



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con
petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTORES

Herrera Pecho, Hector Luis (ORCID: 0000-0003-3406-5649)

Oscorima Ludeña, Erika Jazmín (ORCID: 0000-0001-6728-7075)

ASESOR:

Mg. Reyna Mandujano, Samuel Carlos (ORCID: 0000-0002-0750-2877)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Calidad y Gestión de los Recursos Naturales

LIMA – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Para mi padre Oscar Ocorima, te fuiste pronto, pero hasta en tus últimos momentos me preparaste y me volviste más fuerte para enfrentar la vida. Este logro va para ti, un abrazo hasta el cielo.

A Flora Ludeña mi madre por apoyarme con su comprensión y todo el sacrificio que ellos pusieron para ayudarme a culminar mi carrera profesional.

A Ana por ser más que mi abuela una madre, sus sabios consejos y enseñanzas quedará para siempre en mí, a mis abuelos y mi familia que, por su apoyo incondicional, supieron aconsejarme para tomar buenas decisiones.

Y a Héctor y Alexander, mis amigos de vida que me impulsaron a terminar este proyecto de investigación.

Dedicado a mi mamá Marilú Pecho y a mi papá Luis Herrera por sus enseñanzas, a mis hermanas Melany Herrera, Adriana Herrera, Anyela Herrera por siempre estar a mi lado y darme el apoyo que uno siempre necesita a mis tías Elita Pecho y Clelia Pecho por sus consejos a mi abuela Teotima Quispe por su perseverancia y sus enseñanzas a mi abuelo Lizardo Pecho por su paciencia, humildad y carisma, a mi amiga incondicional Erika Ocorima por darme una perspectiva diferente de la vida.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios, a cada uno de los docentes de la escuela de Ingeniería Ambiental, compañeros de clase y mejores amigos.

A todas las personas que me apoyaron e impulsaron a alcanzar mis metas y fueron de apoyo en mis años de universidad.

Agradecer a Dios por bendecirme con una hermosa familia, por darme la fuerza para seguir adelante en mis objetivos personales, a mis padres por darme la vida a mis hermanas por darle el motivo a mi vida, a mis tías por sus consejos, a mis abuelos por darme apoyo emocionalmente, a mi amiga incondicional Erika Ocorima por la inmensa confianza y el apoyo profesional.

Índice de contenidos

Caratula	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de cuadros	v
Índice de Tablas	vi
Índice de Figuras	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA	12
3.1. Tipo y diseño de la investigación	13
3.2. Variables y Operacionalización	13
3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis	15
3.4. Procedimientos	17
3.5. Método de análisis de datos	23
3.6. Aspectos éticos	23
IV. RESULTADOS	
V. DISCUSIÓN	36
VI. CONCLUSIONES	39
VII. RECOMENDACIONES	41
REFERENCIAS	44
ANEXO	50

Índice de cuadros

Cuadro 1 Diseño de Investigación	12
Cuadro 2 Variables Experimentales	14
Cuadro 3 Operacionalización de Variable Independiente	14
Cuadro 4 Operacionalización de Variable Dependiente	15
Cuadro 5 Caracterización de la Tierra de Estudio	26
Cuadro 6 Observación del Periodo de Inoculación	28
Cuadro 7 Componentes	32
Cuadro 8 Resultados obtenidos	32

Índice de Tablas

Tabla 1 Componentes de la tierra de estudio	26
Tabla 2 Periodo de Inoculación de la humedad en días	29
Tabla 3 Periodo de Inoculación del petróleo en días	30
Tabla 4 Periodo de Inoculación del PH en días	31
Tabla 5 Resultados del Periodo de Inoculación de la humedad en días	33
Tabla 6 Resultados del Periodo de Inoculación del petróleo en días	34
Tabla 7 Resultados del Periodo de Inoculación del PH en días	35

Índice de Figuras

Figura 1	Análisis de caracterización de muestras de suelo	56
Figura 2	Cepa de Pleurotus Ostreatus de la Universidad Agraria La Molina	57
Figura 3	Humectación al Pleurotus Ostreatus	58
Figura 4	Reactivación del Hongo Pleurotus Ostreatus	59
Figura 5	Preparación de la muestra de Suelo	60
Figura 6	Adición de petróleo a muestra de suelo	61
Figura 7	Crecimiento del Pleurotus Ostreatus en Suelos Contaminados por Petróleo	62
Figura 8	Evaluando la eficiencia del Pleurotus Ostreatus	63

RESUMEN

El avance económico de los países desarrollados y subdesarrollados, siendo el petróleo un recurso principal para las industrias, resaltando la necesidad de biorremediar suelos contaminados con petróleo, mediante el uso de hongos basidiomicetos (*Pleurotus Ostreatus*) los cuales pueden ser degradados, absorbidos, fáciles de manipular y son económicos. Esta investigación tiene como objetivo determinar la eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo *Pleurotus Ostreatus*.

La investigación se realizó en el laboratorio de la Universidad Nacional del Callao, se mezcló tierra con petróleo, se inoculo el hongo *Pleurotus Ostreatus* en la muestra, se observó el periodo de inoculación de la muestra por 60 días donde se obtuvo una mayor degradación del petróleo en un 30% y una menor eficiencia de 18% con un PH entre 7.2 y 8.8. Una colonización total de dicho sustrato en cuatro semanas de cultivo.

En conclusión, la investigación demuestra que la adición del petróleo a la muestra de suelo genera cambios en sus características y estructura. Se determina que el hongo *PleurotusOstreatus* influye en la biorremediación debido a su mayor desarrollo micelial y una mejor estructuración de las hifas.

Palabras clave: *Pleurotus Ostreatus*, petróleo, Biorremediación, Inocular, contaminación de suelos.

ABSTRACT

The economic advancement of developed and underdeveloped countries, oil being a main resource for industries, highlighting the need to bioremediate oil-contaminated soils, through the use of basidiomycete fungi (*Pleurotus Ostreatus*) which can be degraded, absorbed, and easy to manipulate and are inexpensive. The objective of this research is to determine the efficiency of the bioremediation of soils contaminated with oil by the action of the *Pleurotus Ostreatus* fungus.

The research was carried out in the laboratory of the National University of Callao, soil was mixed with oil, the *Pleurotus Ostreatus* fungus was inoculated in the sample, the inoculation period of the sample was observed for 60 days where a greater degradation of the oil was obtained. by 30% and a lower efficiency of 18% with a PH between 7.2 and 8.8. A total colonization of said substrate in four weeks of culture.

In conclusion, the research shows that the addition of oil to the soil sample generates changes in its characteristics and structure. It is determined that the *Pleurotus Ostreatus* fungus influences bioremediation due to its greater mycelial development and better hyphae structuring.

Keywords: *Pleurotus Ostreatus*, oil, Bioremediation, Inoculate, soil contamination.

I. INTRODUCCIÓN

El Perú es un país mega diverso ya que posee gran variedad de especies como flora y fauna el cual tiene reconocimientos de ocupar los primeros lugares a nivel mundial. Posee una gran variedad de ecosistemas y microclimas además de contar con diversas reservas de minerales e hidrocarburos en todo el territorio peruano. Siendo sus características descritas, la cual hace viable que se desarrollen actividades sostenibles en todo su ámbito. "Rios J; et al. 2019".

A lo largo de los años la explotación de los recursos ha traído como consecuencia conflictos sociales, contaminación y daños a la salud lo que ha llevado a un deterioro del ecosistema teniendo como principal deficiencia la legislación vigente, la fiscalización y la corrupción.

Según "León A; et al.2020." En el año 2000 y 2019 ocurrieron 474 derrames de petróleo en la región amazónica, Otros 14 derrames más producidos en el campo petrolero Lote 192, que es el campo petrolero más grande de la región amazónica la cual cuenta con 500.000 hectáreas aproximadamente y 200 pozos petroleros. Solo desde el año 2000, casi dos tercios (65,4%) fue por derrame de petróleo en la Amazonía peruana han sido causados por errores humanos, deficiencia de las infraestructura y malas condiciones de instalación.

El 28,8% son producto de acciones antropogénicas, incluyendo sabotajes deliberados o ataques fuera de las instalaciones. Solo el 5,8% son causados por causas naturales, pero el porcentaje de fallas en el caso específico del lote 192, de las operaciones y mantenimientos asciende a 81%, la extensión del bloque llega a la frontera entre Perú y Ecuador. En este campo petrolero, cerca de 1.200 puntos se ven afectados por la contaminación provocada por las actividades petroleras y necesitan ser resueltos.

El presente proyecto de investigación tiene como objetivo general determinar la eficiencia de la Biorremediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo *Pleurotus Ostreatus* y como objetivos específicos: determinar la influencia de la Adición de Surfactante en la Biorremediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo *Pleurotus Ostreatus* y determinar

la influencia del tipo de Inóculo en la biorremediación de suelos contaminados con Petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus.

La justificación de la investigación es dar a conocer la técnica de biorremediar suelos contaminados con petróleo el cual consiste en recuperar el espacio contaminado mediante la acción del hongo Pleurotus Ostreatus la cual tiene una eficiencia de absorción del petróleo teniendo como resultado una porción de recuperación de suelos siendo método viable para la recuperación de suelos. "Zegarra R.2017".

Es social y ambientalmente razonable ya que es una herramienta que se puede utilizar para corregir impactos negativos como la degradación de suelos, como la extinción de la biodiversidad, impacto en paisajes, cambios en las viviendas, etc. Provocados por derrames de petróleo en las zonas de extracción de nuestro país. Además de ser un método simple aplicar y replicar in situ o ex situ en el sitio, debido a la capacidad que tiene de reparar en poco tiempo y de ser de un método de bajo costo en comparación con otros métodos.

Finalmente, el estudio es técnicamente sólido porque brinda información relevante sobre las variables estudiadas, lo que ayudará a los investigadores en futuros estudios a mejorar el uso del hongo Pleurotus Ostreatus como método de tratamiento para suelos contaminados por petróleo.

Teniendo como hipótesis general: la acción del hongo Pleurotus Ostreatus influye eficientemente en la biorremediación de suelos contaminados con petróleo.
como hipótesis específicas: la adición del surfactante influye significativamente en la biorremediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus y el tipo de inóculo influye significativamente la biorremediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus.

II. MARCO TEÓRICO

Con el rápido crecimiento económico, el consumo de petróleo y sus productos ha aumentado drásticamente, lo que ha provocado graves problemas de contaminación por petróleo en el suelo. La contaminación por petróleo afecta los procesos físicos, químicos y biológicos del suelo afecta la respiración y la absorción de nutrientes en los cultivos. También puede ingresar al cuerpo humano a través de la respiración, el contacto con la piel y a través de la ingestión de alimentos, afectando la salud humana. Por tanto, el control de la contaminación del suelo y los hidrocarburos se vuelve cada vez más importante.” Huang Rongxia, et al.2016”.

Asimismo, Hay casos en que los oligoelementos se asocian con el petróleo, lo cual aumenta su nivel de toxicidad, dificultando la remediación y elevando el costo de la recuperación de suelos. Por tal motivo se necesita una investigación alternativa dirigida a una remediación más rápida, barata y adaptada a los climas, como es el uso de plantas, hongos nativos del ecosistema son enfoques prometedores. “Robichaud K. 2020.”

Para estos temas de contaminación se necesitan soluciones sostenibles como es el caso de la biorremediación los cuales se están empleando cada vez más como solución ambiental. La combinación para la biorremediación por lo general es de hongos y bacterias haciendo a este proceso más robusto a cambios ambientales. “Quintella C .2019.”

El objetivo principal de la biorremediación es eliminar los contaminantes hasta un límite de concentración indetectable, que es establecido por agencias reguladoras “Rudakiya D; et al.2019”

En la actualidad hay muchos casos de fugas de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) registrados oficialmente los cuales se infiltran en el suelo y las aguas subterráneas generando una contaminación desmesurada en el medio ambiente, como una medida principal para detectar y analizar la magnitud se utiliza la

cromatografía de gases (GC). Sin embargo, el análisis GC conlleva demasiado tiempo identificar las fuentes debido que es una metodología poco empleada haciéndolo poco accesible por el costo. Por lo tanto, para determinar la fuente de fuga, detener en etapa temprana, reducir el costo en análisis y reducir el tiempo de investigación, siguen siendo cuestiones importantes y un reto obtener nuevos métodos de bajo costo. “Lin Shuyu, et al. et al.2018”

El crudo de petróleo, esta, compuestos fenólicos, contenido orgánico, antimicrobianos y fitotóxicos. En este experimento se determinará si tres hongos comestibles comunes como: *Cortinarius violaceus*, *Gyroporous cyanescens* y *Fistulina hepatica* pueden metabolizar el crudo de petróleo con fines terapéuticos. Este método de tratamiento experimental incluye tres hongos de *C. violaceus*, *G. cyanescenes* y *F. hepática*. La concentración de aceite en cada placa Petrie es 0,5, 1 y 2 ml. Los resultados experimentales demuestran que, en veinte días, *C. Violaceus* es el más eficaz para la utilización y la degradación del petróleo crudo.” Shen Larissa. 2020”

Así tenemos a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) son contaminantes ubicuos que se forman a través de la combustión incompleta de la materia orgánica los cuales existen en depósitos de petróleo, carbón, alquitrán y en todo producto que tenga combustibles. Su hidrofobicidad y persistencia eventualmente conducirán a su acumulación en el suelo, especialmente en sitios industriales donde ocurre la contaminación directa. Muchos HAP son carcinógenos humanos conocidos o sospechosos. La Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. Ha incluido a la HAP parentales (sin sustituir) como contaminantes "prioritarios". (USEPA) “Stella T; et al. 2017.”

También las diversas capacidades metabólicas de los hongos para la biorremediación del cual se estudió la degradación de dieldrina el cual elimina más

del 50% de la dieldrina en 42 días, lo que se atribuyó a reacciones de hidroxilación en la vía que conduce a tres productos de metabolitos hidroxilados. También se descubrió que estos hongos degradan la aldrina (más del 90%) en solo 28 días al atacar la mitad de metileno que conduce a la formación de nuevos metabolitos como la 9-hidroxi aldrina y dos productos de ácido carboxílico [158]. Además, la aplicación de la proteómica, los estudios de expresión génica y el uso de mutantes de reemplazo de genes han ayudado a asignar la mayoría de los pasos en la ruta 3-oxaloadipato bien conocida pero menos comprendida de la degradación de compuestos aromáticos a genes particulares “Deshmukh R; et al. 2016”

Aunque se pueden usar cepas microbianas seleccionadas y adaptadas para la biodegradación de hidrocarburos, no todas las fracciones pueden degradarse en un grado similar, pero se deben combinar diferentes estrategias para reducir significativamente los niveles de contaminantes en condiciones reales de campo. Para un mejor resultado utilizar la combinación de bioaumentación y atenuación natural. *Pleurotus* *Ostreatus* tiene potencial genético, pero el análisis de anotaciones funcionales (como las desarrolladas en esta investigación) puede ayudar a revelar nuevas funciones metabólicas útiles para la biorremediación. “Romero S. 2019”

Como la utilización de hongos endofíticos los cuales hacen simbiosis con el tejido vegetal tienen una efectividad de biorremediación en el mercurio, utilizando *Westerdykella* sp se obtuvo una degradación de mercurio a un 100% lo cual ayuda al crecimiento de *A. fluminensis* y *Z. may* en sustratos que contienen mercurio, colonizando en la célula de las raíces de la planta hospedadora pueden contribuir a las metodologías de biorremediación.” Pietro S. 2020.”

En el proceso de biorremediación el hongo de pudrición blanca puede reparar el suelo contaminado con petróleo lentamente. Mediante dosis de nitrato de amonio

(NH_4NO_3), de humedad, adición de aserrín, arado, frecuencia y otros métodos de estimulación biológica ayudan a la degradación de los hidrocarburos de petróleo por acción de los hongos de pudrición blanca. Usamos SPSS 20.0 para realizar análisis de varianza de resultados experimentales de factor único, y basándose en los resultados obtenidos de factor único se selecciona la mejor combinación de parámetros y hongos de pudrición blanca para remediar el suelo contaminado. demostrando que la mejor combinación de estimulación biológica es la dosificación de nitrato de amonio (NH_4NO_3) en la cantidad de 1 g / kg, 3% de aserrín, a un 30% de humedad y con una frecuencia de labranza 1 vez / día. concluyendo que el contenido de humedad es una influencia importante en los hongos de pudrición blanca para restaurar el suelo , la mejor combinación de bioestimulación para el hongo de pudrición blanca es en 35 días con una tasa de degradación de un 41,87% de petróleo.” Li Zhenwei, et al.2018.”

Los hongos de pudrición blanca con enzimas de lacasa demuestra que son la mejor opción en la biorremediación de colorantes industriales. También la lacasa puede ser aplicada en las remediaciones biológicas. “Yesilada O; et al. 2018.”

Considerando que la lacasa que es una enzima catalizadora capaz de oxidar sustratos orgánicos e inorgánicos lo hace útil en el campo de la remediación biológica para el medio ambiente. Se analizó el cambio que sufre la lacasa en la remediación a diferentes concentraciones de petróleo, la influencia de los factores ambientales y los datos experimentales obtenidos. Concluyendo que la cantidad de concentración de petróleo en el suelo influye significativamente en las actividades de la lacasa, el pH, la temperatura, la relación carbono-nitrógeno y el contenido de agua, demostrando que los factores más relevantes para la actividad lacasa es el pH, y el coeficiente de correlación 0,956, los cuales tiene un impacto en la actividad de lacasa.” Zhu Xiuyu et al.2019.”

Existen otros tipos de tecnologías verdes como la bioaumentación y la bioestimulación las cuales se han convertido gradualmente en herramientas efectivas en la biorremediación de suelos con metales pesados y contaminantes orgánicos debido a sus características económicas, a su efectividad, ser

ecológicas, cuenta con una variedad de bacterias, hongos y flora mixta que se pueden combinar de manera flexible con métodos de remediación físicos y químicos. “Hao Dacheng; et al.2017”

En este proceso de biorremediación anaerobia el suelo contaminado con petróleo, tuvo una eficiencia de remoción del 89 al 99 %, donde el mejor tratamiento fue el que contenía lodos residuales (biosólidos) como fuente alterna de nutrientes. La mineralización o madurez de los lodos influyó en la eficiencia de remoción de Petróleo, entre más frescos mayor remoción. La humedad fue también un factor importante para aumentar el porcentaje de biodegradación. El suelo con flujos de constante de aireación estimula la flora. Se determina que utilizar agua, densidad y nutrientes, son factores importantes para remoción del petróleo; pero la mezcla de estos tres factores es el que brinda mejores resultados. “Ramírez A,2017”

Así mismo la biorremediación mediante compostaje es una tecnología esperanzadora. Agaricomycetes se ha aplicado no solo como una favorable tecnología para la biorremediación de hidrocarburos contaminados suelos, sino también como un técnico amigable. “Mohammadi M, et al .2017.”

También existen otras metodologías de Biorremediación de suelo como las lombrices de tierra las cuales tienen impacto profundo en el ecosistema del suelo y la calidad ambiental. La aplicación del *Pontoscolex corethrurus* y *Eisenia fetida*), exponen su estrecha relación con el pH del suelo, actividad enzimática, el enriquecimiento de metales y los cambios de disponibilidad, los canales de poros y la formación de micro agregados. Las lombrices de tierra viven en una amplia gama de pH en el suelo (pH 3.8 - 7.9), y su tasa de supervivencia está relacionada con el tipo de suelo, el contenido y la composición de materia orgánica, el grado de contaminación del suelo, las especies de lombrices de tierra, Tracto intestinal, el ciclo de nutrientes del suelo y las características de la población microbiana. Las lombrices de tierra pueden enriquecer diferentes tipos de metales y cambiar su efectividad en la diferencia tipos de suelo. Las actividades de las lombrices de tierra y el vermicompost producido por ellas pueden cambiar la estructura del suelo, producir poros y afectar el número, tamaño y distribución de los agregados del suelo. Los efectos mencionados anteriormente de las lombrices de tierra hacen

que tenga amplias perspectivas de aplicación para resolver la acidificación del suelo rojo, la contaminación por metales en el suelo, el desequilibrio de nutrientes en el suelo. En la actualidad, debido a la falta de investigación sobre las diferencias en las características fisiológicas de las lombrices de tierra, la falta de tecnología de reproducción de las lombrices ha limitado su investigación y promoción en la aplicación de estas lombrices a mediana y gran escala. Es necesario seguir explorando el potencial de las lombrices de tierra en la remediación del suelo, realizar investigación y desarrollo de tecnologías relacionadas. “Zhang Chi, et al.2018”

Ciertamente el Hongo *Pleurotus ostreatus* a menudo aparece en la mesa. Es conocido con el nombre científico de *Pleurotus Ostreatus*, también conocido como, hongo peonía negra, hongo ostra, en Taiwán conocido como hongo Xiuzhen. El *Pleurotus ostreatus* es rico en nutrientes, cada 100 gramos de producto seco contienen de 20 a 23 gramos de proteína, también es rico en minerales y tiene una completa variedad de aminoácidos, es un manjar común en la mesa de las personas. El proteoglicano de *Pleurotus ostreatus* tiene un fuerte efecto inhibitorio sobre las células cancerosas y puede mejorar la función inmunológica del cuerpo.” whan zhing. 2017.”

Para observa el desarrollo y rendimiento del *Pleurotis Ostreatus* en diferentes sustratos, en orujo de uva, orujo de aceituna, coronta de maíz y paja de maíz. La mejor opción de sustrato es el orujo de aceituna y coronta de maíz debido que su micelo se desarrolló en 18 días demostrando un desarrollo más rápido en comparación con los otros sustratos que se desarrollaron a los 20 días y 22 días. Sin embargo, orujo de aceituna y coronta de maíz tiene la menor eficiencia biológica con un 48.8%, La diferencia de tamaño del micelo no fue muy significativamente diferente del resto. se demostró orujos de uva con coronta de maíz y orujos de uva con orujos de aceituna fueron las mejores en producción, eficiencia biológica y rendimiento.” Valeria L.2019.”

También se utiliza el hongo *Pleurotus Ostreatus* para biorremediar suelos contaminados con metales pesados, demostrando una mejor eficiencia en cadmio, cobre y una menor eficiencia en plomo, cobre. “Coello J; Burgos F .2018”

El *Pleurotus Ostreatus* donde se le adiciono pesticida carbaryl el cual fue inculada en 2 sustratos de trigo y de cebada donde se demostró que el *Pleurotus ostreatus* más sustrato de trigo alcanzó un 59.06% de degradación de carbaryl siendo la mejor opción para biorremediación ya que en sustrato de cebada solo se alcanzó un 55.95 % y en uno medición donde solo se usó el *Pleurotus Ostreatus* alcanzo una tasa degradación de un 48.26.” Tobar B.2018.”

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de la investigación

Tipo de investigación básica

La investigación es básica se encarga de formular nuevas teorías, de algo ya existente teniendo como objetivo incrementar el conocimiento en lo científico y filosófico sin contrastar con ningún aspecto práctico. “Esteban N. 2018.”

Niveles de investigación explicativo

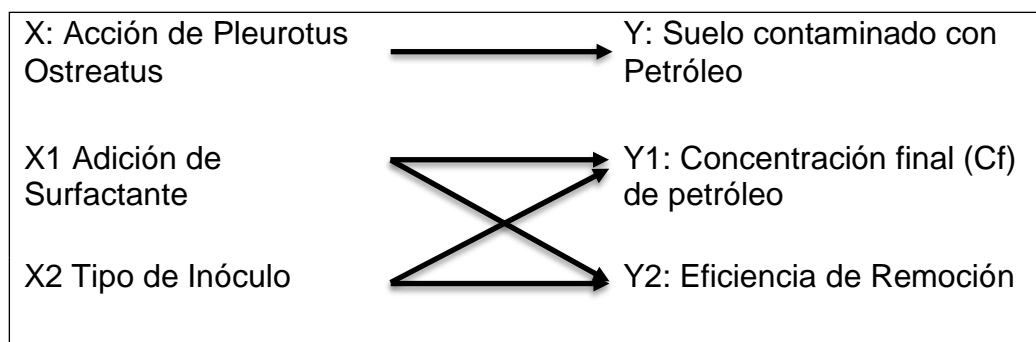
Nivel explicativo: En este tipo de investigación se pueden plantear cuatro elementos importantes: sujeto, objeto, medio y propósito ya que .es el tipo de investigación que explora la relación causal, es decir, no solo intenta describir o resolver el problema en estudio, sino que también intenta encontrar su causa y efecto del fenómeno.” Tacillo Y, Elvis F. 2016.”

Diseño experimental propiamente dicho

son los diseños que proporcionan el control adecuado de las posibles fuentes que atentan contra la validez “Bastar S. 2019 “

El diseño de estudio es experimental propiamente dicho y se muestra mediante la figura 1

Cuadros 1 Diseño de Investigación



Fuente: Elaboración propia

3.2. Variables y Operacionalización

Las variables a monitorear durante el experimento se muestran en el siguiente cuadro:

Cuadros 2 Variables Experimentales

Variable Experimental	Método	Instrumento
Petróleo	Soxhlet	Equipo Soxhlet
PH	Potenciometría	PH metro
Humedad	Gravimetría	Horno de Secado - Balanza
Temperatura	Observación Experimental	Termómetro

Fuente: *Elaboración Propia*

En el presente trabajo de investigación se estudiaron las siguientes variables

Variable independiente

Variable Independiente: Acción del Hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Se operacionaliza en el siguiente cuadro:

Cuadros 3 Operacionalización de Variable Independiente

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍNDICES
Variable Independiente: Acción del Hongo <i>Pleurotus Ostreatus</i>	Adición de Surfactante	Con Surfactante	mg
		Sin surfactante	mg
	Tipo de Inóculo	Inóculo Líquido	ml
		Semilla de trigo	mg

Fuente: *Elaboración propia*

Variable dependiente

La variable dependiente es: Suelo Contaminado con Petróleo

Se operacionaliza en el siguiente cuadro:

Cuadros 4 Operacionalización de Variable Dependiente

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	INDICES
Variable Dependiente: Biorremediación del Suelo contaminado con Petróleo	Concentración final (Cf) de petróleo	> 6000 PS	mg/ kg.
	Eficiencia del Tratamiento	0-100	Porcentaje (%)

Fuente: Elaboración propia.

3.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis

Población

En el proyecto de investigación define a la población como la selección de un conjunto de muestras que tienen una característica definida para que una vez concluido el trabajo de la presente investigación se pueda extrapolar los resultados obtenidos para su posterior aplicación en el área estudiada. "Ariaz, J; et al. 2016". La población de estudio corresponde a suelos contaminados con petróleo de la amazonia peruana.

Muestra

El tipo de muestra es aleatorio simple porque a partir de la población se obtiene una muestra al azar y así teniendo la misma posibilidad de ser elegida. "Otzen T; Manterola C. 2017."

La muestra del estudio corresponde a 7kg de tierra preparada, el cual fue uniformizado y caracterizado para su posterior simulación de contaminación con petróleo y distribución en unidades de análisis.

Muestreo

Se define como la probabilidad, en el cual se realizaron 3 réplicas de cada tratamiento para poder determinar la existencia de diferencia significativa de los resultados se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA), y para establecer el tratamiento más favorable se utilizó la prueba de Tukey. "Gomez J, et al. 2020."

Unidad experimental: 3000 gr (3Kg) de muestra de suelo contaminado que se le adicionará petróleo

Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

A continuación, se describe las técnicas e Instrumentos usados para el presente Proyecto de Investigación:

Técnicas de la investigación

Consiste que el investigador manipula una o más variables del estudio para poder observar el efecto de las conductas, se logra el éxito de la investigación experimental cuando se ve un cambio en la variable dependiente por efecto de manipular la variable independiente. “Albán G; et al. 2020”.

La Técnica de Observación Experimental, la que consistió en asistir diariamente al lugar de realización de los ensayos experimentales y recoger datos operativos de cada unidad experimental para ser vaciados en la Ficha de Recolección de Datos, asimismo recoger evidencia fotográfica diaria y una videograbación semanal de las unidades de estudio, este proceso se dio durante los 30 días que duró el tratamiento con *Pleurotus Ostreatus*.

Instrumentos de la investigación

Es la recopilación de datos relevantes sobre variables, eventos, contextos, categorías, comunidades u objetos de la investigación, se recopilan datos en tres actividades: obtener información enfocado a nuestra investigación que sea válida y confiable, utilizar metodologías que resaltan la importancia e interés de la investigación y corroborar las observaciones, registros y mediciones para el correcto desarrollo de la investigación “Hernández R; et al, 2018.” Para el presente proyecto de investigación se determinaron los siguientes instrumentos de recolección de datos:

- **Registros Diarios de Campo:** se llevan registros de los días, anotando la en los cuales se anotaron datos operativos como: Humedad, pH, Temperatura (°C) y otras observaciones u acontecimientos de los experimentos.
- **Ficha de Recolección de Datos:**
En esta ficha se recolectó la concentración final del Petróleo de cada unidad experimental al final de los 30 días de Tratamiento, asimismo se estimó la

Eficiencia de Remoción del petróleo de cada unidad experimental para ser posteriormente analizada.

- Cámara Fotográfica: Se realizó un panel fotográfico diario de las unidades experimentales.
- Video Grabadora: Se realizó una videograbación de las actividades realizadas para la implementación de los experimentos y un reporte semanal para el monitoreo de los ensayos.

3.4. Procedimientos

Reactivación del hongo *Pleurotus Ostreatus*.

Se escogió agar Sabouraud por su alto contenido de carbono debido a que es fuente de nutrición para el crecimiento de los hongos.

Los materiales, equipos y reactivos:

- Placa Petri
- Mechero de alcohol
- Cinta Parafilm
- Erlenmeyer 500 cc
- Autoclave
- Balanza digital x200 gr.
- Cámara de flujo laminar
- Estufa de cultivo o tubos de ensayo con agar
- Inóculos en placas Petri
- Asa de inoculación

Procedimiento:

- Con un asa inoculamos el micelio hacia arriba en las placas con agar para asegurar la asepsia del lugar de trabajo.
- Incubar a 28°C por un tiempo de 20 días en ausencia de luz

Preparación del Inoculo en Medio líquido

Preparar inóculo líquido con la intención de inocular la mayor cantidad de suelo

Los materiales, equipos y reactivos:

- Cepas de *Pleurotus Ostreatus*
- Tapones de esponja
- Erlenmeyer de 250 mL y 2000 mL
- Agitador magnético
- Vaso precipitado
- Espátula
- Autoclave
- Papel aluminio
- Agua destilada
- Fuente de carbono
- Estufa de cultivo
- Cámara de flujo laminar

Procedimiento:

- En un Erlenmeyer colocar 150mL de agua destilada
- Pesar una fuente de carbono, calentar en baño maría y verter el contenido en el Erlenmeyer
- Distribuir de 150 mL de caldo en cada Erlenmeyer, tapar y cubrir con el papel aluminio
- Esterilizarlo a 121 °C
- Dejar enfriar los caldos (45°C) cortar el micelio y en condiciones asépticas agregar en los Erlenmeyer
- Agitar e incubar a 28°C

Preparación del Inóculo en Medio Sólido

El sustrato o medio elegido en este trabajo de investigación para el desarrollo de la semilla de *Pleurotus Ostreatus* será en granos de trigo.

Los materiales, equipos y reactivos:

- Cepa de Pleurotus de Ostreatus
- Granos de trigo
- Espátula
- Botella de vidrio con tapa
- Cámara de flujo laminar
- Balanza digital x 200gr.
- Estufa de cultivo
- Agua destilada
- Mechero de alcohol

Procedimiento:

- Escoger los granos de trigo retirando las impurezas y otros elementos presentes en la muestra que se va a preparar
- Remojar los granos de trigo en agua caliente durante 10 minutos removiéndolo para facilitar la flotación de impurezas, enjuagar con agua caliente y repetir el procedimiento mínimo dos veces
- Pesar 100g de trigo para cada botella que se va a utilizar
- Esterilizar el autoclave por 20 min a 121 °C
- En la cámara de flujo laminar preparar el inóculo cortando la cepa con una espátula en porciones pequeñas, las cuales serán colocadas en cada botella
- Con una espátula, pasar varias porciones de la cepa a la botella removiéndola para quedar cubiertas
- Tapar con algodón semi húmedo las botellas para evitar la deshidratación del micelio
- Conservar las botellas en posición horizontal a temperaturas que oscilen entre los 25°C y 28 °C hasta que el trigo este colonizado
- Incubar en oscuridad total por un tiempo de 20 días

Preparación del suelo

Los materiales, equipos y reactivos:

- Autoclave

- Espátula
- Cinta adhesiva
- Bolsa Ziploc de 5kg
- Canastilla de pastico
- Agua destila
- Suelo contaminado con petróleo

Procedimiento:

- Pesar 3kg de suelo contaminado en bolsa Ziploc
- Anadir 6.900kg de agua destilada a cada bolsa Ziploc y sella con cinta adhesiva
- Colocar cada bolsa Ziploc en el autoclave
- Esterilizar a 121°C por 40 minutos

Inoculación de *Pleurotus Ostreatus* en el suelo

Los materiales, equipos y reactivos:

- Probeta de 150 mL
- Muestras de suelo esterilizados
- Espátula
- Canastilla de plástico
- Bolsa de polietileno color negro

Procedimiento:

- Limpiar y desinfectar el área de trabajo
- Tomar una muestra compuesta del suelo de las bolsas esterilizadas
- Secar la muestra para medir TPH inicial
- Agregar el inoculo a las bolsas Ziploc y homogenizar
- Colocar las bolsas en canastillas plásticas y llevar a incubación a 28°C

Incubación y monitoreo

Luego de un tiempo de incubación entre 20 a 45 días, se comprueba el crecimiento micelial del Hongo *Pleurotus Ostreatus* en los mismos, permitiéndonos analizar, evaluar y documentar el proyecto de investigación en la cual es monitoreo es diario.

Los materiales, equipos y reactivos:

- Termómetro
- Mesas
- pH metro
- Pulverizador con agua estéril

Procedimiento:

- Retirar, controlar y clasificar el avance micelial en las diferentes unidades experimentales que fueron invadidas por el micelio
- Controlar permanentemente la humedad, pH y temperatura del ensayo en el suelo

Determinación del TPH

Se realiza para determinar la cantidad inicial y final de petróleo existente en la muestra.

Los materiales, equipos y reactivos:

- Pieza Soxhlet
- Desecador
- Manta calefactora
- Muestra de suelo
- Trozo de porcelana
- Probeta de 250ml
- Matraz redondo de 500ml
- Pie de bureta, 2 pinzas y 2 nueces
- Refrigerante a reflujo dotado de sus dos gomas para conexión a red de agua y desagüe
- Embudo

- Clip para sujetar matraz redondo
- Soporte de corcho
- Tijeras
- Soporte de altura regulable
- Cronometro
- Solvente
- Papel filtro para preparar cartucho (dedal de extracción o cartucho de extracción)

Procedimiento:

- Pesar 5g de muestra homogenizada con una precisión de ± 1 mg en un cartucho de extracción que fabricamos en el laboratorio de la UNAC con un papel filtro contando un cuadrado de aproximadamente unos 10cm de lado
- Se monta la parte inferior del dispositivo con el pie de bureta, la manta calefactora, el matraz y el Soxhlet pero sin el reflujo
- Se llena por la parte de arriba del Soxhlet con una cantidad suficiente de disolvente (éter) que en este caso serán unos 200ml, es necesario que la cantidad llene el asa de la parte intermedia para que durante el proceso de extracción sifone y recircule, más las perdidas eventuales y se acopla el dispositivo
- Proceder a completar el montaje del dispositivo de extracción en la campana extractora
- La parte superior del reflujo se tapona con desecante (sulfato sódico anhídrido) envuelto en algodón para evitar la entrada y condensación de vapor de agua
- Tras el montaje se pone en marcha la manta calefactora y se regula el caudal de agua del reflujo. El solvente, una vez que alcanza su temperatura de ebullición, se evapora y llega al refrigerante condensándose y cayendo en el compartimento del cartucho de muestra
- Durante la extracción que dura entre 4 a 6 horas, se observará como se vaciá regularmente el espacio de extracción (compartimento de

muestra), es decir la pieza de medida del dispositivo a través del conducto ascendente (asa) con lo que el disolvente va recirculando completándose el ciclo de extracción.

Determinación de la eficiencia de remoción

La eficiencia de remoción se determinara mediante la fórmula que se muestra en la siguiente figura:

$$E = (S_0 - S) / S_0 \times 100$$

Donde:

E : Eficiencia de Remoción de TPH.

S₀ : Cantidad Inicial de TPH.

S : Cantidad Final de TPH.

3.5. Método de análisis de datos

Procesamiento estadístico de la información

3.5.1 Estadísticos

El paquete estadístico que se usó para el análisis de la Varianza fue Statistical Package for the Social Sciences (PPSS) 22.

Asimismo, se realizó la Prueba de Tukey mediante el software Statgraphics 10.5

3.5.2 Representación

La Representación Gráfica de los fenómenos estudiados será mediante Líneas de Tendencia.

3.6. Aspectos éticos

El presente proyecto de investigación tiene como aspecto la ética ambiental porque busca la rehabilitación de suelos contaminados, teniendo como principal fuente investigaciones científicas validadas.

Recalcando algunas menciones “Consolidación. 2019”. Describe que la ética ambiental proporciona puntos de vista útiles y una relación armoniosa entre la ciencia y el medio ambiente.

Mientras “Valera L. 2016”. Determina que el término ética ambiental está mal descrita y mal entendida como tal ya que de un punto de vista lingüístico la palabra ética viene de la acción, en cambio el ambiente no puede interactuar con el sujeto, todo lo contrario, el ambiente está sujeto a las acciones humanas lo cuales generan las contaminaciones y sus consecuencias, en su lugar debería ser nombrado como la ética en relación humana con el ambiente.

IV. RESULTADOS

Caracterización de la muestra de suelo del estudio

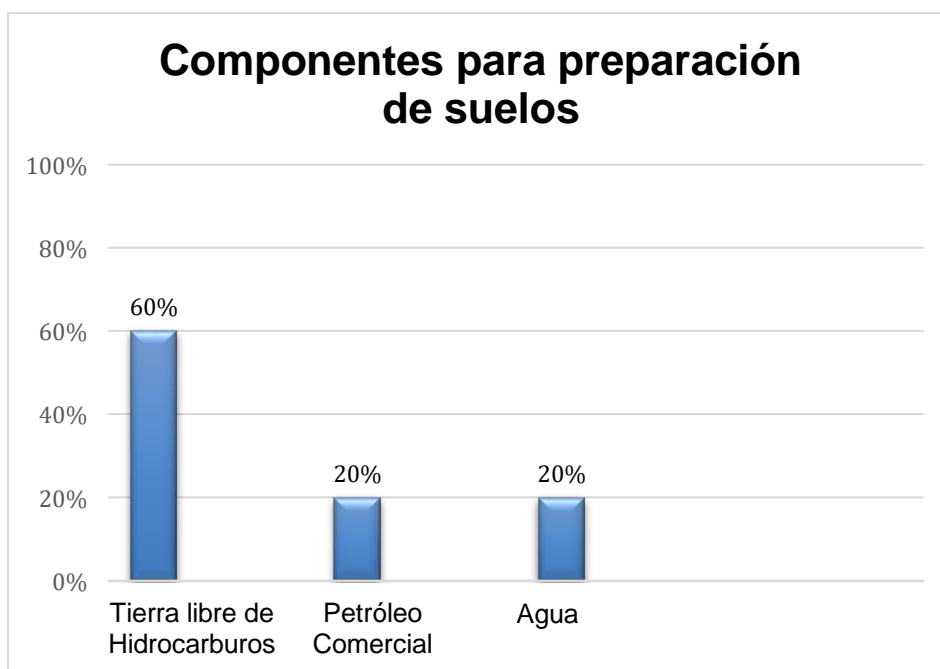
Para esta parte del estudio se procedió de la siguiente manera: en un espacio determinado para realizar el experimento se procedió preparar tres kg de tierra seca, libre de petróleo, el cual se añadió sobre el papel parafinado hasta obtener una masa uniforme como se señala en siguiente cuadro:

Cuadro 5 Caracterización de la Tierra de Estudio

COMPONENTES	KG	%
Tierra libre de Hidrocarburos	3 kg	60%
Petróleo Comercial	1 L	20%
Agua	1 L	20%

Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 1 Componentes de la Tierra de Estudio



Fuente: Elaboración Propia.

En la tabla 1 se muestra los componentes utilizados para la experimentación, que están en base al cuadro 6. Representando 3kg de tierra libre de petróleo en un 60% ,1 litro de Petróleo comercial en un 20% y 1 litro de agua en un 20%.

Para estos casos se utilizaron bolsas de plásticos Ziploc y también pequeños maceteros de plásticos de 6 kg de capacidad. En todos los casos las muestras o terrarios fueron esterilizados a 121 C por 30 minutos, luego enfriadas a 28 C Para su Inoculación con Cepas de Pleurotus Ostreatus.

Resultados de los experimentos

Los experimentos fueron realizados utilizando las siguientes modalidades de inoculación.

- a) Las cepas o cultivos de Pleurotus Ostreatus cultivados en grano de trigo. Para esto se pesaron 250 gr de trigo integral adquirido en el mercado comercial, se introdujeron 450 gr o ml de agua para luego ser esterilizados a 121 C.

A este material enfriado se inoculó con 50 gr de iniciadores y se incubó por 8 días a 28 C a oscuridad.

Esta cantidad se inoculo, se introdujo en los terrarios luego se produjo su cultivo en una estufa a 28 C, a oscuridad y con suficiente cantidad de aire.

En los siguientes cuadros se muestran los resultados obtenidos con inoculación con hifas desarrolladas en trigo integral se observa que la degradación del petróleo que contamina el suelo ocurre en periodos largos y en pequeñas proporciones llegando a degradar solamente un 30% del Petróleo Inicial lo que se comprueba con el incremento de la humedad.

Esto probablemente ocurre porque al reaccionar las enzimas segregadas por el P. Ostreatus, con el petróleo genera agua proveniente de estos compuestos orgánicos que son mayormente alifáticos de alto peso molecular.

En lo que respecta al pH no hay variación apreciable lo que indicaría que el pH de sobrevivencia, el pH se ajusta en lo adecuado y no afecta su desarrollo.

Cuando la inoculación del terrario se realiza con los microorganismos en suspensión, se observa mayor degradación del petróleo. Después de dos meses y como el caso anterior se observa un incremento de la humedad que empieza después de 4 días de inoculación con cepas de P. Ostreatus.

Respecto al pH se nota que incrementó, pero sin llegar a inhibir el crecimiento de células P. Ostreatus. Esto probablemente se deba a la liberación de Amoniaco por descomposición de las fuentes de Proteínas o del sulfato de amoniaco agregado.

Al Utilizar la solución de Nutrientes propuestos por “Royse D; Sánchez J.2017”. Los resultados obtenidos son mejores que con inóculos anteriores.

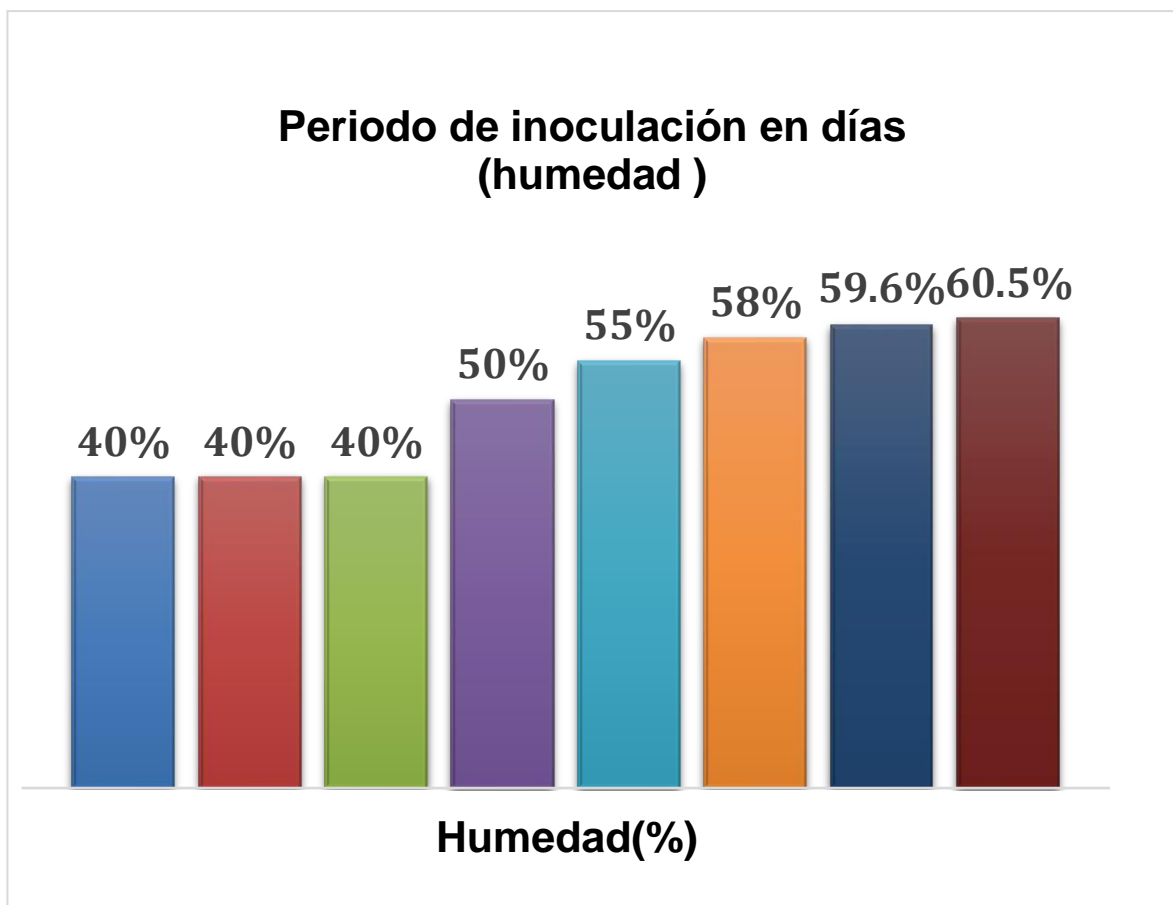
Para un lapso de observación de 60 días o 2 meses de degradación o descomposición del Petróleo hasta un 24.6 %

Cuadro 6 Observación del Periodo de Inoculación

Periodo de Inoculación (días)	Humedad (%)	Petróleo (%)	PH
0	40%	30%	6.8
2	40%	30%	6.8
4	40%	30%	6.9
8	50%	28.2%	6.5
15	55%	27.8%	6.5
30	58%	26.2%	6.6
40	59.6%	25.8%	6.4
60	60.5%	24.6%	6.4

Fuente: Elaboración Propia.

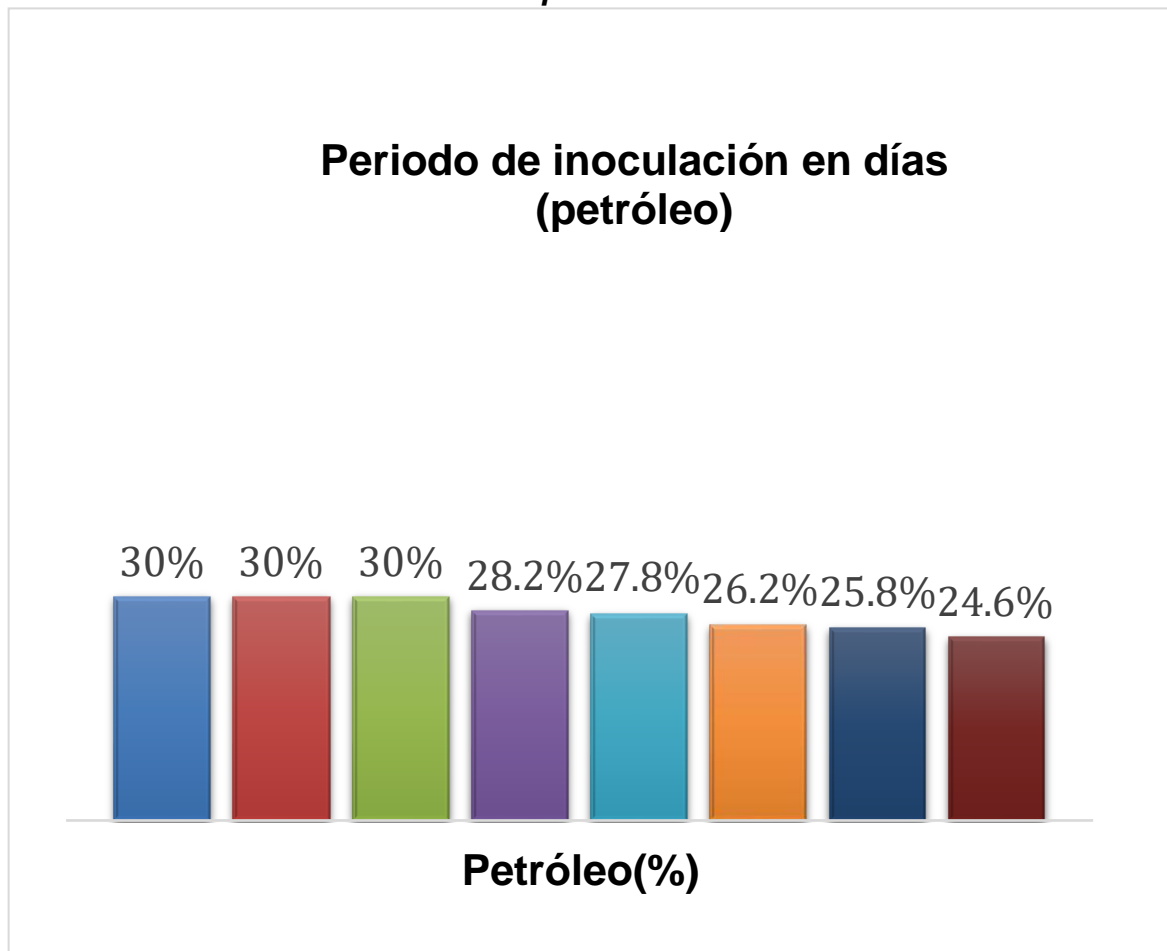
Tabla 2 Periodo de Inoculación de la Humedad en días



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 2 es la representación de los datos en base al cuadro 7, en el grafico se representan los resultados de la humedad antes y después del proceso de biorremediación con petróleo. En el día 0 la humedad es de un 40%, en el día 2 la humedad es de un 40%, en el día 4 la humedad es de un 40%, en el día 8 la humedad es de un 50%, en el día 15 la humedad es de un 55%, en el día 30 la humedad es de un 58%, en el día 40 la humedad es de un 59.6%, en el día 60 la humedad es de un 60.5%.

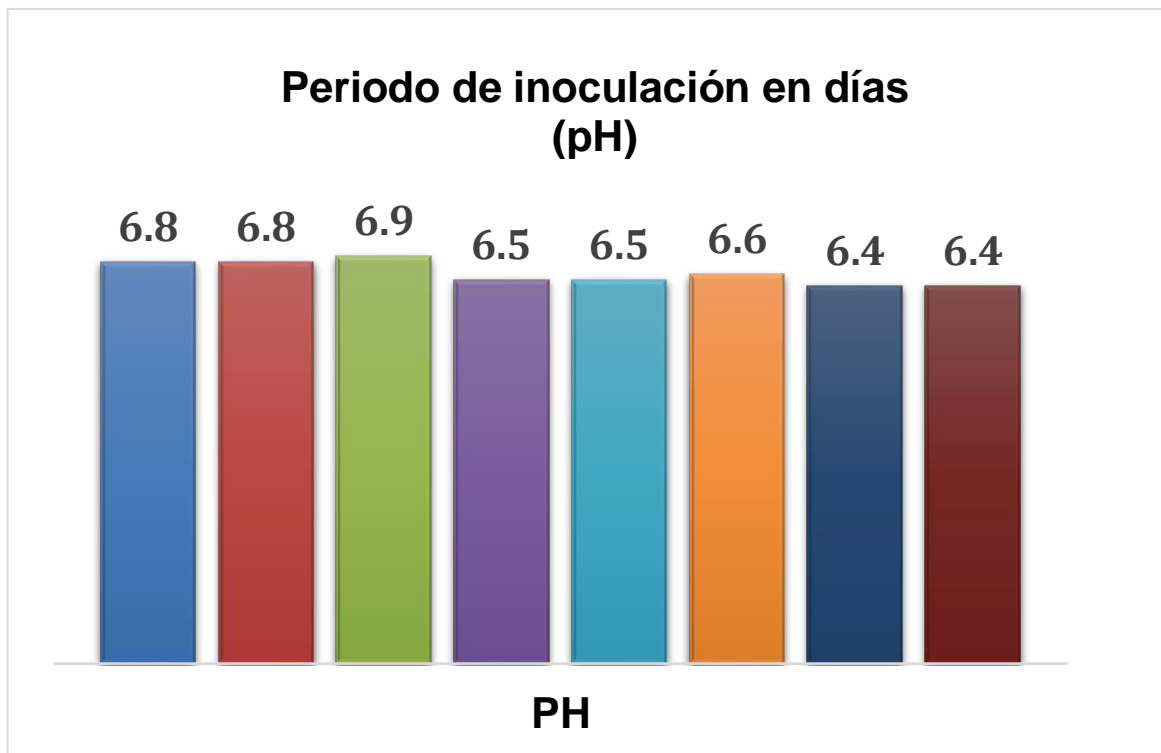
Tabla 3 Periodo de Inoculación del petróleo en días



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 3 es la representación de los datos en base al cuadro 7, en el grafico se representan los resultados del petróleo antes y después del proceso de biorremediación. En el día 0 la degradación del petróleo es de 30%, en el día 2 la degradación del petróleo es de 30%, en el día 4 la degradación del petróleo es de 30%, en el día 8 la degradación del petróleo es de un 28.2%, en el día 15 la degradación del petróleo es de un 27.8%, en el día 30 la degradación del petróleo es de un 26.2%, en el día 40 la degradación del petróleo es de un 25.8 en el día 60 la degradación del petróleo es de un 24.6%,

Tabla 4 Periodo de Inoculación del PH en días



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 4 es la representación de los datos en base al cuadro 7, en el grafico se representan los resultados del pH antes y después del proceso de biorremediación con petróleo. En el día 0 el pH es de un 6.8, en el día 2 el pH es de un 6.8, en el día 4 el pH es de un 6.9, en el día 8 el pH es de un 6.5, en el día 15 el pH es de un 6.5, en el día 30 el pH es de un 6.6, en el día 40 el pH es de un 6.4, en el día 60 el pH es de un 6.4.

En una prueba el medio para su preparación de inóculo se tomaron las siguientes cantidades para un litro.

Cuadro 7 Componentes

COMPONENTE	G/l
Sulfato de Amonio	4.3
L-Asparagina	1
KH ₂ PO ₄	1
Mg SO ₄ 7H ₂ O	0.5
Ca Cl ₂ 2 H ₂ O	0.1
Na Cl	0.1
Zn SO ₄ 7 H ₂ O	0.005
Fe SO ₄ 6 H ₂ O	0.005
Harina de Soya	3

Fuente: "Royse D ; Sánchez J.2017."

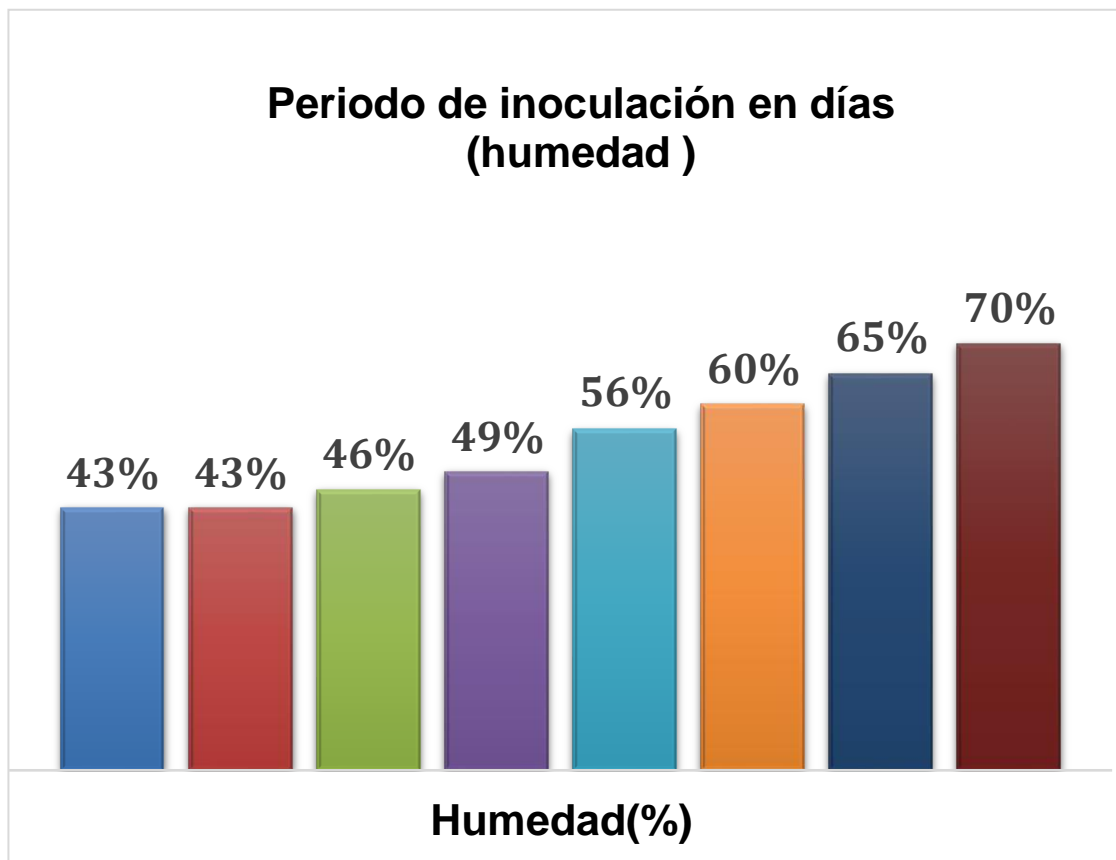
Con esta solución se mezcló la tierra libre de hidrocarburos, petróleo y en lugar de agua se hizo con la solución propuesta, después de su esterilización se inoculo, con un asa de cole, hifas de *Pleurotus Ostreatus*, incubado por 10 días a 28 C, suministro de Aire y en la Oscuridad.

Cuadro 8 Resultados obtenidos

Periodo de Inoculación (días)	Humedad (%)	Petróleo Remanente (%)	PH
0	43%	30%	7.2
2	43%	30%	7.3
4	46%	28%	7.5
8	49%	24%	7.9
15	56%	20%	7.9
30	60%	18%	8.5
40	65%	18%	8.6
60	70%	18%	8.8

Fuente: Elaboración Propia.

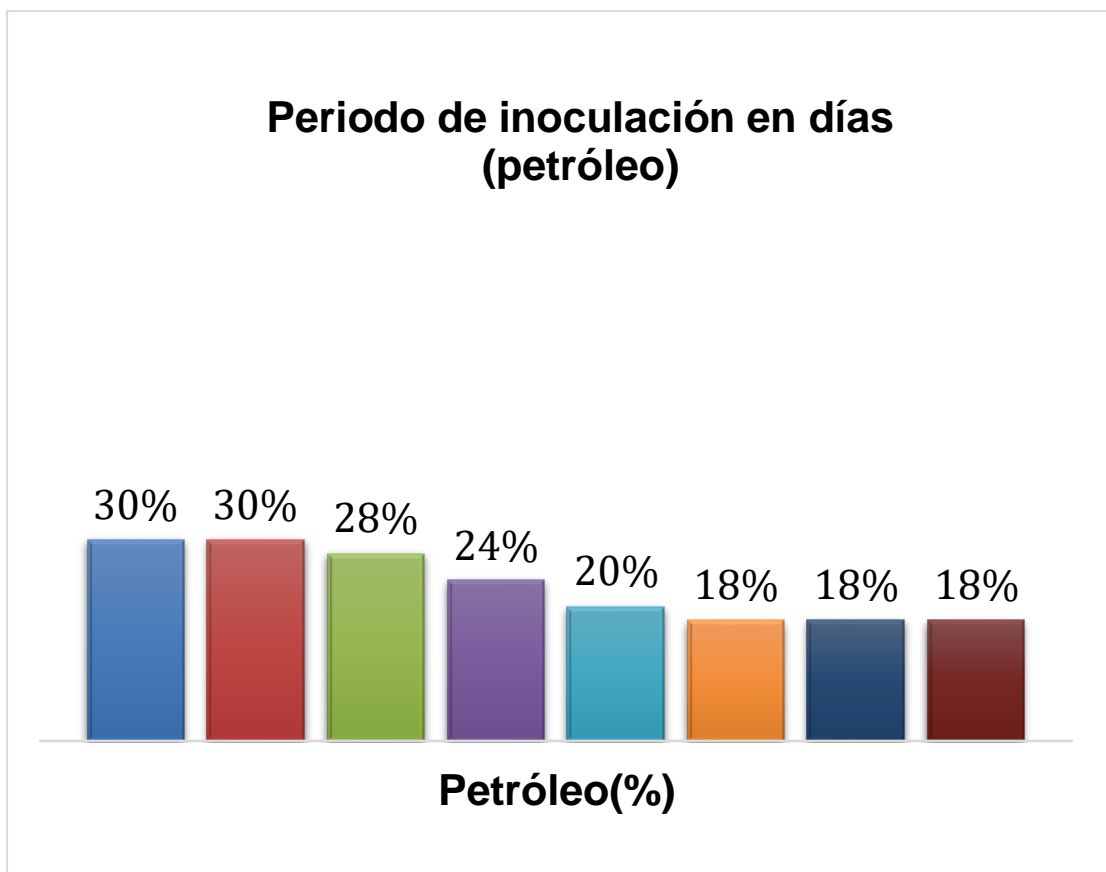
Tabla 5 Resultados del Periodo de Inoculación de la humedad en días



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 5 es la representación de los datos en base al cuadro 9, en el grafico se representan los resultados de la humedad antes y después del proceso de biorremediación con petróleo remanente. En el día 0 la humedad es de un 43%, en el día 2 la humedad es de un 43%, en el día 4 la humedad es de un 46%, en el día 8 la humedad es de un 49%, en el día 15 la humedad es de un 56%, en el día 30 la humedad es de un 60%, en el día 40 la humedad es de un 65%, en el día 60 la humedad es de un 70%.

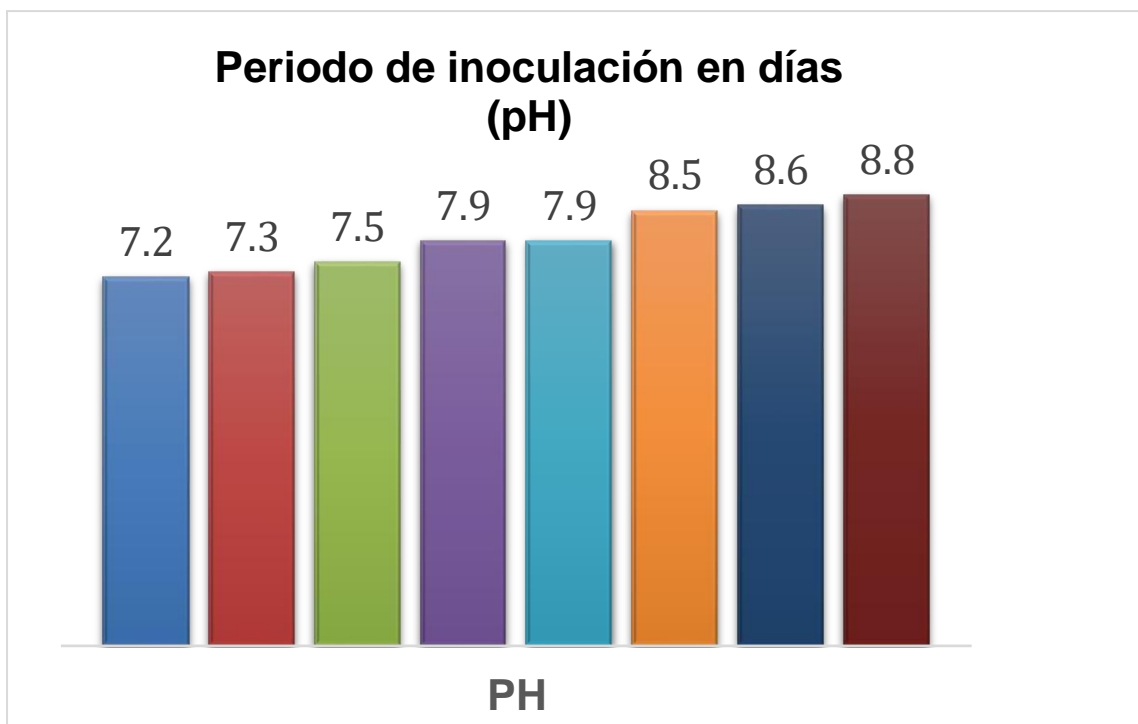
Tabla 6 Resultados del Periodo de Inoculación del petróleo en días



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 6 es la representación de los datos en base al cuadro 9, en el gráfico se representan los resultados del petróleo remanente antes y después del proceso de biorremediación. En el día 0 la degradación del petróleo remanente es de 30%, en el día 2 la degradación del petróleo remanente es de 30%, en el día 4 la degradación del petróleo remanente es de 28%, en el día 8 la degradación del petróleo remanente es de un 24%, en el día 15 la degradación del petróleo remanente es de un 20%, en el día 30 la degradación del petróleo remanente es de un 18%, en el día 40 la degradación del petróleo remanente es de un 18%, en el día 60 la degradación del petróleo es de un 18%,

Tabla 7 Resultados del Periodo de Inoculación del PH en días



Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 7 es la representación de los datos en base al cuadro 9, en el gráfico se representan los resultados del pH antes y después del proceso de biorremediación con petróleo remanente. En el día 0 el pH es de un 7.2, en el día 2 el pH es de un 7.3, en el día 4 el pH es de un 7.5, en el día 8 el pH es de un 7.9, en el día 15 el pH es de un 7.9, en el día 30 el pH es de un 8.5, en el día 40 el pH es de un 8.6, en el día 60 el pH es de un 8.8.

V.

DISCUSIÓN

En el proyecto de investigación se pudo determinar la eficiencia de la Biorremediación de Suelos contaminados con petróleo resultando una eficiencia de 30% en los primeros días de iniciado el tratamiento y luego una disminución hasta el 18% en los últimos días de tratamiento. Comparto con “Zegarra R .2017.” el uso de *Pleurotus Ostreatus* en suelos contaminados con Plomo donde se obtuvo como resultado una eficiencia de 29.4% con 792,00 mg/kg de suelo contaminado con relave minero y suplementado con aserrín. Sin embargo, el presente proyecto de investigación revela que el uso de *Pleurotus Ostreatus* también puede ser utilizado en suelos contaminados con Petróleo obteniendo en ambos casos una eficiencia significativa.

El presente proyecto de investigación utilizó trigo como medio micelar llegando a una reducción de 30% con tendencia a disminución con el paso de las semanas. “Sadiq S; et al. 2018.” En el estudio se identificó una reducción total del 58% del isómero con una duración de incubación de 5 semanas, reduciendo durante la primera semana un 34%, 5%, 3%, 8% y 9% durante la segunda, tercera, cuarta y quinta semana respectivamente. Se pudo demostrar que el SMC posee buen potencial de biorremediación de este isómero. Se evidencia que el tratamiento con *Pleurotus Ostreatus* y compost demostró una mayor eficiencia para biorremediar HCH.

Los estudios de biorremediación de suelos contaminados con petróleo generalmente son realizados en condiciones forzadas para su aplicación y en medios estériles, por lo que podría ocasionar problemas en la aplicación de los resultados obtenidos en laboratorio al campo. Hoy en día muchos de los estudios sobre micorremediación (remediación con hongos) de suelos contaminados con petróleo crudo y sus derivados son escasos y la mayoría son realizados a nivel laboratorio. Es de suma importancia poder aplicar estudios en las áreas afectadas. “Dickson U; et al. 2019.” Estoy de acuerdo con el autor ya que las condiciones de los vertimientos de petróleo crudo en la Amazonía Peruana son diferentes al petróleo comercial y las concentraciones también son superiores. En otro aspecto estoy en desacuerdo debido a que el sector Hidrocarburo no permite la accesibilidad a las zonas de derrame por diversos

motivos y eso implica una limitación en los proyectos de investigación por la cual nos vemos forzados a tratar de replicar estas condiciones para que en un futuro se pueda aplicar a la realidad.

VI. CONCLUSIONES

En el presente proyecto de investigación, la biorremediación de suelos con **Pleurotus Ostreatus** alcanzó una mayor eficiencia en suelo contaminado con petróleo y remanente de petróleo en los primeros días con un 30% y alcanza una menor eficiencia del petróleo en un 24.6% y 18 %. Estos datos experimentales ayudan a fortalecer nuevos métodos técnicos haciendo más eficiente y perfecto la biorremediación tal como nombra “Liu Shaowen ; et al.2017.” la aplicación de nuevas tecnologías y metodologías se encuentra actualmente en el suelo. Las cuales siguen aumentando con el paso del tiempo, ampliando, acondicionando el suelo, con nuevos materiales ecológicos así tenemos a la zeolita que es un catalizador, el cual puede mejorar eficazmente las propiedades del suelo, aumentar la eficacia de la rehabilitación de plantas y microorganismos, mejorar la resistencia biológica a los contaminantes.

Al adicionar surfactante de petróleo en la biorremediación de suelos genera cambios irreversibles en la estructura del suelo, así lo nombra “ Qin Yiling ; Lin Shuyu.2018.” Por lo general el petróleo se encuentra en tanques subterráneos, oleoductos subterráneos, lo que facilita a la corrosión de los tanques, oleoductos u otras causas de fuga de petróleo. Si el petróleo se adiciona al suelo, se filtrarán rápidamente, cambiando sus características, la estructura del suelo y las condiciones del sitio. En nuestra presente investigación por la acción del hongo **Pleurotus Ostreatus** logra degradar las partículas de petróleo utilizándolo como fuente de carbono y haciendo factible la biorremediación de suelos.

Se determina que la inoculación del hongo **Pleurotus Ostreatus** influye en la biorremediación con petróleo, debido a que se observa un aumento en el crecimiento micelial y una mejor estructuración de la hifas, el cual utiliza como sustrato al trigo lo cual es reconocido por el autor “Tobar B.2018.” que el mejor método para biorremediar suelos contaminados con Petróleo es el uso del **Pleurotus Ostreatus** más sustrato de trigo.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar estudios comparativos con otras especies de hongos de la familia Basidiomicetos, de tal forma determinando la eficiencia y sus porcentajes de degradación. Tal como demuestra "Ibarra A.2019." que el desarrollo de los hongos basidiomicetos *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus* y *Ganoderma lucidum*, puede ser posible en in vitro y usando como sustrato los residuos agroforestales, demuestran que el mejor desarrollo lo da *Ganoderma lucidum* que el resto de hongos.

Los granos de trigo se utilizan para producir inóculo primario para obtener mayor biomasa y luego se podrían utilizar granos de cebada para inocularlos para producir inóculo secundario el cual se utilizará para inocular un sustrato definido o suelo directamente contaminado.

Mejorar la humedad en los suelos contaminados para obtener un mejor desarrollo del micelio y mejor estructuración de las hifas. Durante el adicionamiento del aserrín, debido a que es de naturaleza seca y absorbe la humedad.

Sin agregar ningún aditivo probar diferentes niveles de contaminación por petróleo en el suelo para así probar las dosis mínima y máxima que permitieran el crecimiento de los hongos y así poder medir el grado de degradación del petróleo en estos tratamientos.

Intente enriquecer el suelo con torta de soja y con otras fuentes de nitrógeno sin inocular hongos *Pleurotus Ostreatus* para estimular el crecimiento de hongos naturales del suelo. Posteriormente se identificaron y aislaron los hongos con potencial de biorremediación. Dado que los posibles sitios de aplicación de biorremediación se encuentran en regiones cálidas, como el norte de Perú y la región amazónica, las pruebas de colonización del suelo se realizan a temperaturas más altas (entre 30 ° C y 37 ° C).

Habiendo evaluado la eficiencia de degradación del hongo *Pleurotus Ostreatus* en sustrato de trigo se debería aplicar el tratamiento en mayor escala en sitios

contaminados de tal manera se podrá evaluar el comportamiento del hongo en condiciones ambientales no controladas.

REFERENCIAS

1. RÍOS, Jorge Alonso Acosta, et al. *Planeamiento Estratégico de los Recursos Naturales*. 2019. Tesis Doctoral. Pontificia Universidad Católica del Perú-CENTRUM Católica (Peru). <https://search.proquest.com/openview/509784a25f44ff4e7ad69bf8ad4c8be7/1?pq-origsite=gscholar&cbl=51922&diss=y>.
2. LEÓN, Aymara. *La sombra del petróleo*. 2020. <https://derramespetroleros.pe/wp-content/uploads/2020/10/18536-Sombra-de-los-hidrocarburos-web.pdf>.
3. ZEGARRA MINAYA, Regina Enith. *Capacidad del hongo *Pleurotus ostreatus* para la biorremediación de suelos contaminados por Plomo (Pb) en el laboratorio-2017*. 2017. <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20500.12692/17493>.
4. Huang Rongxia, et al. *Progreso de la investigación de la remediación de suelos contaminados con petróleo*. *Revista del Instituto de Tecnología de Nanchang*, 2016, no 3, p. 48-54.
5. ROBICHAUD, Kawina. *Biorremediación de suelos en ambientes del norte: recursos locales para tratar una variedad de hidrocarburos de petróleo y otros contaminantes con fitorremediación, micorremediación y la ayuda de fertilizantes residuales*. 2020. ROBICHAUD, Kawina. *Bioremediation de sols en milieu nordique: des ressources locales pour traiter une variété d'hydrocarbures pétroliers et autres contaminants avec la phytoremédiation, la mycoremédiation et l'aide de matières résiduelles fertilisantes*. 2020.
6. QUINTELLA, Cristina M.; MATA, Ana MT; LIMA, Leandro CP. *Overview of bioremediation with technology assessment and emphasis on fungal bioremediation of oil contaminated soils*. *Journal of environmental management*, 2019, vol. 241, p. 156-166. referencia: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030147971930>.
7. RUDAKIYA, Darshan M., et al. *Fungal Bioremediation: A Step Towards Cleaner Environment*. En *Advancing Frontiers in Mycology & Mycotechnology*. Springer, Singapore, 2019. p. 229-249. https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-981-13-9349-5_9.

8. Lin Shuyu, et al. *Aplicación de una nueva tecnología de cribado rápido a sitios de suelo contaminados por hidrocarburos de petróleo. Remedación de la contaminación del suelo y las aguas subterráneas*, 2018, vol. 5, no 4, p. 195-203.
9. SHEN, Larissa. *Bioremediation of Crude Oil by 3 Mushroom Species*. 2020. <http://broncoscholar.library.cpp.edu/handle/10211.3/215609>.
10. STELLA, Tatiana, et al. *Bioremediation of long-term PCB-contaminated soil by white-rot fungi. Journal of hazardous materials*, 2017, vol. 324, p. 701-710.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389416310652>.
11. DESHMUKH, Radhika; KHARDENAVIS, Anshuman A.; PUROHIT, Hemant J. *Diverse metabolic capacities of fungi for bioremediation. Indian journal of microbiology*, 2016, vol. 56, no 3, p. 247-264.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s12088-016-0584-6>.
12. ROMERO-SILVA, Roberto, et al. *Bioremediation of soils contaminated with petroleum solid wastes and drill cuttings by Pleurotus sp. under different treatment scales. SN Applied Sciences*, 2019, vol. 1, no 10, p. 1209. <https://link.springer.com/article/10.1007/s42452-019-1236-3>.
13. PIETRO-SOUZA, William, et al. *Mercury resistance and bioremediation mediated by endophytic fungi. Chemosphere*, 2020, vol. 240, p. 124874.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653519321137>.
14. Li Zhenwei, et al. *El método de bioestimulación promueve hongos de pudrición blanca para remediar suelos contaminados con petróleo. Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing)*, 2018, vol. 34, no 4, p. 799-804. [PDF] syxbsyjg.com.
15. YESILADA, Ozfer; BIRHANLI, Emre; GECKIL, Hikmet. *Bioremediation and decolorization of textile dyes by white rot fungi and laccase enzymes. En Mycoremediation and environmental sustainability*. Springer, Cham, 2018. p. 121-153. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-77386-5_5.

16. Zhu Xiuyu; Wang Zhu; Li Guojun. *Estudio sobre el cambio de la actividad lacasa en la biorremediación de suelos contaminados con petróleo. Environmental Science and Management*, 2019, vol. 44, no 8, p. 104-108. <http://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTTotal-BFHJ201908022.htm>.
17. Hao Dacheng; Zhou Jianqiang; Han Jun. *Remediación microbiana de metales pesados del suelo y contaminantes orgánicos: bioaugmentación y bioestimulación. Boletín de biotecnología*, 2017, vol. 33, no 10, p. 9-17. http://manu64.magtech.com.cn/Jwk3_nky_rwd/CN/abstract/abstract14477.shtml.
18. RAMÍREZ, Gutiérrez; ANDRÉS, Claudio. *Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos empleando lodos de aguas residuales como fuente alterna de nutrientes*. 2017. <http://repobib.ubiobio.cl/jspui/handle/123456789/3096>.
19. MOHAMMADI-SICHANI, M. Maryam, et al. *Bioremediation of soil contaminated crude oil by Agaricomycetes. Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 2017, vol. 15, no 1, p. 8. <https://link.springer.com/article/10.1186/s40201-016-0263-x>.
20. Zhang Chi, et al. *Aplicación de lombrices de tierra en la remediación de suelos en el sur de China. Biodiversidad*, 2018, vol. 26, no 10, p. 1091. <https://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2018151>.
21. Wang Ziming. *Plantación de Pleurotus ostreatus. Investigación científica sobre la juventud rural*, 2017, no 9, p. 15. <http://www.cnki.com.cn/Article/CJFDTTotal-NCQS201709015.htm>
22. VALERA LÓPEZ, Anacelly. *Rendimiento del hongo comestible Pleurotus ostreatus cultivado en diferentes sustratos a base de residuos agroindustriales de la ciudad de Tacna*. 2019. <http://redi.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3728>.
23. COELLO, J. M.; BURGOS, F. *Aplicación del hongo Pleurotus ostreatus como alternativa para la biorremediación de suelos contaminados con metales pesados*. 2018. <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/21020> .
24. TOBAR BRAVO, Luis Fernando. *Evaluación de la eficiencia del hongo Pleurotus ostreatus, en la biodegradación de suelos contaminados por*

- carbaryl*. 2018. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8947/1/236T0344.pdf>
25. ESTEBAN NIETO, Nicomedes. *Tipos de Investigación*. 2018.
<http://repositorio.usdg.edu.pe/handle/USDG/34>.
26. TACILLO YAULI, Elvis Fernando. Metodología de la investigación científica. 2016. <http://repositorio.bausate.edu.pe/handle/bausate/36>.
27. HERNÁNDEZ-SAMPIERI, R.; FERNÁNDEZ-COLLADO, C.; BAPTISTA-LUCIO, P. Alcance de la Investigación. 2017.
http://metabase.uaem.mx/bitstream/handle/123456789/2792/510_06_color.pdf?sequence=1
28. BASTAR, Sergio Gómez. *Metodología de la investigación*. 2019.
http://190.57.147.202:90/xmlui/bitstream/handle/123456789/735/Metodologia_de_la_investigacion.pdf?sequence=1
29. ARIAS-GÓMEZ, Jesús; VILLASÍS-KEEVER, Miguel Ángel; NOVALES, María Guadalupe Miranda. *El protocolo de investigación III: la población de estudio*. Revista Alergia México, 2016, vol. 63, no 2, p. 201-206.
<https://www.redalyc.org/pdf/4867/486755023011.pdf>.
30. OTZEN, Tamara; MANTEROLA, Carlos. *Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio*. *International journal of morphology*, 2017, vol. 35, no 1, p. 227-232. https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-95022017000100037&script=sci_artt.
31. GOMEZ CASTAÑO, Jose Vicente, et al. *Tipo de Muestreo*. *Estadística II*, 2020. <https://repositorio.konradlorenz.edu.co/handle/001/3026>
32. ALBAN, Gladys Patricia Guevara; ARGUELLO, Alexis Eduardo Verdesoto; MOLINA, Nelly Esther Castro. *Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción)*. RECIMUNDO, 2020, vol. 4, no 3, p. 163-173.
<http://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860>.
33. HERNÁNDEZ-SAMPIERI, Roberto; TORRES, Christian Paulina Mendoza. *Metodología de la investigación*. México^ eD. F DF: McGraw-Hill Interamericana, 2018.
<https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/38911499/Sampieri.pdf?14434135>

42=&response-content-
disposition=inline%3B+filename%3DSampieri.pdf&Expires=1610226728
&Signature=HFiPy0ZyJ4CXSl1mBmieuT9GRtrTTKNRF~8XgX0orn3v-
rgfGBqsgcoxSgGaPCb--NHuX~QslwvU1nlzZ-
6y6Upt~gRjz42moLnP3KQuDr0AWXeI-
K27Jx8HiXzLUFp1ZeuUQAffFQLbyScH8dvoeh3bJPe5JjX4yMRD842m
JE2YTojvU1v2YjpTO17UciNUOLbL1kCBE7-
PTf2DCMOnRFV8UOuVHyMuQql0RGJ0qpznRxl-
bBF0JJfDXyfrbKaWUav0pioee92d-C24hVIsfXmFCv18WHk5JZ-
K8rW3yiH-6SC0fZGRgQIWM-
7h5pPC4RwqyscJHIYOPyRhivqYJQ__&Key-Pair-
Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

34. Consolidación. *Ética Ambiental. Literatura, Historia y Filosofía*, 2019, no 1, p. 154-160. <https://www.redalyc.org/pdf/875/87549410003.pdf>
35. VALERA, Luca. *Introducción. ¿ Qué es la ética ambiental? Desde sus raíces hacia el futuro. Cuadernos de Bioética*, 2016, vol. 27, no 3, p. 289-292. <https://www.redalyc.org/pdf/875/87549410003.pdf>
36. ROYSE, Daniel J.; SÁNCHEZ, José E. *Producción mundial de setas Pleurotus spp. con énfasis en países iberoamericanos. La biología, el cultivo y las propiedades nutricionales y medicinales de las setas Pleurotus spp.* El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, 2017, p. 17-25. https://www.researchgate.net/profile/Rigoberto_Gaitan-Hernandez/publication/325957262_Uses_of_spent_mushroom_substrate_of_Pleurotus_spp/links/5b2f33ada6fdcc8506c77c2f/Uses-of-spent-mushroom-substrate-of-Pleurotus-spp.pdf#page=17.
37. SADIQ, Saima, et al. Bioremediation of hexachlorocyclohexane (HCH) in soil using spent mushroom compost of *Pleurotus ostreatus*. *Bioremediation Journal*, 2018, vol. 22, no 3-4, p. 126-135. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10889868.2018.1516615>
38. DICKSON, Udeme John, et al. Mycoremediation of petroleum contaminated soils: Progress, prospects and perspectives. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 2019, vol. 21, no 9, p. 1446-1458.

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/em/c9em00101h/una-uth#!divAbstract>.

39. Liu Shaowen, et al. Progreso de la investigación en la biorremediación de la contaminación por metales pesados del suelo. *Ciencia forestal*, 2017, vol. 53, no 5, p. 146-155. <http://html.rhhz.net/linyekexue/html/2017-5-146.htm>.
40. Qin Yiling; Lin Shuyu. *Aplicación de tecnología de restauración biológica a sitios de suelos contaminados con aceite lubricante. Remediación de la contaminación del suelo y las aguas subterráneas*, 2018, vol. 5, no 4, p. 163-173.
<https://www.airitilibrary.com/Publication/alDetailedMesh?docid=23132736-201810-202008110004-202008110004-163-173>
41. IBARRA ISLAS, Adriana. *Aprovechamiento de residuos agroforestales en el cultivo de hongos Basidiomicetos*. 2019.
http://www.repositorio.unadmexico.mx:8080/jspui/bitstream/123456789/199/1/PT2_2091-1_ES1511123754.pdf.
42. Li Zhenwei, et al. El método de bioestimulación promueve hongos de pudrición blanca para remediar suelos contaminados con petróleo. *Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing)*, 2018, vol. 34, no 4, p. 799-804.
43. SABANTINA, Lilia, et al. *Comparative study of Pleurotus Ostreatus mushroom grown on modified PAN nanofiber mats*. *Nanomaterials*, 2019, vol. 9, no 3, p. 475. <https://www.mdpi.com/2079-4991/9/3/475>.
44. "VERMA, Samakshi; KUILA, Arindam. *Bioremediation of heavy metals by microbial process*. *Environmental Technology & Innovation*, 2019, vol. 14, p. 100369."
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352186418305911>.

ANEXO

ANEXO 1 "MATRIZ DE CONSISTENCIA"

	PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	INDICES	MÉTODOS	TECNICAS	INSTRUMENTOS
Principal	¿Cuál será la Eficiencia de biorremediación de suelos contaminados con Petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus?	Determinar la Eficiencia de Remediación de suelos contaminados con Petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus.	La acción del Hongo P. Ostreatus influye significativamente en la remediación de suelos contaminados con Petróleo.	Variable Dependiente : Eficiencia de la Biorremediación del Suelos contaminados con Petróleo	Concentración final (Cf) de petróleo	> 6000 PS	mg/kg	Tipo de Investigación: básica	Observación Experimental	Registro de Campo, Ficha de Recolección de Datos, Cámara Fotográfica o Videgrabadora
					Eficiencia del Tratamiento	0 - 100	Porcentaje (%)	Nivel de Investigación: explicativo		
Específicos	¿De qué manera influye la Adición de Surfactante en la biorremediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus?	Determinar la influencia de la Adición de Surfactante en la remediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus.	La Adición de Surfactante influye significativamente en la remediación de suelos contaminados con petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus	Variable Independiente: Por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus	Adición de Surfactante	Con Surfactante	mg	Diseño de la Investigación: Experimental propiamente dicho		
						Sin surfactante	mg	Población: Tierra preparada provenientes de tienda Makro-Lima contaminados con Petróleo		
					Tipo de Inóculo	Inóculo Líquido	ml	Muestra: 20 kg. de Tierra preparada correspondiente a la tienda Makro-Lima contaminado con Petróleo		
						Semilla de trigo	mg	Unidad Experimental: 3 000 gr (3Kg) de muestra de suelo contaminado con X ml de petróleo.		

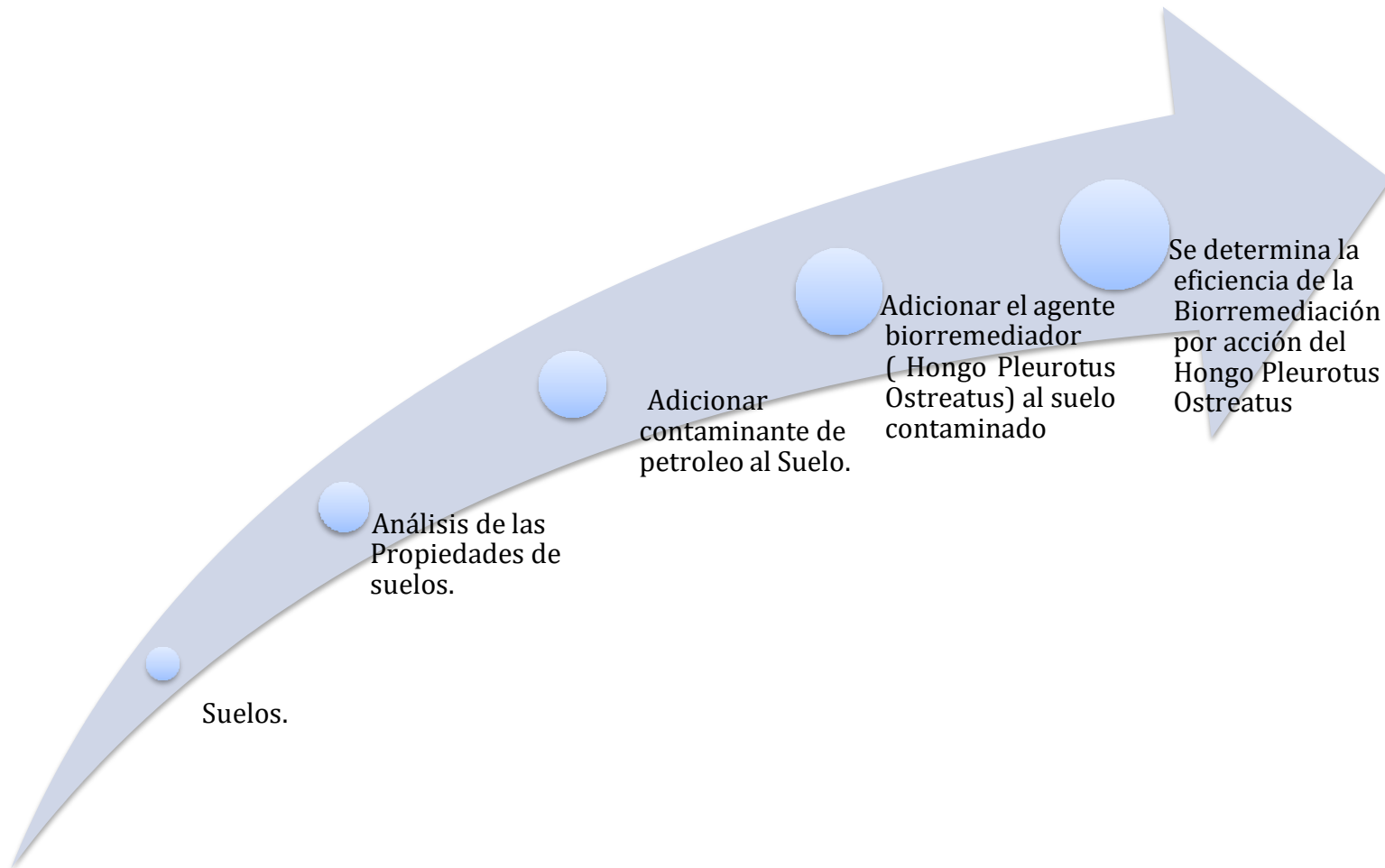
Fuente: Elaboración Propia.

ANEXO 2 “OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES”

VARIABLE	DEF. TEORICA	DEFINICIÓN OPERATIVA	DIMENSIONES	INDICADOR	TIPO ESTADISTICO	ESCALA	INSTRUMENTO
Eficiencia de la Biorremediación de suelos contaminados con Petróleo	La biorremediación es una tecnología ingeniosa y optimista que es aplicable para la recuperación y reducción de metales pesados en aguas y tierras contaminadas. Verma, S; Kuila, A. 2019	Porción de suelos contaminados con petróleo	Concentración final(Cf) de petróleo	> 6000 PS	Cuantitativa discreta	De intervalo	Recolección de Datos, Cámara Fotográfica o Videogradora Resultados de laboratorio
		% de biorremediación de suelos	Eficiencia del Tratamiento	0 -100 %			
Mediante la acción de hongo Pleurotus Ostreatus	Pleurotus ostreatus es un hongo comestible conocido que muestra un rápido crecimiento. Las setas se pueden utilizar con fines médicos, nutricionales, de filtrado o de envasado. Sabantina, Lilia, et al. 2019	Acción de Hongo Pleurotus Ostreatus	Adición de Surfactante	Con Surfactante	Cualitativa nominal	De Intervalo	
				Sin surfactante			
		Tipos de Inoculo de crecimiento del Pleurotus Ostretatus	Tipo de Inóculo	Inóculo Líquido			
				Semilla de trigo			



Fuente: Elaboración Propia.

Anexo N°3: Diagrama de flujo de la Eficiencia de la Biorremediación de Suelos Contaminados con Petróleo por acción el Hongo Pleurotus Ostreatus



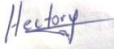

Fuente: Elaboración propia

Anexo N°4: Ficha de recolección de datos y de campo

Título: Eficiencia de la Biorremediación de Suelos Contaminado con Petróleo por Acción del Hongo Pleurotus Ostreatus				
Responsable: Apellidos y Nombres	Firma	Correo	Tipo de Fuente	Ubicación
Herrera Pecho Hector Luis		hectorhp1@outlook.es	Hidrocarburo de petróleo	Laboratorio
Oscorima Ludeña Erika Jazmin		erika.oscorimal@gmail.com	Hidrocarburo de petróleo	Laboratorio

Variable Independiente: POR ACCIÓN DEL HONGO PLEUROTUS OSTREATUS													
Fecha	Código de muestra	Propiedades Físicas		Dosis								Observaciones	
		Humedad (%)	Petróleo Remanente (%)	Tiempo (días)									
				0	2	4	8	15	30	40	60		
01/10/19	BP-01	43	30	X									Después de la esterilización se inoculó con un asa de cole, con hifas de Pleurotus Ostreatus, incubada por 10 días a 28°C (suministro de aire y oscuridad)
03/10/19	BP-02	43	30		X								
05/10/19	BP-03	46	28			X							
09/10/19	BP-04	49	24				x						
16/10/19	BP-05	56	20					X					
31/10/19	BP-06	60	18						X				
10/11/19	BP-07	65	18							x			
30/11/19	BP-08	70	18									x	

Fuente: Elaboración propia

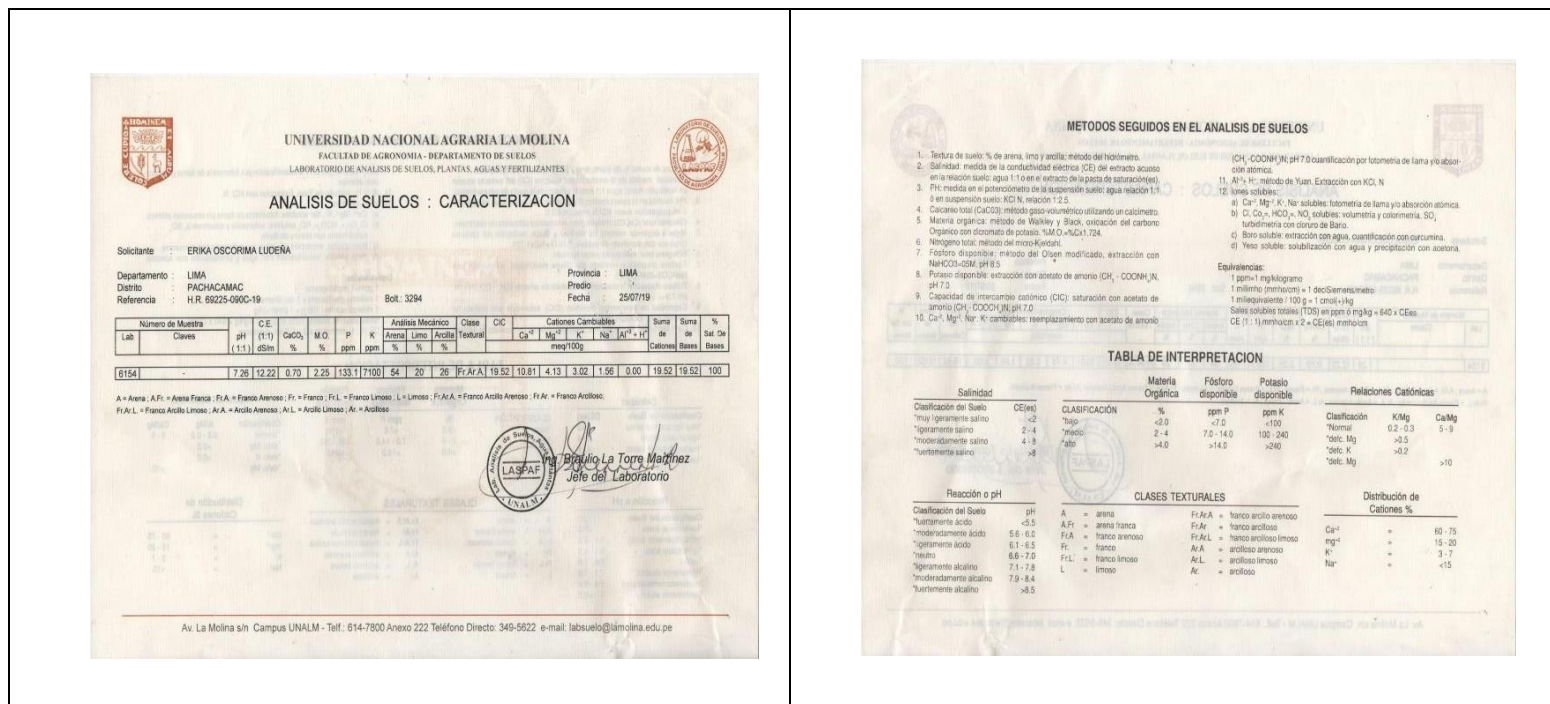
Título: Eficiencia de la Biorremediación de suelos contaminado con Petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus				
Responsable: Apellidos y Nombres	Firma	Correo	Tipo de Fuente	Ubicación
Herrera Pecho Hector Luis		hectorhp1@outlook.es	Hidrocarburo de petróleo	Laboratorio
Oscorima Ludeña Erika Jazmin		Erika.oscorimal@gmail.com	Hidrocarburo de petróleo	Laboratorio

Variable Dependiente: EFICIENCIA DE LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETROLEO								
Fecha	Código de muestra	Parámetros Químicos del Suelo		pH i	pH f	Temperatura (°C)	Humedad Relativa (%)	Observaciones
		Concentración de petróleo (mg/kg)						
		Inicial	Final					
01/10/19	BP-01	30	30	6.8	6.8	28	40	Inoculación con hifas desarrolladas en trigo integral. Después de 90 horas de inoculación a 28°C y en oscuridad obtuvieron los
03/10/19	BP-02	30	30	6.8	6.9	28	40	
05/10/19	BP-03	30	29.2	6.9	7.01	28	40	
09/10/19	BP-04	28.2	27.6	6.5	6.92	28	50	
16/10/19	BP-05	27.8	26.8	6.5	7.45	28	55	
31/10/19	BP-06	26.2	24.0	6.6	7.90	28	58	
10/11/19	BP-07	25.8	22.7	6.4	8.01	28	59.6	
30/11/19	BP-08	24.6	21.6	6.4	8.1	28	60.5	

Fuente: Elaboración propia

Anexo N°05: Evidencia fotográfica de la Eficiencia de la Biorremediación de Suelos Contaminados con Petróleo por acción del Hongo Pleurotus Ostreatus

Figura 1 Análisis de caracterización de muestra de suelo.



Fuente: Elaboración Propia.

Figura 2 Cepa de *Pleurotus Ostreatus* de la Universidad Agraria La Molina



Fuente: Elaboración Propia.

Figura 3 Extracción petróleo con Soxhlet



Fuente: Elaboración Propia.

Figura 4 Reactivación del Hongo Pleurotus Ostreatus



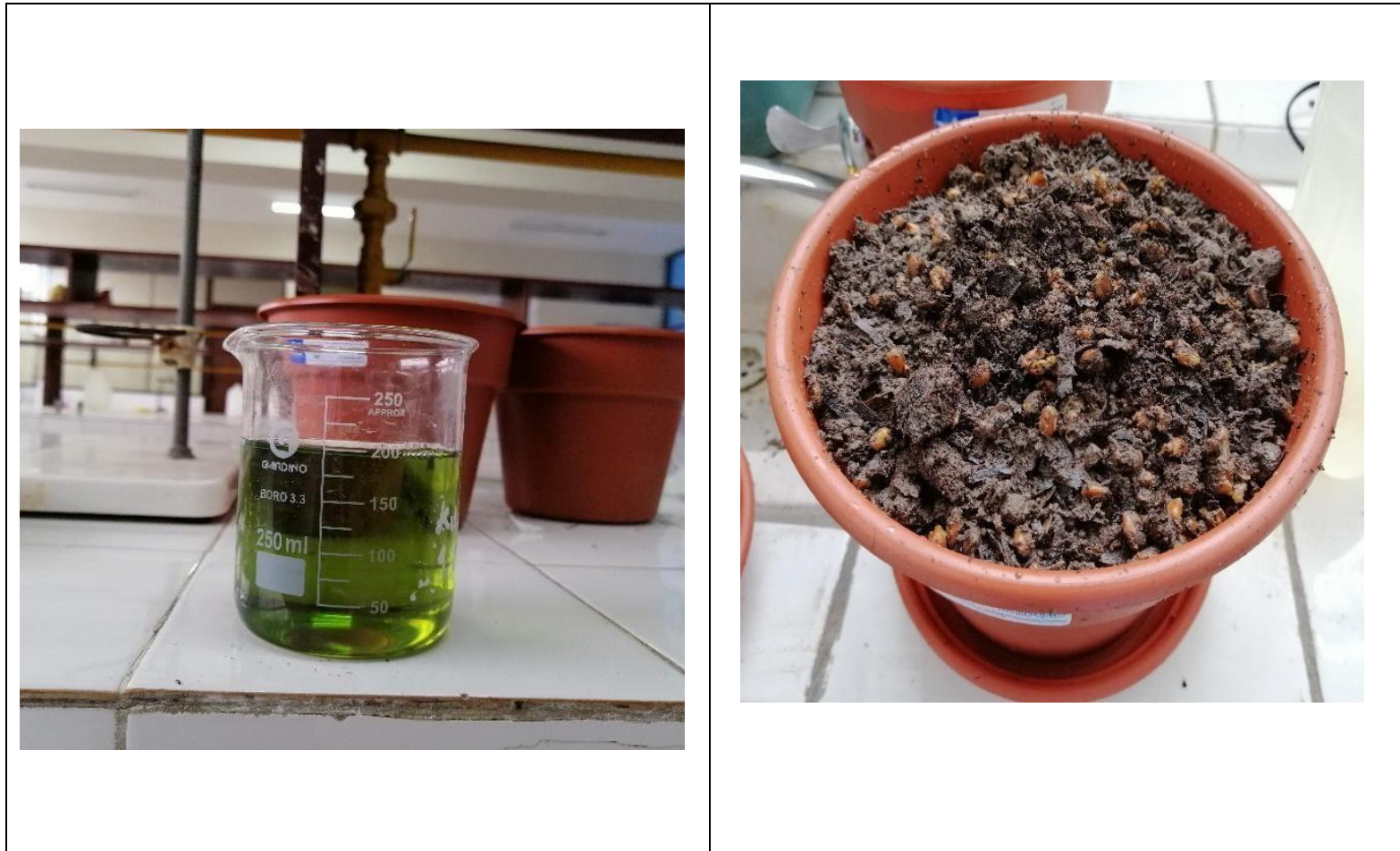
Fuente: Elaboración Propia.

Figura 5 Preparación de la muestra de Suelo



Fuente: Elaboración Propia.

Figura 6 Adición de petróleo a muestra de suelo Con Pleurotus ostreatus



Fuente: Elaboración Propia.

Figura 7 Crecimiento del Pleurotus Ostreatus en Suelos Contaminados por Petróleo



Fuente: Elaboración Propia.

Figura 8 Evaluando la eficiencia del Pleurotus Ostreatus



Fuente: Elaboración Propia.