revista de Educación*, 341. pp. 397-418.
https://www.researchgate.net/publication/28132767_El_aprendizaje_basado_en_problemas_revision_de_estudios_empiricos_internacionales
 17. GAMBINO, E., TOSCANESI, M., DEL PRETE, F., FLAGIELLO, F., FALCUCCI, G., MINUTILLO, M., TRIFUOGGI, M., GUIDA, M., NASTRO, R.A., JANNELLI, E. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation and detoxification of water environment in singlechamber air-cathode microbial fuel cells (MFCs). *Fuel Cells* 17 (5), 618–626.
 18. GARGOURI, B., MHIRI, N., KARRAY, F., ALOUI, F., SAYADI, S. (2015). Isolation and characterization of hydrocarbon-degrading yeast strains from petroleum contaminated industrial wastewater. *BioMed Res. Int.* 1–11.
<https://doi.org/10.1155/2015/929424.2015>.
 19. GUARINO, C., SPADA, V., & SCIARRILLO, R. (2017). Assessment of three approaches of bioremediation (Natural Attenuation, Landfarming and Bioaugmentation – Assisted Landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil. *Chemosphere*, 170, 10–16.
doi:10.1016/j.chemosphere.2016.11.165
 20. HATAMI, E., ABBASPOUR, A., DOROSTKAR, V. (2018). Phytoremediation of a petroleum-polluted soil by native plant species in Lorestan Province, Iran. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1297-7>.
 21. HERNÁNDEZ, Roberto, FERNÁNDEZ Carlos, BAPTISTA, María. *METODOLOGÍA de la investigación*. Quinta edición. Mac Graw Hill. ISBN: 978-607-15-0291-9. [en línea]. 2014 [Fecha de consulta: 30 de diciembre de 2020]. Disponible en https://www.esup.edu.pe/descargas/dep_investigacion/Metodologia%20de%20la%20investigaci%C3%B3n%205ta%20Edici%C3%B3n.pdf

22. KADRI, T., ROUISSI, T., KAUR BRAR, S., CLEDON, M., SARMA, S., VERMA, M. (2017). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by fungal enzymes: a review. *J. Environ. Sci.* 51, 52–74. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2016.08.023>.
23. MADDELA, N. R., BURGOS, R., KADIYALA, V., CARRION, A. R., & BANGEPPAGARI, M. (2016). Removal of petroleum hydrocarbons from crude oil in solid and slurry phase by mixed soil microorganisms isolated from Ecuadorian oil fields. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 108, 85–90. doi:10.1016/j.ibiod.2015.12.015
24. MENDES, L.W., TSAI, S.M., NAVARRETE, A.A., DE HOLLANDER, M., VAN VEEN, J.A., KURAMAE, E.E. (2015). Soil-borne microbiome: linking diversity to function. *Microb. Ecol.* 70, 255–265.
25. MENG, L., LI, H., BAO, M., SUN, P. (2017). Metabolic pathway for a new strain *Pseudomonas synxantha* LSH-7': from chemotaxis to uptake of n-hexadecane. *Sci. Rep.* 7, 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep39068>
26. PELE M. A., RUBIO R. D, RODRIGUES V E., SOUZA A. F., LUNA M. A. C., MONTERO R. D., ANDRADE R. F. S., SALES A. D., SALES A. C.S, BARRETO-BERGTER E., SANTIAGO L.C.M.A A., CAMPOS-TAKAKI G. M. (2018). Conversion of renewable substrates for biosurfactant production by *Rhizopus arrhizus* UCP 1607 and enhancing the removal of diesel oil from marine soil. *Ejbt* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.12.003>
27. PRENAFETA-BOLDÚ, F.X., DE HOOG, G.S., SUMMERBELL, R.C. (2019). Fungal communities in hydrocarbon degradation, microbial communities utilizing hydrocarbons and lipids: members, metagenomics and ecophysiology. https://doi.org/10.1007/978-3-319-60063-5_8-2
28. ROMANOWSKA, I., STRZELECKI, B., BIELECKI, S. (2015). Biosolubilization of Polish brown coal by *Gordonia alkanivorans* S7 and *Bacillus mycoides* NS1020. *Fuel Process. Technol.* 131, 430e436.
29. ROUCHES, E., HERPOËL-GIMBERT, I., STEYER, J.P., CARRERE, H. (2016). Improvement of anaerobic degradation by white-rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 59, 179–198.

30. SEKARAN, U., MCCOY, C., KUMAR, S., & SUBRAMANIAN, S. (2018). Soil microbial community structure and enzymatic activity responses to nitrogen management and landscape positions in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *GCB Bioenergy*. doi:10.1111/gcbb.12591
31. SILVA-CASTRO, G.A., UAD, I., RODRÍGUEZ-CALVO, A., GONZALEZ-LOPEZ, J., CALVO, C. (2015). Response of autochthonous microbiota of diesel polluted soils to land-farming treatments. *Environ. Res.* 137, 49e58.
32. TAO, K., ZHANG, X., CHEN, X., LIU, X., HU, X., & YUAN, X. (2019). Response of soil bacterial community to bioaugmentation with a plant residue-immobilized bacterial consortium for crude oil removal. *Chemosphere*. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.01.133
33. TAO, K.Y., LIU, X.Y., CHEN, X.P., HU, X.X., CAO, L.Y., YUAN, X.Y. (2017). Biodegradation of crude oil by a defined co-culture of indigenous bacterial consortium and exogenous *Bacillus subtilis*. *Bioresour. Technol.* 224, 327e332.
34. VARELA, M., VIVES, T. (2007). Autenticidad y calidad en la investigación educativa cualitativa: multivocalidad. *Investigación en educación médica*, 2016, vol. 5, no 19, p. 191-198. <http://www.scielo.org.mx/pdf/iem/v5n19/2007-5057-iem-5-19-00191.pdf>
35. VARJANI, S.J., GNANSOUNOU, E., PANDEY, A. (2017). Comprehensive review on toxicity of persistent organic pollutants from petroleum refinery waste and their degradation by microorganisms. *Chemosphere* 188, 280–291. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.005>.
36. VARJANI, S.J., RANA, D.P., JAIN, A.K., BATEJA, S., UPASANI, V.N. (2015). Synergistic exsitu biodegradation of crude oil by halotolerant bacterial consortium of indigenous strains isolated from on shore sites of Gujarat, India. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 103, 116e124.
37. VASILYEVA, G., KONDRASHINA, V., STRIJAKOVA, E., & ORTEGA-CALVO, J.-J. (2019). Adsorptive bioremediation of soil highly contaminated with crude oil. *Science of The Total Environment*, 135739. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.135739
38. WANG B., TENG Y., YAOH H., CHRISTIE P. (2021) Detection of functional microorganisms in benzene [a] pyrene-contaminated soils using DNA-SIP

technology. Journal of Hazardous Materials.407-124788.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124788>

39. WANG, B., TENG, Y., XU, Y., CHEN, W., REN, W., LI, Y. ... LUO, Y. (2018). Effect of mixed soil microbiomes on pyrene removal and the response of the soil microorganisms. *Science of the Total Environment*, 640-641, 9–17. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.05.290
40. WU, M., LI, W., DICK, W. A., YE, X., CHEN, K., KOST, D., & CHEN, L. (2017). Bioremediation of hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil and microbial population and activity determination. *Chemosphere*, 169, 124–130. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.11.059

ANEXO

Tabla. 1 Matriz de categorización apriorística

Objetivos específicos	Problemas específicos	Categorías	Subcategorías	Referencias
OE1: Identificar las características fisicoquímicas de los suelos contaminados con compuestos petrolígenas y sus requerimientos para la bioremediación	¿Cuáles son las características fisicoquímicas de los suelos contaminados con compuestos petrolígenas y sus requerimientos para la bioremediación?	Características fisicoquímicas	pH, nutrientes, carbono, mineralogía	Maddela, et al (2016), Tao et al. (2019), Wu et al. (2017)
OE2: Analizar las técnicas de bioremediación para remover compuestos petrolígenos	¿Qué técnicas de bioremediación para remover compuestos petrolígenos se aplican en la actualidad?	Técnicas de bioremediación	bioestimulacion, bioaumentacion, compost, adsorción	Wang et al (2021), Wang et al. (2019)

<p>OE3: Analizar la comunidad de microorganismos y la degradación de los contaminantes petrolígenos</p>	<p>Como responde la comunidad de microorganismos en la degradación de los contaminantes petrolígenos</p>	<p>Comunidad de microorganismos</p>	<p>bacterias hongos</p>	<p>Benguenab et al. (2021), AlKaabi et al. (2020)</p>
<p>OE4: Analizar los cambios en la microbiota del suelo y la actividad microbiana</p>	<p>¿Cuáles son los cambios en la microbiota del suelo y la actividad microbiana?</p>	<p>Cambios en la microbiota</p>	<p>rutas metabólicas</p>	<p>Bellino et al. (2019) Vasilyeva et al. (2019), Pele et al. (2018)</p>