

UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
Facultad de Ingeniería

Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroecológica y Desarrollo Rural



TESIS

Bioestimulación y Bioaumentación a Microorganismos en la Biorremediación de Suelos
Contaminados por Hidrocarburos – Vilcabamba- Grau

Presentado por:

Iris Pumacayo Huamán

Para optar el Título de Ingeniero Agroecólogo Rural

Abancay, Perú

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROECOLÓGICA Y
DESARROLLO RURAL



TESIS

**"BIOESTIMULACIÓN Y BIOAUMENTACIÓN A MICROORGANISMOS EN LA
BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADOS POR HIDROCARBUROS –
VILCABAMBA- GRAU"**

Presentado por **Iris Pumacayo Huaman**, para optar el Título de:
INGENIERO AGROECÓLOGO RURAL

Sustentado y aprobado el 16 de marzo del 2022, ante el jurado evaluador:

Presidente:


Ing. Luis Ricardo Paredes Quiroz

Primer Miembro:


Ing. Agustín Elguera Hilaes

Segundo Miembro:


MSc. Juan Silver Barreto Carbajal

Asesor:


Ing. Niki Franklin Flores Pacheco

Agradecimiento

Agradezco a nuestro altísimo creador, nuestro señor, al no haberme abandonado y ser siempre mi guía en el camino de mi formación profesional y en vida diaria

Doy las gracias a mis padres Arístides y Gumercinda, por brindarme su apoyo para iniciar la carrera profesional, por inculcarme los valores que conservo y me permitieron seguir adelante hasta culminar la tesis, para lograr el título profesional

Doy gracias a mi esposo Norman, por su incondicional apoyo y motivación en la culminación de la tesis.

Agradezco a mis queridos hijos Alonso, Alizee y Eriksen, por ser mi motivación permanente, brindándome la alegría y fortaleza para continuar con mi formación profesional

Agradezco a mis hermanos, que siempre estuvieron ahí, apoyándome y siendo un soporte emocional en mi vida profesional

A mis queridos y estimados docentes, ya que, gracias a la transmisión de sus conocimientos y experiencias, me permitió ser profesional

A mi asesor de tesis Ingeniero Niki Franklin Flores Pacheco, por su apoyo constantes en la elaboración de la tesis.



Dedicatoria

La presente tesis, lo dedico a Nuestro Señor, que desde los más alto me ilumina y me brinda sus fuerzas para enfrentar las dificultades de la vida profesional y personal

A mis queridos padres Arístides y Gumercinda por el amor, la fuerza moral que cada día me brindan, su confianza que me permitió recorrer mi formación profesional en las aulas universitarias con serenidad, y hoy me permiten culminar una etapa importante de mi vida, ser profesional.

A mi esposo Norman, quien colaboro y apoyo en la presente investigación de manera desinteresada

A mis queridos hijos: Alonso, Alizee y Eriksen, que son mi motor en todo este tiempo y que gracias ellos pude lograr ser profesional

“Bioestimulación y Bioaumentación a Microorganismos en la Biorremediación de Suelos
Contaminados por Hidrocarburos – Vilcabamba- Grau”

Línea de investigación: Agua, agricultura, silvicultura y pecuaria sostenible

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
CAPÍTULO I	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1 Descripción del problema	4
1.2 Enunciado del Problema	5
1.2.1 Problema general	5
1.2.2 Problemas específicos	5
1.2.3 Justificación de la investigación	6
CAPÍTULO II	8
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	8
2.1 Objetivos de la investigación	8
2.2.1 Objetivo general.....	8
2.2.2 Objetivos específicos	8
2.2 Hipótesis de la investigación	8
2.2.3 Hipótesis general.....	8
2.2.4 Hipótesis específicas	9
2.3 Operacionalización de variables	9
CAPÍTULO III	11
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	11
3.1 Antecedentes	11
3.2 Marco teórico	17
3.2.1 Los hidrocarburos	17
3.2.2 El suelo agrícola: parámetros y características.	27
3.2.3 Biorremediación.....	36
3.2.4 Métodos de biorremediación.....	40
3.2.5 Microorganismos	51
3.2.6 Bioaumentador y bioestimulante.	63
3.3 Marco conceptual.....	68
CAPÍTULO IV	72
METODOLOGÍA	72
4.1 Tipo y nivel de investigación	72
4.1.1 Tipo de investigación.....	72
4.1.2 Nivel de investigación.....	72

4.1.3	Método de investigación	73
4.2	Diseño de la investigación	73
4.3	Descripción ética de la investigación.....	76
4.4	Población y muestra.....	76
4.4.1	Población.....	76
4.4.2	Muestra.....	77
4.5	Procedimiento	78
4.5.1	Actividades en campo e instalación	78
4.5.2	Análisis de muestra y evaluación de parámetros.....	80
4.5.3	Materiales necesarios para la investigación	81
4.6	Técnica e instrumentos	82
4.6.1	Técnicas de investigación.....	82
4.6.2	Técnicas estadísticas.....	83
4.7	Análisis estadístico.....	83
4.7.1	Homogeneidad de varianzas.....	83
4.7.2	Normalidad de datos.....	84
4.7.3	Hipótesis estadísticas.....	85
CAPÍTULO V		88
RESULTADOS Y DISCUSIONES		88
5.1	Análisis de resultados	88
5.1.1	Biorremediación de las propiedades físicas del suelo	88
5.1.2	Biorremediación de las propiedades químicas del suelo.....	96
5.1.3	Biorremediación de las propiedades microbiológicas del suelo	105
5.1.4	Degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP) en suelo contaminado. ...	109
5.2	Contrastación de hipótesis	112
5.2.1	Prueba de hipótesis para biorremediación de las propiedades físicas del suelo.....	112
5.2.2	Prueba de hipótesis para las propiedades químicas de suelos	132
5.2.3	Prueba de hipótesis biorremediación de propiedades microbiológicas suelos.....	150
5.2.4	Prueba de hipótesis en la degradación de HTP de suelos contaminados.	157
5.3	Discusión.....	161
5.3.1	Discusión sobre la biorremediación de las propiedades físicas	161
5.3.2	Discusión sobre la biorremediación de las propiedades químicas	162
5.3.3	Discusión sobre las propiedades microbiológicas.....	165
5.3.4	Discusión sobre la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP)	167
CAPÍTULO VI.....		169
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		169

6.1	Conclusiones.....	169
6.2	Recomendaciones.....	171
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	172
	ANEXOS	180



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1—Operacionalización de las variables	10
Tabla 2—Actividades industriales que contaminan el suelo con hidrocarburos.....	21
Tabla 3—Variables influyentes en el transporte de contaminantes en el suelo.	22
Tabla 4—Elemento predominante en los tipos de suelos.....	30
Tabla 5—Reacción del suelo con relación al pH.	31
Tabla 6—Niveles de materia orgánica en suelos.....	32
Tabla 7—Valores de CIC de análisis de suelos.....	33
Tabla 8— Niveles de nitrógeno en los suelos	34
Tabla 9—Niveles de fósforo en suelos.....	34
Tabla 10—Niveles de potasio en el suelo	35
Tabla 11— Promedio de parámetros de microorganismos en suelos.....	35
Tabla 12— Tipología de la fitorremediación	48
Tabla 13—Especies de plantas empleadas en biorremediación	51
Tabla 14—Variedades de microorganismos hidrocarbonoclastas.....	53
Tabla 15—Colonias de bacterias degradadoras de petróleo.....	61
Tabla 16—Colonias de hongos degradadores de petróleo	61
Tabla 17—Tipos de microorganismo contenido en el EM.....	64
Tabla 18—Descripción de los tratamientos del estudio	75
Tabla 19—Aleatorización de los tratamientos	76
Tabla 20 — Distribución de las unidades experimentales	77
Tabla 21 —Variables a evaluar	81
Tabla 22— Prueba de homogeneidad de varianzas de las variables	83
Tabla 23—Prueba de normalidad de las variables	84
Tabla 24—ANOVA.....	85
Tabla 25 —Estadísticos descriptivos: arena, limo y arcilla en la textura de suelos	88
Tabla 26 —Estadísticos descriptivos humedad en suelos	91
Tabla 27—Estadísticos descriptivos porosidad en suelos	93
Tabla 28—Estadísticos descriptivos densidad aparente en suelos	94
Tabla 29— Estadísticos descriptivos de variación del pH en suelos	96
Tabla 30—Estadísticos descriptivos CIC en suelos	98
Tabla 31—Estadísticos descriptivos nitrógeno en suelos.....	100
Tabla 32 —Estadísticos descriptivos fósforo en suelos	102
Tabla 33—Estadísticos descriptivos potasio en suelos	104
Tabla 34—Estadísticos descriptivos bacterias (UFC) en suelos	106

Tabla 35—Estadísticos descriptivos hongos (UFC) en suelos	108
Tabla 36—Estadísticos descriptivos degradación de HTP en suelos	110
Tabla 37— Análisis de variancia biorremediación de propiedades físicas – textura (arena) en suelos	113
Tabla 38— Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas – textura (arena) en suelos	114
Tabla 39—Análisis de varianza biorremediación de propiedades físicas – textura (limo) en suelos	116
Tabla 40—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas – textura (limo) en suelos	118
Tabla 41—Análisis de varianza biorremediación de propiedades físicas – textura (arcilla) en suelos	120
Tabla 42—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas – textura (arcilla) en suelos	121
Tabla 43—Análisis de varianza biorremediación de propiedades físicas – humedad en suelos	123
Tabla 44—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas –humedad en suelos	125
Tabla 45—Análisis de varianza biorremediación de propiedades físicas: porosidad en suelos	127
Tabla 46— Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas: porosidad en suelos	128
Tabla 47—Análisis de varianza biorremediación de propiedades físicas: densidad aparente en suelos	130
Tabla 48—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas: densidad aparente en suelos	131
Tabla 49—Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: pH en suelos ...	134
Tabla 50—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: pH de suelos	135
Tabla 51—Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: CIC en suelos .	137
Tabla 52—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: CIC de suelo.	138
Tabla 53—Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: nitrógeno en suelos	141



Tabla 54—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: nitrógeno en suelos	142
Tabla 55—Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: fosforo en suelos	144
Tabla 56— Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: fosforo en suelos	146
Tabla 57—Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: potasio en suelos	148
Tabla 58—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: potasio en suelos	149
Tabla 59—Análisis de varianza biorremediación de propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en suelos.....	151
Tabla 60—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades microbiológicas: Bacterias (Ufc) en suelos	153
Tabla 61—Análisis de varianza biorremediación de propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en suelos	155
Tabla 62—Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades microbiológicas: Hongos (Ufc) en suelos.....	156
Tabla 63—Análisis de varianza de degradación de HTP en suelos	159
Tabla 64—Prueba de Tukey al 95%, degradación de HTP en suelos	160



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1— Principales derivados del petróleo y su distribución.....	19
Figura 2—Triángulo Textural USDA.....	30
Figura 3—Rango de pH, típico de los suelos	31
Figura 4—Parámetros implicados en la Biorremediación.....	37
Figura 5— Lavado de suelos y sedimentos contaminados.....	40
Figura 6—Fitorremediación con plantas y sus procesos	46
Figura 7— Reacciones de la degradación anaerobia de hidrocarburo	56
Figura 8—Esquema de degradación aerobia y anaerobia	56
Figura 9—Perfil de medias de arena, limo y arcilla en suelos	90
Figura 10—Perfil de medias de humedad en suelos.....	91
Figura 11—Perfil de medias porosidad en suelos	93
Figura 12—Perfil de medias densidad aparente en suelos	95
Figura 13—Perfil de medias de niveles de pH en suelos	97
Figura 14—Perfil de medias de CIC en suelos.....	99
Figura 15—Perfil de medias nitrógeno en suelos.....	101
Figura 16—Perfil de medias fósforo en suelos	102
Figura 17— Perfil de medias potasio en suelos	104
Figura 18—Perfil de medias bacterias (UFC) en suelos	106
Figura 19—Perfil de medias hongos (UFC) en suelos.....	108
Figura 20—Perfil de medias de degradación de HTP en suelos	110



INTRODUCCIÓN

La investigación, titulada “Bioestimulación y Bioaumentación a Microorganismos en la Biorremediación de Suelos Contaminados por Hidrocarburos – Vilcabamba- Grau”, tiene como finalidad evaluar los efectos de diversos niveles de aplicación de bioestimulantes y bioaumentación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos.

Considerando que los combustibles y otros derivados del petróleo, son utilizados en las diferentes actividades productivas, en la agricultura, ganadería, minería, industria y entre otras; los residuos derivados de los combustibles del petróleo, producto del uso, manipulación, almacenaje, transporte entre otros, genera en los suelos la presencia de los hidrocarburos totales de petróleo, que lo contaminan.

Al estar el suelo contaminado pierde su capacidad productiva sobre todo para la actividad agrícola. Asimismo, por la presencia de los hidrocarburos totales de petróleo en el suelo, contamina el agua ya sea por infiltración y escorrentía generando un daño a diferentes nichos ecológicos rompiendo el equilibrio trófico y dañando el medio ambiente.

Por lo tanto, la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos con los métodos de bioestimulación y bioaumentación, es una buena alternativa para recuperar las características de las propiedades, químicas, físicas y microbiológicas del suelo y recuperar su capacidad productiva.

Por lo que la presente investigación beneficiará a los pobladores y productores de las diferentes regiones del país, que sus suelos están afectados por hidrocarburos.



RESUMEN

El presente estudio titulado “Bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos – Vilcabamba- Grau”, tiene el objetivo evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau. Empleando una metodología de tipo experimental, cuantitativo, con una población conformada por suelo contaminado por hidrocarburos de 1 m³, planteando 42 kg por unidad experimental y un total de 882 kg en total dispuestas en un diseño DBCA de 7x3. Teniendo en consideración que los resultados de la investigación muestra una relación positiva significativa (Sig.<0.05) de 100% entre la aplicación de los tratamientos bioaumentación (T6=15Lt de EM-A, T5=10Lt de EM-A y T4= 5Lt de EM-A) y la bioestimulación (T3=15Kg de Úrea, T2=10Kg de Úrea y T1= 5Kg de Úrea) en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP) con resultados de bioaumentación 15, 398.90 mg/kg de S° y bioestimulación 19870.83mg/kg de S°; frente al testigo 22, 798.10 mg/kg de S°. logrando la biorremediación de las propiedades físicas de los suelos como: humedad, porosidad, densidad aparente y clase textural; biorremediación de las propiedades químicas de los suelos: capacidad de intercambio catiónico (CIC), potencial de hidrogeniones (pH), macronutrientes como nitrógeno, fósforo y potasio, y biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias y hongos al incrementar las poblaciones de unidades formadoras de colonias (UFC). Finalmente, llegó a la conclusión que, se ha evaluado el efecto de la bioaumentación y se determinó que, es más eficiente que la bioestimulación a microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos, por qué se ha encontrado mejores resultados en las propiedades físicas, químicas y microbiológicas, frente al tratamiento testigo.

Palabras clave: Biorremediación, bioestimulación, bioaumentación, hidrocarburos.



ABSTRACT

The present study entitled "Biostimulation and bioaugmentation of microorganisms in the bioremediation of soils contaminated by hydrocarbons - Vilcabamba-Grau", aimed to evaluate the effect of biostimulation and bioaugmentation of microorganisms in the bioremediation of soils contaminated by hydrocarbons in Vilcabamba-Grau. Using an experimental, quantitative methodology, with a population made up of soil contaminated by hydrocarbons of 1 m³, raising 42 kg per experimental unit and a total of 882 kg in total arranged in a 7x3 DBCA design. Taking into consideration that the results of the research show a significant positive relationship (Sig.<0.05) of 100% between the application of bioaugmentation treatments (T6=15Lt of EM-A, T5=10Lt of EM-A and T4= 5Lt of EM-A) and biostimulation (T3=15Kg of Urea, T2=10Kg of Urea and T1= 5Kg of Urea) in the degradation of total petroleum hydrocarbons (THP) with bioaugmentation results 15, 398.90 mg/kg of S^o and biostimulation 19870.83mg/kg of S^o; compared to control 22, 798.10 mg/kg of S^o. achieving the bioremediation of the physical properties of soils such as: humidity, porosity, apparent density and textural class; bioremediation of the chemical properties of soils: hydrogen ion potential (pH), cation exchange capacity (CEC), macronutrients such as nitrogen, phosphorus and potassium, and bioremediation of microbiological properties: bacteria and fungi by increasing the populations of soil-forming units. colonies (CFU). Finally, it concluded that the effect of bioaugmentation has been evaluated and it was determined that it is more efficient than biostimulation of microorganisms in the bioremediation of soils contaminated by hydrocarbons, because better results have been found in physical characteristics, chemical and microbiological, compared to the control treatment.

Keywords: *Bioremediation, biostimulation, bioaugmentation, hydrocarbons.*



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

La contaminación de suelos es uno de los diversos problemas ambientales causados por las actividades industriales, por material y sustancia que, depende de su elaboración, cantidades y reactividades, cambian la característica del suelo influyendo en su función básica como fertilidad, medios de depuración, retención del agua, soporte de la flora y control del clima.

La derivación de hidrocarburos como el petróleo crudo, gasolina, diésel, turbosinas, aceite lubricante, entre otros, ha sido significativamente la principal causa de contaminación. Esta sustancia no únicamente afecta al suelo sino además al agua, ya que una vez que se ha esparcido, cientos de ellos se juntan en los poros y en las fracciones orgánicas, pero otros como el diésel y la gasolina, consiguen trasladarse y añadirse al acuífero o cuerpo superficial del agua, mediante infiltración.

La contaminación por hidrocarburos es común en todo el mundo y de amplias distribuciones geográficas. En la mayor parte de las actividades que las personas realizan utilizan el petróleo y sus derivados, que causan daño al medio ambiente y causa un efecto negativo en la salud de los individuos; cuando el ambiente estudiado es el suelo se ve expuesta las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de éstos y también se da origen a la contaminación del cuerpo de aguas subterráneas.

En las diferentes actividades productivas: como la minería sea esta grande, mediana o pequeña, el uso de los hidrocarburos derivados del petróleo es alto, primeramente, el del combustible y seguidamente los aceites lubricantes. Mayormente los equipos que utilizan para la extracción de los minerales, como el equipo de carga, el compresor, el camión de acarreo y, generalmente, el vehículo de servicios y ayuda, requiere de combustible y lubricante para que funcione; de tal manera en su trabajo de conservación de este equipo se utiliza diferentes tipos de aceite y grasa. Es por ello que, en la instalación minera, el



deterioro del suelo por la utilización de este material se puede mostrar en el área de depósito, en talleres de conservación y en un área de operaciones, ante todo.

Muchas plantas de procesamiento de minerales en la provincia de Grau y la Minera Las Bambas en Cotabambas, cuentan con almacenes de combustible diésel y otros hidrocarburos para el desarrollo de sus actividades; lo cual provoca una contaminación directa de suelos por hidrocarburos.

Por lo que, la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos con el uso de métodos como la bioestimulación y bioaumentación, es una buena alternativa, para recuperar las características de los suelos contaminados en las diferentes actividades extractivas que desarrolla el ser humano, y recuperar su capacidad productiva del suelo.

1.2 Enunciado del Problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades físicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau?
- ¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades químicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau?
- ¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades microbiológicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau?
- ¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau?



1.2.3 Justificación de la investigación

El suelo, es uno de los recursos de importancia en el desarrollo de las diversas actividades beneficiosas para el hombre; el suelo es primordial para la humanidad, sobre todo para desarrollar la actividad agropecuaria. Un suelo contaminado por hidrocarburos, pesticidas, metales pesados y radioactividad, es erosionado y estéril; no podrá ser útil para desarrollar actividades productivas, generará problemas de contaminación al medio ambiente a través de infiltración y escorrentía de las aguas. Por lo cual, es fundamental que se desarrolle procedimientos y sistemas de restauración del suelo contaminado. Dentro de las diversas técnicas de restauración de los suelos y tratamiento de desechos de hidrocarburos. La biorremediación con la diversidad de métodos existentes, son muy eficientes, dado que ambientalmente recupera su propiedad física, química y microbiológica del suelo (degradados, contaminados, erosionados, de pobres propiedades físicas y baja fertilidad); para recuperar su capacidad productiva y ambiental.

La biorremediación con sus métodos como la bioestimulación y bioaumentación está centrada en la facultad que tiene el microorganismo de degradar sustancias recalcitrantes (hidrocarburos, pesticidas, metales pesados y radioactividad) existente en el suelo y en el medio ambiente. Varios de ellos son idóneos para que degraden este compuesto hasta que se convierta en dióxido de carbono, sales, agua y algún otro producto inocuo al medio ambiente al cual se integra seguidamente al ciclo biogeoquímico natural. Este método accede a que se trate un elevado volumen de contaminante con impactos ambientales mínimos, a diferencia de algunas técnicas de descontaminación. La biorremediación con sus métodos como la bioestimulación y bioaumentación está ampliamente recomendada en comparación con otras técnicas como la fitorremediación (utilización de plantas) o biolabranza en los procesos de recuperación del suelo contaminado por hidrocarburos.

La biorremediación estudiada y aplicada en la investigación, servirá de base fundamental para posteriores investigaciones, ya que el problema ambiental es producido por los hidrocarburos y se han transformado en problemas latentes, que hasta el día de hoy no pueden ser resueltos. La investigación de un nuevo tratamiento de restauración se ha estado ampliando ensayos en los últimos años,



que es preciso a las necesidades de que se realice el trabajo de restauración acelerada y con un bajo costo.

La biorremediación es una tecnología de recuperación del suelo, frente al deterioro progresivo por el uso de hidrocarburos, pues este problema produce amenazas reales al medio ambiente, tal como la pérdida de las especies vegetales y animales.

Por lo tanto, justificamos el estudio desde los siguientes puntos de vista:

Punto de vista ambiental, el estudio permitió la recuperación de las propiedades, físicas, químicas y microbiológicas del suelo, que fueron afectados por los hidrocarburos, por los métodos de bioestimulación y bioaumentación a los microorganismos que tienen la capacidad de degradar estos compuestos en agua, sales, dióxido de carbono, y otros productos inocuos al medio ambiente, los que serán integradas posteriormente en los ciclos biogeoquímicos naturales.

Desde el punto de vista social, el estudio da a conocer a la población, que el uso de los métodos como la bioaumentación y bioestimulación a microorganismos, en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos, es una opción tecnológica en la recuperación de la capacidad productiva del suelo, de esta manera evitar la contaminación hacia el medio ambiente.

Desde el punto de vista económico, el estudio dará a conocer que aplicando los métodos como la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos, se recuperan las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de los suelos contaminados con hidrocarburos, así convertir estos suelos en productivos para la agricultura, ganadería y silvicultura.

Desde el punto de vista metodológico, el estudio utilizó el método científico en la evaluación del efecto de los métodos como la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos, de manera que se puede replicar y promover su uso en los diferentes centros de explotación industrial y minera en diferentes regiones de nuestro país.



CAPÍTULO II

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos de la investigación

2.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

2.2.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de las propiedades físicas de suelo contaminado con hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

- Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de las propiedades químicas de suelo contaminado con hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

- Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de las propiedades microbiológicas de suelo contaminado con hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

- Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, de suelo contaminado con hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

2.2 Hipótesis de la investigación

2.2.3 Hipótesis general

La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos tiene efectos significativos en la biorremediación de suelo contaminado con hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

2.2.4 Hipótesis específicas

- La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos tiene efectos significativos en la biorremediación de las propiedades físicas de suelo contaminado con hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.
- La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos tiene efectos significativos en la biorremediación de las propiedades químicas de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.
- La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos tiene efectos significativos en la biorremediación de las propiedades microbiológicas de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.
- La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos tiene efectos significativos en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, del suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

2.3 Operacionalización de variables

Se operacionaliza las variables independientes y dependientes del estudio, primeramente, se describen las variables:

Variables Independientes

- **Bioestimulación**

Es la introducción de una modificación en el medio ambiente, a través de los aportes de nutriente (urea), aireación y otros procesos. En el presente estudio se adiciona la solución acuosa que contiene nitrógeno (urea) para que mejore la degradación de contaminantes orgánicos y para la inmovilización de los inorgánicos. Se aplico al suelo contaminado por hidrocarburos

- **Bioaumentación**

Es la incorporación de microorganismos como bacterias acidolacticas ($> 6.0 \times 10^5$ UFC/ml, bacterias fototrópicas $> 4.0 \times 10^5$ UFC/ml y levaduras $> 3.0 \times 10^4$ UFC/ml, para reforzar a los microorganismos autóctonos que es insuficiente para que se degrade los contaminantes (HTP), se adiciono una concentración de microorganismos, que tienen la capacidad de degradar los contaminantes. Se aplico al suelo contaminado por hidrocarburo.

Variable Dependientes:

- **Biorremediación de propiedades físicas de suelo.**

La biorremediación del suelo, consiste en la evaluación de los métodos de la bioestimulación y la bioaumentación para recuperar las propiedades físicas del suelo contaminado con hidrocarburo.

- **Biorremediación de propiedades químicas de suelo.**

La biorremediación del suelo, consiste en la evaluación de los métodos de la bioestimulación y la bioaumentación para mejorar las propiedades químicas del suelo contaminado con hidrocarburo.

- **Biorremediación de propiedades microbiológicas de suelo.**

La biorremediación del suelo, consiste en la evaluación de los métodos de la bioestimulación y la bioaumentación para mejorar las propiedades microbiológicas del suelo contaminado por hidrocarburo.

- **Degradación de hidrocarburos totales de petróleo**

La biorremediación del suelo, consiste en la evaluación de los métodos de bioestimulación y bioaumentación en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, del suelo contaminado con hidrocarburos.

Las variables operacionalizadas, se muestra en la tabla siguiente:

Tabla 1 — Operacionalización de las variables

VARIABLES	INDICADORES	ÍNDICES
<u>Variables Independientes</u>		
Bioestimulación	Dosis de turba con adición de bioestimulante.	Nivel 1 = 5 kg de urea. Nivel 2 = 10 kg de urea. Nivel 3 = 15kg de urea
Bioaumentación	Dosis de turba con adición de microorganismos eficientes.	Nivel 1 = 5Lt EM-A.(*) Nivel 2 = 10Lt EM-A (*) Nivel 3 = 15Lt. EM-A (*)
Variable Dependiente Biorremediación de propiedades físicas de suelo.	- Textura - Humedad - Porosidad - Densidad aparente	- Clase textural - % - % - g/cc
Biorremediación de propiedades químicas de suelo.	- pH - CIC - Nitrógeno - Fósforo - Potasio	- Acides y alcalinidad - meq/100 g - % - ppm - ppm
Biorremediación de propiedades microbiológicas de suelo.	- Bacterias - Hongos	- Ufc/gr - Ufc/gr
Degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo.	- TPH	- mg/kg de suelo

(*) Los EM-A, son microorganismos como bacterias ácido lácticas ($> 6.0 \times 10^5$ UFC/ml, bacterias fototróficas $> 4.0 \times 10^5$ UFC/ml y levaduras $> 3.0 \times 10^4$ UFC/ml, están descritas con mayor detalle en la tabla 17.



CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

3.1 Antecedentes

- a) **Quispe, (2020)**, en el estudio “**Determinación de los Tiempos de la Biodegradación del Hidrocarburo (Diésel B5) a Diferentes Concentraciones en Biorreactores de Polietileno con un Inóculo de Bacterias Nativas de Suelo Contaminado con Hidrocarburos**”, realizado en la Escuela de Biología de la UNSA- Arequipa, tuvo como objetivo determinar los tiempos de la biodegradación de Diésel B5 a diferentes concentraciones en biorreactores de polietileno con un inóculo de bacterias nativas de suelo contaminado con hidrocarburos. La metodología que utilizó estuvo basado en el proceso de biodegradación del Diésel B5 en biorreactores de polietileno, con un inóculo de una concentración de 2.6×10^8 UFC/ml, el cual es adicionado a los biorreactores en un 10% del volumen total del medio; evaluó los cuatro tratamientos: T1 (control) con 10% de Diésel B5 sin inóculo, T2 con 10% de Diésel B5 con inóculo, T3 con 20% de Diésel B5 con inóculo y T4 con 30% de Diésel B5 con inóculo; cada biorreactor fue conectado a una bomba expulsora de aire con un flujo de 3L/min. Se monitoreó los parámetros como: Ramnolípidos, altura del Hidrocarburo en el biorreactor, pH, Conductividad Eléctrica; y para la obtención de resultados respuesta se evaluaron los parámetros de Hidrocarburos totales de petróleo (TPH) en la biodegradación del diésel, peso del Diésel B5 durante el experimento y la curva de crecimiento de bacterias para la evaluación de sus fases; al finalizar el proceso de biodegradación, se extrajo una muestra de 5 ml de cada biorreactor y se realizaron cultivos, aislamientos bacterianos y tinción de Gram para demostrar la existencia del consorcio de bacterias biodegradadoras del Diésel B5. Se alcanzó un porcentaje de 47.92% de biodegradación del diésel B5 en el T2 (10% de Diésel) en un tiempo de 21 días de tratamiento, un porcentaje de 50.83% de biodegradación del diésel en el T3 (20% de Diésel), en un tiempo de 28 días de tratamiento y un porcentaje de 43.04% de biodegradación del diésel en el T4 (30% de Diésel) en un tiempo de 36 días de tratamiento.
- b) **Loroña, Gómez, Jaco, Reynaga, Guiño, Gamarra, Díaz, Huamán, Rafael, Mayte, Moran y Carhuancho (2019)**, en el estudio “**Eficiencia de la biorremediación de**

suelos contaminados con Diesel B5 mediante Microorganismo Eficaces (EM)”, que tuvo el objetivo evaluar la eficiencia de la biorremediación mediante la aplicación de los microorganismos eficaces (EM) en cuatro tipos de usos de suelo contaminados con Diésel B5, de origen agrícola, costero, urbano y ribereño. La metodología utilizada radicó, en activar los Microorganismo (EM) durante nueve días para luego aplicarlo al suelo contaminado. Se aplicó por aspersion un litro por semana de Microorganismos EM activados sobre el área afectada durante 28 días en los cuatro tipos de usos de suelo. Los resultados determinan la eficiencia de la biorremediación en los cuatro tipos de usos de suelo; obteniendo para el suelo de uso urbano una eficiencia del 41.60 % con una disminución de 51 221 mg/kg a 29 911 mg/kg de HTP; para el suelo de uso agrícola, una eficiencia de biorremediación del 40.06 % con una disminución de 35 674 mg/kg a 21 383 mg/kg de HTP; para el suelo de uso ribereño una eficiencia de 35.05 % con una disminución de 7 604 mg/kg a 4 939 mg/kg de HTP y finalmente el suelo de uso costero una eficiencia de 15.29 % con una disminución de 12 973 mg/kg a 10 989 mg/kg de HTP. Seguidamente se obtuvo resultados de la Densidad Aparente (D.A), en los cuatro tipos de suelos, para suelo urbano tiene 1.48 D.A. con de eficiencia de 41.60%; suelo agrícola 1.48 D.A. con eficiencia de 40.06%, suelo ribereño 1.50 D.A. con eficiencia de 35.05%, suelo costero 1.55 D.A. con eficiencia de 15.29%; Asimismo se obtuvo resultados de pH en la última fecha de evaluación (04-nov), suelo Costero con valores de pH 7.15, suelo Agrícola con valores de pH 7.55, suelo Urbano con valores de pH 8.57 y suelo Ribereño pH 6.18.

- c) **Méndez (2016)** en el estudio “**Análisis del microbiota de los suelos impactados y no impactados por minería metálica en República Dominicana**”, que tiene como objetivos; i) determinar si la actividad minera influye en la cantidad de microorganismos del suelo, ii) determinar si existen diferencias en la cantidad de microorganismos entre los suelos impactados y no impactos por las minas e iii) identificar a nivel de género los hongos y nemátodos de ambos tipos de suelos. Se realizó una prueba T-Student, para determinar si existió diferencias significativas en la cantidad de microorganismos evaluados. En la mina Cerro Maimón CM existió diferencias significativas en la cantidad de nemátodos ($P < 0.05$) y en la mina Falconbridge (FB) hubo diferencias significativas en la cantidad de bacterias y nemátodos con un valor ($P < 0.05$). Tenemos los resultados en la mina Cerro Maimón (CM) el recuento promedio de bacterias en suelos no impactados e impactados fue de $1,650 \times 10^3$ y 750×10^3 UFC respectivamente. Los actinomicetos presentan recuentos promedios de 580×10^3 y 295×10^3 UFC. Los



hongos presentan recuentos en promedio de 7.1×10^3 y 4.9×10^3 UFC. Los nemátodos 27 individuos en suelos no impactado y 2 en suelos impactados, seguidamente los resultados de la mina Falconbridge (FB) se obtuvo recuentos promedios de bacterias en los suelos no impactados e impactados de $4,731 \times 10^3$ y $2,879 \times 10^3$ UFC respectivamente. El recuento promedio de actinomicetos fue de 540×10^3 y 284.2×10^3 UFC. Los hongos presentaron recuentos promedio de 3.9×10^3 y 3.7×10^3 UFC. El conteo de número de individuos de nemátodos fue de 49 en suelos no impactados y 3 en impactados. En promedio ambas minas muestran menos cantidad de microorganismos en los suelos impactados que en los suelos no impactados. El hongo con mayor presencia fue *Aspergillus sp.* en ambos suelos (impactado y no impactado) y el nemátodo con más presencia fue *Rhabditida* también en ambos suelos. Concluimos, que la actividad minera metálica impacta sobre las cantidades de microorganismos del suelo y que en promedio los recuentos de los microorganismos evaluados son mayores en los suelos no impactados por la minería.

- d) **Medina, García y Paricaguán, (2014)**, en el estudio **“Biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos en suelos contaminados provenientes de la bahía de Amuay del Estado Falcón”**; tuvo como objetivo estudiar la biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos en suelos contaminados provenientes de la bahía de Amuay del Estado Falcón. Se tomo muestras en un área contaminada por un derrame de crudo y se colocaron en biorreactores con aporte de los nutrientes necesarios para el desarrollo de los microorganismos. En los suelos contaminados se aislaron e identificaron tres especies autóctonas de hongos del género *Aspergillus*, como los: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus*. La concentración de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) fue determinado por gravimetría, y para un tiempo de 30 días de tratamiento ex situ se obtuvo un valor de remoción de un 85 % con una variación de ± 1660 a 1662 UFC/g de suelo. Seguidamente se obtuvo los resultados de las muestras de suelo analizadas poseen una textura franco arenoso con 5,18 % de partículas finas (limo y arcilla), y con 94,82 % de arena. Se corrobora la capacidad degradadora de estos microorganismos y su potencial para ser usados en procesos de biorremediación de suelos contaminados con petróleo.
- e) **Fernández, Labrador, Medina, Mendoza, Aponte y Izzeddin (2012)**, en el estudio **“Biodegradación de compuestos recalcitrantes procedentes de un crudo extrapesado aplicando técnicas de biorremediación”**, que tiene como objetivo la

evaluación del proceso de biorremediación de asfalteno extraído de un crudo extrapesado Ayacucho de un ripio de perforación, el cual se encuentra ubicado en la Faja Petrolífera del Orinoco (FPO) en el sector Carabobo, al cual se le aplico dos tipos de tratamiento para disminuir la cantidad de asfaltenos presentes: uno a partir de un cultivo de microorganismos degradadores de cepas aisladas de petróleo extrapesado capaces de degradar asfalteno (tratamiento A), y otro utilizando ejemplares de *Eisenia foétida* (tratamiento B), monitoreado durante 49 días por medio de crecimiento bacteriano, gravimetría, resonancia magnética de carbono trece y análisis de varianza, estableciendo las comparaciones de medias mediante la prueba de Tukey y Dunnett. El crecimiento microbiano al final del monitoreo alcanzó un máximo de $1,90 \times 10^6$ UFC/g para el tratamiento A con una remoción de un 56% y $2,90 \times 10^5$ UFC/g para el tratamiento B con un 92% encontrándose diferencia significativa entre los tratamientos y el control.

- f) **Bermúdez (2012)** en el estudio “**Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a partir del uso de un consorcio bacteriano alóctono en la zona costera de Punta Majagua. Cienfuegos, Cuba**”. Realizo el saneamiento ambiental de la zona costera contaminada con hidrocarburos, ubicada en la porción centro-norte de la Bahía de Cienfuegos, Cuba. El tratamiento de los residuos petrolizados se realizó mediante la bioaumentación con el uso del consorcio bacteriano BIOIL-FC, aplicándose un diseño DBCA con un factor categórico. Se diseñó un área de biorremediación de 115m x 75m donde posteriormente se dispusieron 479 m³ de residual mezclado con tierra fértil en proporción 1/3. Se aplicaron 76,640Lt de BIOIL-FC, producidos en un biorreactor de 12,000Lt utilizando para su producción industrial un cultivo semicontinuo con adiciones y extracciones de 7,000L cada 4 horas, hasta lograr el volumen final de producción. Se monitoreo las variables microbiológicas, físico-químicas y ecotoxicológicas antes del tratamiento y a los 45, 90 y 120 días posteriores a la aplicación del bioproducto. Las poblaciones de bacterias degradadoras se incrementaron durante el proceso de biorremediación (10^6 cel·mL⁻¹), llegando a predominar en el total de las poblaciones de heterótrofas totales. Niveles que disminuyeron significativamente al final del proceso (10^5 cel·mL⁻¹), relacionado con una reducción significativa de las concentraciones de Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP). Del cual se obtuvieron remociones superiores al 90% con una velocidad media de degradación de $245,0 \pm 35,7 \text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$. Para las fracciones fundamentales del petróleo (SARA) se obtuvieron remociones superiores al 70%, con una velocidad media



de degradación entre $107,8 \pm 11,8$ y $233,7 \pm 86,6 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$. Se obtuvieron niveles de HTP y SARA inferiores a los límites máximos permisibles establecidos por la norma SEMARNAT, (2003).

- g) **Ñustez (2012)**, en el estudio **“Biorremediación para la Degradación de Hidrocarburos Totales presentes en los Sedimentos de una Estación de Servicio de Combustible”**, evaluó las dos estrategias de biorremediación, bioaumentación y bioestimulación de sedimentos contaminados con hidrocarburos de la estación de servicio de Combustible Integra de Dosquebradas – Risaralda – Colombia”. Con la estrategia de bioaumentación se adicionaron a los sedimentos, microorganismos adaptados a hidrocarburos, los cuales fueron incorporados con un suelo que fue contaminado anteriormente por un derrame de combustible, para la estrategia de bioestimulación, a los sedimentos contaminados, se les adicionó un nutriente (Urea), se les agregó agua y se realizó un volteo manual, beneficiando el desarrollo y crecimiento de los microorganismos degradadores. Se utilizó ocho (8) mesocosmos, compuestos por canastas de polietileno de alta densidad (57x37x15 cm). La duración del experimento fue de veintitrés (23) semanas. Se realizó el seguimiento y control, con mediciones de Humedad que tienen valores 23.1% a 25.00% con la estrategia de bioestimulación y valores 20.30% a 24.9% con la estrategia de bioaumentación. pH, varía en valores de pH 7.02 a pH 7.39 con la estrategia de bioestimulación y valores de pH 6.89 a 7.8 con la estrategia de bioaumentación. Nitrógeno con valores de 0.03% a 0.06 % con la estrategia de bioestimulación y valores de 0.04% a 0.06% con la estrategia de bioaumentación. Fosforo con valores de 22.00 ppm a 45.86 ppm con la estrategia de bioestimulación y valores de 17.76 ppm a 30.39 ppm con la estrategia de bioaumentación. Potasio con valores de 0.15 meq/100 gr a 0.19 meq/100g con la estrategia de bioestimulación y valores 0.12 meq/100g a 0.24 meq/100g con la estrategia de bioaumentación. Los mesocosmos presentaron tasas de degradación en relación a las estrategias de bioestimulación y bioaumentación, para el tratamiento de sedimentos generados en la estación de servicio de combustible, presentaron reducciones promedio de hidrocarburos totales de petróleo de 16391,18 mg/Kg de suelo seco y 15601,44 mg/Kg de suelo seco respectivamente, valores que cubren un gran porcentaje de los valores totales degradados. Las dos estrategias de biorremediación, la bioestimulación y bioaumentación, no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).



- h) **Arrieta, Rivera, Arias, Rojano, Ruiz, y Cardona (2012)** en el estudio “**Biorremediación de un suelo con Diesel Mediante el uso de microorganismos autóctonos**”, En el estudio, se aisló y caracterizó bioquímica y molecularmente un consorcio bacteriano capaz de degradar los diferentes hidrocarburos presentes en un combustible diésel, conformado por los siguientes géneros: *Enterobacter sp*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus aureus*, *Sanguibacter soli*, *Arthrobacter sp* y *Flavobacterium sp*, a partir de un suelo contaminado con diésel a escala de laboratorio, y tratado mediante 2 tecnologías de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Se tomo como parámetro de control la concentración de Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP) y para el cual, se obtuvo una reducción en la concentración en un periodo de 4 meses de 36,86% para atenuación natural y 50,99% para bioestimulación. La medición de la eficiencia de remoción de hidrocarburos se cuantificó por cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS). Asimismo, hubo cambios en las características físicas y químicas del suelo después de los tratamientos, con respecto al pH, mostro modificaciones de valores antes del tratamiento: pH de 5.5 y después del tratamiento pH 7.7 a 8.3; densidad aparente 1,5 gr/cm³ y porosidad 44.36%, no muestra análisis de variaciones; variación de P valores de 40 a valores de 117 mg/kg, variación de K de 0.27, 0.28 y 0.29 mg/kg, variaciones de la CIC 18.7, 18.2 y 14.00 meq/100gr. variaciones de N-NO 9, 5 y 6 mg/kg
- i) **Ortiz; Núñez; Fonseca; Oramas; Almazán; Cabranes; Miranda; Barbán, Martínez; Díaz; y Borges. (2005)**. En el estudio “**Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos**”. A partir del aislamiento, selección y conservación de bacterias marinas degradadoras de hidrocarburos y productoras de sustancias tensioactivas se formuló un producto denominado BIOIL-FC. Este producto ha sido aplicado satisfactoriamente en derrames de hidrocarburos en el mar. En el presente trabajo fue evaluado la factibilidad del uso de los procesos de biorremediación “ex situ” en parcelas de suelos contaminados con 10% de diferentes hidrocarburos (fuel oil, gasolina de 85% y de 96% de octanaje), utilizando técnicas de bioestimulación con nitrógeno y fósforo inorgánico y de bioaumentación con el producto BIOIL-FC. Se tomaron muestras integradas cada siete días para determinar la concentración de bacterias heterótrofas, biodegradadoras de petróleo, índice de respirometría y concentración de hidrocarburos totales. En cada variante se incrementaron significativamente los microorganismos degradadores de petróleo que utilizan estos compuestos como fuente de carbono y energía. Sin embargo, mediante la determinación



de los hidrocarburos totales y producción de CO₂ se demostró una mayor eficiencia en la oxidación de los hidrocarburos con la aplicación de BIOIL-FC con respecto a la bioestimulación tradicional, lográndose un 50% y 61% de remoción del fuel oil y gasolina de 85% de octanaje respectivamente en 28 días, mientras que para gasolina de 96 % se alcanzó un 98% de remoción en solo 15 días. Estos resultados evidencian las potencialidades de este bioproducto para el saneamiento de ambientes terrestres impactados con petróleo y sus derivados.

- j) **Plaza, Otero, Torres, Velásquez, Corbalán y Rodríguez (2001)**, en el estudio “**Biorremediación en Suelos Contaminados con Hidrocarburos**”. Realizan con el interés de disminuir el efecto contaminante de hidrocarburos a niveles no tóxicos. Los ensayos a escala laboratorio, desarrollados en condiciones de temperatura, aireación y humedad controlada permiten evaluar alternativas de utilización de nutrientes, inoculación de bacterias y/o aprovechamiento de la microflora natural del suelo. Los resultados muestran la activación de la microflora natural por la utilización de nutrientes en proporción adecuada, obteniéndose remociones de hidrocarburo de 70 % en 55 días de proceso. Asimismo, se analiza la efectividad del proceso de biorremediación cuando se utiliza suelo recuperado. Así, la utilización de suelo virgen puede limitarse al mínimo evitando desmontes innecesarios para su provisión.

3.2 Marco teórico

3.2.1 Los hidrocarburos

Escalante, (2000). El hidrocarburo es un compuesto orgánico formado por átomos de carbono e hidrogeno. La estructura molecular se basa en una armadura de átomos de carbono al que se une los átomos de hidrogeno. El hidrocarburo es un compuesto básico de la química orgánica. La cadena de átomos de carbono puede ser lineal, ramificada, abierta y cerrada.

Escalante, (2000). Los hidrocarburos de petróleo crudo y su producto refinado pueden dividirse en 4 grupos: hidrocarburo alifático, hidrocarburo cíclico, hidrocarburo aromático y compuesto orgánico polar.

Escalante, (2000). El hidrocarburo alifático o de cadenas abiertas se dividen a su vez en 3 grupos, en servicio de los enlaces entre 2 átomos de carbono: alcano (enlaces simples), alquenos (enlaces dobles) y alquinos (enlaces triples). El compuesto

alifático más común es el alcano, el cual puede ser encontrado en el petróleo crudo formando una cadena de 5 a más de 35 átomos de carbono.

El hidrocarburo cíclico es además un componente común del petróleo y puede poseer una estructura monocíclica, bicíclica o de más anillos. El hidrocarburo, aromático incluye un compuesto mono aromático como el benceno y el tolueno, y un compuesto poliaromático como el pireno (Escalante, 2000).

En este equipo se encuentra el hidrocarburo aromático policíclico (HAP), molécula formada por un múltiple anillo aromático que representa entre el 0,2 al 7% del petróleo crudo. Los HAP disponen limitadas solubilidades en agua, se absorbe muy fuerte al suelo y se degrada a una velocidad menor que el hidrocarburo mono aromático (Escalante, 2000).

Preciso a esta propiedad es enormemente tóxico y considerado como un compuesto mutagénico y cancerígeno. Las fracciones polares del petróleo crudo están constituidas por un compuesto que contiene un átomo polar de sulfuro, oxígeno y nitrógeno (Escalante, 2000).

Con relación a otro componente del petróleo, estas fracciones no son tan representativas y en la situación del nitrógeno su concentración es menor al 1%. También del compuesto mencionado, el petróleo logra que se contenga una concentración variable de metal pesado tal como arsénico, mercurio, níquel, hierro, plomo y zinc (Escalante, 2000).

Morgan 1989 citado por Ocampo; Robles; Wu. 2002. Indica que cuando el hidrocarburo ingresa al suelo por las filtraciones o derrames de los tanques de almacén de petróleo o de un oleoducto, acontecen diversos sucesos que inciden en el destino de este compuesto en el suelo.

El hidrocarburo puede extenderse lateralmente en la superficie del suelo o puede penetrarse de forma vertical por resultado de la fuerza de gravedad y la capilaridad. (Morgan 1989 citado por Ocampo; Robles; Wu. 2002)



En uno de los primeros casos se favorecen las volatilizaciones del componente de disminuido peso molecular ya que se incrementan las áreas contaminadas y la foto oxidación del hidrocarburo a un compuesto polar más tóxico. En un segundo caso, a mayor profundidad (lixiviación) se reducen las disponibilidades del oxígeno para la biodegradación y se incrementan el peligro de que se contamine las napas freáticas (Morgan 1989 citado por Ocampo; Robles; Wu. 2002)

La mayor parte de los hidrocarburos tienen desplazamientos verticales en el suelo, a excepto de aquel en el que la condición climática favorece su saturación con agua o su congelamiento (Morgan 1989 citado por Ocampo; Robles; Wu. 2002)

Dentro del compuesto peligroso más común involucrado en emergencia ambiental, se encuentra el petróleo y sus derivados (gasolina, combustóleo, diésel), agroquímico, gas licuado de petróleo y natural, entre otros. (Morgan 1989 citado por Ocampo; Robles; Wu. 2002)

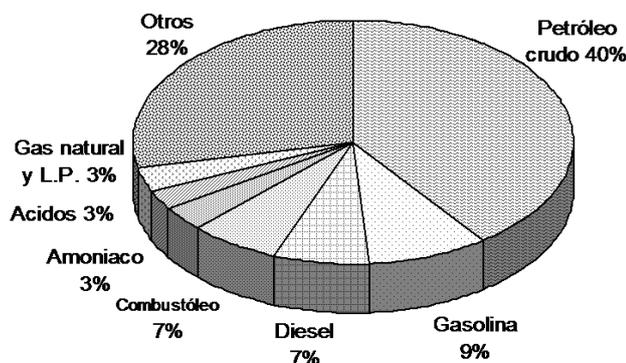


Figura 1— Principales derivados del petróleo y su distribución

Extraído de Ocampo *et al.* 2002

Existen sustancias como los a) foranos, b) hexaclorobenceno, c) bifenilos, d) policlorados (BPCs), e) plaguicidas organoclorados, f) mercurio, g) plomo, h) cromo, i) cadmio, j) compuesto tóxico atmosférico e hidrocarburo poliarmático (HAPs.) (Ocampo *et al.* 2002)

a) Generalidades

La contaminación por hidrocarburo es dudosa de índole en todo el mundo y amplias distribuciones geográficas, manteniendo en consideración que independientemente del área estudiada (lago, suelo, zona freática, río y



playa) por un proceso biológico y físico, el hidrocarburo tiene como último destino el océano. (Ponce, 2014).

En la actualidad hay un aumento interés por la contaminación de los suelos con hidrocarburo, por parte cada país que se dedica a la explotación de petróleo, organización e institución afine al medio ambiente, preciso al riesgo directo que ocasiona a la salud de los seres humanos y de su entorno, también al elevado costo que implica el proceso de aseo y mitigación del lugar afectado (Ponce, 2014).

El antecedente descrito está orientado a su política a la disminución y las remediaciones de la contaminación por hidrocarburo (Ponce, 2014).

Un suelo contaminado se especifica como todo aquello cuya característica física, química y biológica natural, han estado alterada debido a su actividad antropogénica y representan un peligro para la salud de los seres humanos y el medio ambiente. (Cando 2011, citado en Ponce 2014).

Según, Cando 2011, citado en Ponce 2014. La contaminación de suelo por hidrocarburo es activa, el componente individual puede alejarse de las mezclas originales como se detallan a continuación:

- El Compuesto Orgánico Volátil (COVs) se evapora.
- Algunos se solubilizan gracias a la polaridad de sus moléculas.
- Otros se succionan en la superficie de las fases sólidas del suelo por una reacción química o debido a una fuerza física, (siendo la primera la que fija los contaminantes, limitan los transportes y disminuyen las biodisponibilidades para el microorganismo).
- Mientras otros son degradados por el microorganismo en el suelo.

Tabla 2 — Actividades industriales que contaminan el suelo con hidrocarburos.

Tipo de Industria	Contaminantes del suelo (Los más principales)
Industria petrolera	Hidrocarburos aromáticos y alifáticos.
Minería	Hidrocarburos aromáticos, metales pesados, cianuro.
Industria textil	Hidrocarburos y metales pesados.
Estaciones de servicio	Hidrocarburos y derivados del petróleo.
Centrales termoeléctricas	Hidrocarburos, derivados del petróleo y metales pesados.
Lavadoras de vehículos	Hidrocarburos.
Mecánicas automotrices	Hidrocarburos, aceites.
Industria agropecuaria	Hidrocarburos, pesticidas, plaguicidas.
Floricultura	Pesticidas, plaguicidas e hidrocarburos.
Fábrica de gas	Alquitrán, benceno fenoles, hidrocarburos aromáticos policíclicos, cianuros.

Extraído de Ponce 2014.

b) Hidrocarburos en el suelo

(Van Deuren, *et al* 1997). Menciona que la conducta del contaminante orgánico existe en servicio de su característica física y química como la consistencia, polaridad, entre otras.

También, la característica de los medios, como las unidades del suelo, permeabilidades, estructuras, volumen de la partícula, contenidos de la humedad y de la materia orgánica, así como lo profundo de los mantos-freáticos, factor climatológico como la temperatura y las precipitaciones pluviales además tiene grandes influencias (Van Deuren, *et al* 1997).

Toda la variable en grupo define el volumen y las distribuciones tridimensionales del frente de contaminación en zonas específicas. En la tabla 3. Se indica algún parámetro de los compuestos químicos, suelo y ambiente que influye en el transporte mediante el suelo. (Van Deuren, *et al* 1997).

El compuesto orgánico ligero como la gasolina, aceite y petróleo crudo tienden a que se formen capas en estructuras de natas en los niveles freáticos



y se muevan de forma horizontal que va directo a los flujos del agua subterránea. (Van Deuren, *et al* 1997).

El compuesto denso, migra a la base de los acuíferos originando columnas mediante las cuales se logran mover en dirección de los flujos de agua subterránea contaminando de esa manera los acuíferos en toda su profundidad. (Van Deuren, *et al* 1997).

La presencia de la contaminación en los suelos se han estado conceptualizando mediante una observación indirecta que indica el almacenamiento del contaminante orgánico en agrupación con un adsorbente natural estableciendo el siguiente proceso: absorción de la materia orgánica en forma, amorfa o natural o en líquidos de la fase no acuosa (LFNA), condensada o en polímeros o residuos de combustión, adsorción en superficies minerales (cuarzo), adsorción a una superficie orgánica húmeda (hollí) y asimilación dentro del microporos o en minerales (zeolitas). (Van Deuren, *et al* 1997).

Tabla 3 — Variables influyentes en el transporte de contaminantes en el suelo.

Variable del contaminante	Variable del suelo	Variables ambientales
Solubilidad	Contenido y retención de agua	Temperatura
Presión de vapor	Porosidad, densidad y permeabilidad	Precipitación
Número y tipo de grupos funcionales	Contenido de arcilla	Evapotranspiración
Polaridad	Contenido de materia orgánica	
Profundidad de agua subterránea.		

Extraído y adoptado de Van Deuren *et al* 1997.

Van Deuren *et al* 1997, Concluyo que la propiedad física del suelo que está más afectada por derrames o contaminación de hidrocarburo es:

- La estructura del suelo se debe a las rupturas del agregado.
- Incremento de las retenciones del agua en la capa superficial.



- Los potenciales hídricos

Van Deuren *et al* 1997, menciona que la propiedad química del suelo más afectada por el derramamiento del hidrocarburo es:

- Incremento de carbono orgánico, en razón que el 75 % del carbono del petróleo crudo es oxidable.
- Disminución del pH, que se debe al almacenamiento del carbono orgánico y reproducción del ácido orgánico.
- Incremento de los elementos como el manganeso y hierro intercambiable.
- Incremento del fósforo que está libre

Van Deuren *et al* 1997, considera que el efecto tóxico de hidrocarburo en los ambientes necesita de:

- Las cantidades y composiciones del petróleo.
- Las frecuencias y los tiempos de exposición
- Los estados físicos del derrame.
- La característica de los sitios en los que sucede el derrame.
- Variable ambiental como la temperatura, humedad y oxígeno.
- El empleo de un dispersante químico (está restringido su utilización).
- La sensibilidad de la biota característica del medio ambiente impactado

Van Deuren *et al* 1997. Manifiesta que el petróleo ensucia al suelo por su apariencia y su estada en él. Esto además requiere de los tipos de suelos los cuales son productos de sus composiciones y texturas (tamaño de la partícula que lo forma) ya que, de acuerdo con la característica del suelo, el petróleo se adhiera o penetre con mayor o menor intensidad y luego que permanezca con mayor o menor duración en ese lugar.

Van Deuren *et al* 1997, por lo común se afirma que:

- En suelo arenoso (suelo de granos gruesos); el petróleo ingresa muy rápido, en cantidades superiores y a una superior profundidad (llegando a la capa freática).

- En suelo arcilloso o rocoso (suelo de granos finos); el petróleo no ingresa tan fácil, ingresa en cantidades limitadas y a una profundidad limitada y por tanto se retira a través del recojo o lavado de forma veloz, por ejemplo, la playa arcillosa de la selva.
- En suelo con elevado contenido de sustancias orgánicas el petróleo se fija muy fuerte a la partícula y residuo vegetal de tal forma que esta por más tiempo en los ambientes, por ejemplo, en el suelo de manglares y pantanos.

c) Impacto de los hidrocarburos en el suelo.

El suelo, como cuerpo natural, es parte integral de la escena en el que ocurre el ciclo biogeoquímico, hidrológico y de la cadena alimentaria. También, es la zona en el que se realiza una actividad agrícola y ganadera, y es el fundamento para la instalación de áreas verdes. El suelo es un medio natural difícil, activo y su igualdad depende de las interacciones entre su propiedad física, química y biológica. (Escalante, 2000).

Los factores que impactan la repartición del hidrocarburo en el suelo son primeramente el volumen del derramamiento, la densidad del petróleo a la temperatura sobresaliente en el ambiente y la formación del suelo. (Escalante, 2000).

El compuesto de elevada densidad como el crudo pesado tiende a que se mueva de forma horizontal, mientras que la gasolina y aceites de baja densidad penetra de forma fácil en el suelo. (Escalante, 2000).

El pase del hidrocarburo por medio de la matriz del suelo (lixiviación) requiere a su vez de las texturas del suelo y la solubilidad del hidrocarburo en agua. En suelos arcillosos la migración de una partícula es más veloz que en el suelo franco, dado que el primero tiene mayores porosidades (Morgan y Watkinson, 1989).

También, en el suelo muy arcilloso de la molécula polar puede ser adsorbida. Menor del 5% del compuesto del crudo o producto refinado



(primeramente, aromático de disminuido peso molecular e hidrocarburo polar) es soluble en agua. (Escalante, 2000).

Después, la mayoría de los hidrocarburos quedan retenidas en el suelo. Las actividades microbianas transforman al hidrocarburo en un metabolito más soluble y de modo que es más móvil en el suelo, beneficiando su solubilización y lixiviación. (Escalante, 2000).

La entrada del hidrocarburo al suelo tiende a que se produzcan efectos de hidrofobicidad, lo que resulta en el descenso de las tasas de infiltraciones. (Martínez y López, 2001).

El hidrocarburo se acumula en los poros que se producen mediante la partícula de los suelos elaborándose un descuento en las disponibilidades del oxígeno y las permeabilidades. Informa en el cambio en las texturas de suelos arcillosos a migajón arcilloso, a una concentración de 150 mil ppm de combustóleo, por un incremento valioso de la arena y descenso de la arcilla, notando también el incremento importante en la densidad de las materias orgánicas a la elevada densidad de gasolina y combustóleo. (Martínez y López, 2001).

El aumento de estos parámetros se debe fundamentalmente a la disposición de los materiales patogénicos recalcitrantes, como se pueden estar representando peligros ecotóxicos. Para el parámetro pH, conductividades eléctricas y consistencia aparente el mismo autor no comunica la variación significativa para el suelo arcilloso contaminado con diferente concentración de diésel, combustóleo y gasolina. (Martínez y López, 2001).

d) Los hidrocarburos y su impacto en las plantas.

Chayneau, Morel y Oudot (1996). Establece que la mayor parte del hidrocarburo de petróleo es considerado un compuesto tóxico. El efecto de este compuesto sobre las plantas es en la mayor parte del caso subletal, es decir que no se manifiesta mediante la mortalidad, sino de formas indirectas cambiando el desarrollo, la generación y la fotosíntesis.



El efecto adverso acerca del progreso de las plantas varía en servicio de las estructuras químicas de los hidrocarburos, su densidad en el suelo y la clase de planta. (Chayneau, Morel y Oudot, 1996).

La toxicidad disminuye en el siguiente orden: compuesto aromático, naftaleno, olefina y cadena no ramificada parafínica. Alta concentración de hidrocarburo limita y/o altera la reproducción de la semilla y el desarrollo de las plantas. (Chayneau, Morel y Oudot, 1996).

Se informa la deducción de más del 80% en la biomasa seca de la zona aérea para 2 especies: cebada y frejol, apreciando también el síntoma de clorosis en las hojas y variación del progreso vegetativo. El impedimento del desarrollo fue superior al incremento de la densidad del contaminante. Chayneau et al. (1996).

e) Los hidrocarburos y su impacto en las semillas.

Los hidrocarburos de petróleo logran ingresar a la semilla y cambian la reacción metabólica y/o matar al embrión por toxicidad directa aguda. La inhibición de la germinación está asociada con la propiedad hidrofóbica del hidrocarburo, la cual evita o reduce el cambio de gases y agua que se requiere en esta etapa. (Chayneau et al., 1996)

La evaluación acerca de la fitotoxicidad del hidrocarburo señala que la reacción a la presencia de hidrocarburo a lo largo de las germinaciones varía de una especie y otra. Chayneau et al. (1996)

La resistencia de semillas de cierta especie vegetal al efecto del hidrocarburo indica la siguiente posición descendiente: en primer lugar, la semilla que resiste en su mayoría es el girasol, seguido por el frejol, trigo, trébol, maíz, cebada, lechuga. Además, expresa que la incidencia de infección por hongos aumenta según incrementa la cantidad o concentración del hidrocarburo. (Chayneau et al., 1996)



3.2.2 El suelo agrícola: parámetros y características.

El suelo compone las capas superficiales del manto terrestre y su interior es versátil. Está compuesto por una partícula mineral, organismo vivo, materia orgánica, agua y sal. (Eweis, 1998).

La mayor parte del componente proviene de las meteorizaciones de rocas, análisis de restos vegetales y actividad del microorganismo, conformando un recurso natural más importante del mundo. (Eweis, 1998).

El suelo es un recurso muy difícil, conformado, notablemente por 3 fases: sólida (50%), líquida y gaseosa. Estas 3 fases se pueden estar organizando de muy diversas maneras, obteniendo una diferente proporción para dar lugar a un centenar de tipos de suelos. (Eweis, 1998).

El suelo representa un ecosistema en el cual, en la actualidad, se logra descubrir grandes variedades de compuesto tóxico, entre el cual se incluye el hidrocarburo derivado de la actividad petrolera. (Eweis, 1998).

El suelo es parte de la naturaleza que forma el hábitat de una bacteria, hongo, levadura, virus y planta superior, entre otros, que sirven para la nutrición de los animales y de los seres humanos del ciclo trófico. (Eweis, 1998).

El suelo y el microorganismo mantiene el sistema ecológico, ya que le aporta un componente químico y mineral (como resultado de las biodegradaciones); y complejo orgánico como el ácido húmico y fúlvico, enzima, vitamina, hormona y antibiótico; también, alberga ricas reservas genéticas (Eweis, 1998).

Por el mayor valor que representan los suelos para que vivan los seres humanos y de todo ser vivo, estos recursos se deben mantener. En cambio, en la actualidad están gravemente amenazando por las prácticas del sistema de productividad inadecuada o mal aplicada, que también ha ido pronto el proceso de desgaste y desertificación de una zona grande (Eweis, 1998).

Para escoger la técnica conveniente es preciso que se consideren una serie de sucesos y un fenómeno fisicoquímico y microbiológico que ocurre en el suelo. (Eweis, 1998).



Por tal motivo, las evaluaciones o determinaciones de la propiedad física, química y microbiológica de los suelos contaminados contribuyen a la persecución de los procesos de remediación; también de ser beneficioso para que se tome una acción pertinente en el progreso de dicho proceso (Eweis, 1998).

El suelo compone recursos naturales que realiza una diferente función en las superficies de la Tierra, produciendo soportes mecánicos, así como un nutriente para el desarrollo de la planta y microorganismo. La matriz del suelo está conformada por 5 elementos fundamentales: minerales, aire, agua, materia orgánica y organismos vivos (Eweis, 1998).

El material mineral es el principal componente estructural y constituye a más del 50% de la densidad total del suelo. El aire y el agua a la vez invaden la densidad del espacio, y habitualmente conforma de 25% a 50% del volumen general. (Eweis, 1998).

Las proporciones relativas de aire/agua oscila de forma considerable con el argumento de humedad del suelo. La materia orgánica se apodera entre el 3% y 6% del volumen promedio, mientras que el organismo vivo constituye menos del 1% (Eweis, 1998).

Cada uno de estos factores precisan los tipos de suelo, que juntamente con la condición particular de sitios que de manera frecuente puede determinar la selección de los procesos de tratamientos en particular. (Van deuren, Wang y Ledbetter 1997).

Por otro lado, las posibilidades de que se utilice la tecnología de tratamientos, pueden excluirse con base en las clasificaciones del suelo u otra característica propia de éste (Van deuren, Wang y Ledbetter 1997).

Para satisfacer la necesidad de alimento, biomasa (energía), forraje, fibra entre otros productos que requiere el ser humano, es importante tener suelos saludables, asimismo con ello se garantiza los servicios ecosistémicos en las regiones del mundo, los mismos que son esenciales. (FAO, 2015)

Las funciones que brinda un suelo están regidas en gran parte por las propiedades físicas, químicas y biológicas que son esenciales en conjunto. Ya que es determinante un suelo sano para el funcionamiento del ciclo del agua, el ciclo del aire y de los nutrientes. (FAO, 2018)

Es importante conocer la información de los parámetros a tomar en cuenta en los suelos sobre todo para uso agrícola. Lo importante es que después de un análisis de suelos, nos permitirá tomar una decisión pertinente, para lo cual analizaremos los siguientes:

a) Textura del suelo

La proporción de elementos con relación al tamaño del suelo, está indicado a través de la textura del suelo, ya que gracias a ello podemos diferenciar entre suelos gruesos, finos, arcillosos entre otros. (Agroecología Tornos, 2018).

Los tres elementos que componen la textura del suelo: arcilla, limo y arena y según la proporción se pueden dividir en cuatro grandes grupos, como: los suelos arenosos, limosos, arcillosos y francos. Asimismo, también existen suelo con más una categoría, tomando como ejemplo suelos arcilloso-limoso. (Agroecología Tornos, 2018).

Una herramienta para determinar la textura de los suelos, es el triángulo de texturas, ya que según al contenido porcentual de los componentes de limo, arcilla y arena, se realiza la clasificación textural según su textura predominante.

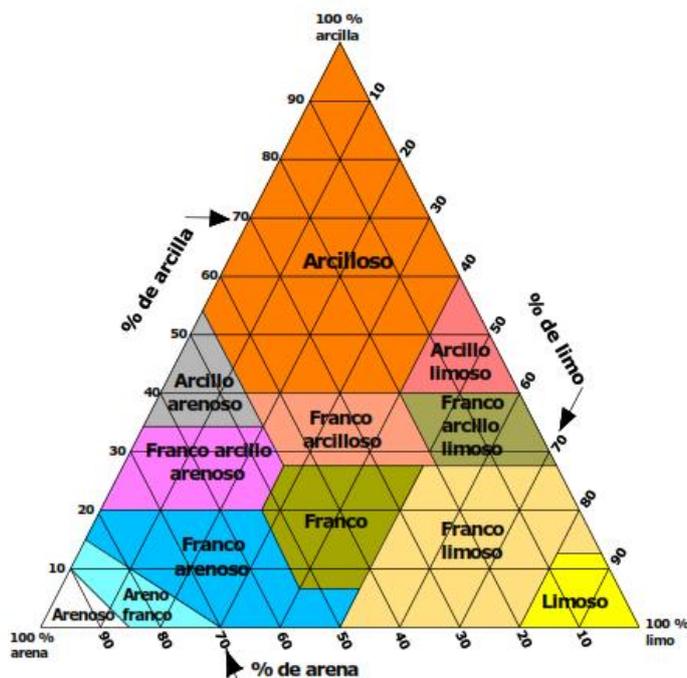


Figura 2—Triángulo Textural USDA

Extraído de Ciancaglini, (2017)

En función al análisis nuestros suelos, podemos tener

Tabla 4 — Elemento predominante en los tipos de suelos

Elemento predominante	Tipo de suelo
Gruesas	Arenoso y Arenoso Franco (Bajos contenidos de materia orgánica)
Moderadamente gruesa	Franco arenoso
Media	Franco, Franco limoso, Limoso
Fina	Franco arcilloso, Franco arcillo arenoso, Franco arcillo limoso, Arcillo limoso, Arcillo arenoso, Arcilloso
Muy fina	Mayor de 60% de Arcilla

Extraído de Medina, 2020

b) El pH del suelo

El potencial de hidrogeniones o concentraciones de hidrogeno conocido como pH, viene a ser un parámetro químico, que según la escala de resultados que va de cero (0) a catorce (14), indica si una materia o solución



es acida o básica. Por lo tanto, en el caso de los suelos, pH menores a 7 es ácido, pH cercanos a 7 es neutro y pH mayores a 7 es alcalino.

El potencial de hidrogeniones pH, tiene efectos en la disponibilidad de nutrientes y el desarrollo de los cultivos. Por lo que suelos con pH, al extremo no es fértil porque no admiten nutrientes necesarios para las plantas, estos suelos no son recomendables para la siembra de plantas. (Agroecología Tornos, 2018).

Tabla 5 — Reacción del suelo con relación al pH.

pH	Características	Consideraciones
<4.5	Extremadamente ácido	Problemas importantes: deficiencia de P, toxicidad de Al, pocas bases cambiables
5.0	Muy fuertemente ácido	
5.5	Fuertemente ácido	
6.0	Moderadamente ácido	
6.5	Ligeramente ácido	
7.0 - 7.3	Neutro	
7.8	Ligeramente alcalino	
8.4	Alcalino	Problemas importantes: propiedades físicas inadecuadas, deficiencias de micronutrientes
9.0	Fuertemente alcalino	
> 9.0	Muy fuertemente alcalino (salino)	

Extraído Medina, 2020

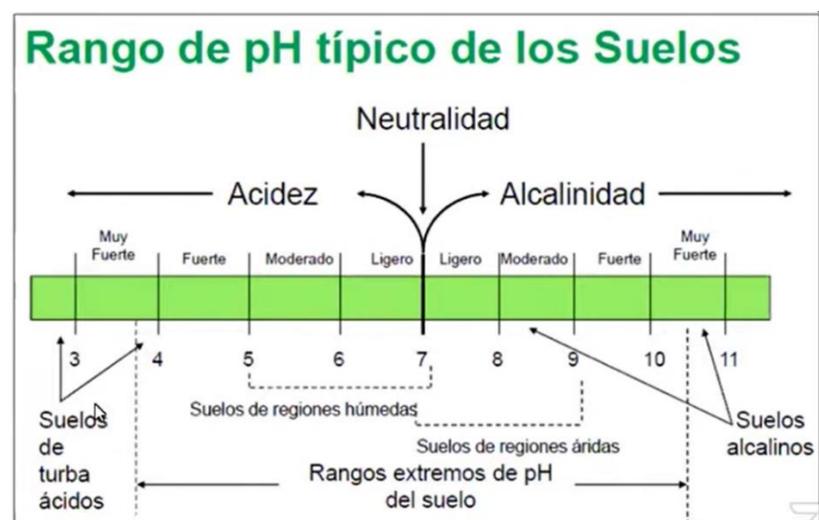


Figura 3—Rango de pH, típico de los suelos

Extraído de Medina, 2020

c) Materia orgánica

Una característica de un suelo productivo, es aquel que tienen materia orgánica, con un color oscuro, ya que el color oscuro permite identificarlo de manera rápida, que contiene materia orgánica. (Agroecología Tornos, 2018).

La materia orgánica afecta a muchas propiedades del suelo y aumenta la actividad biológica. Ayuda a tener disponibles los nutrientes del suelo para la planta, mantiene el pH del suelo estable y disminuye el riesgo de erosión. (Agroecología Tornos, 2018).

La materia orgánica, es un componente que influye en muchas propiedades de los suelos, al incrementar la actividad biológica. La materia orgánica cumple funciones como ayudar a que los nutrientes estén disponibles para la planta, así como ayuda a mantener un pH estable, y evita la erosión. (Agroecología Tornos, 2018).

Tabla 6 — Niveles de materia orgánica en suelos

Contenido de MO (%)	Nivel
< 2.0	Pobre
2.0 a 4.0	Medio
> 4.0	Bueno

Extraído de Medina, 2020

d) La Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

La Capacidad de intercambio catiónico (CIC), tiene una unidad de medida en miliequivalentes (meq/100gr de suelo). Por lo tanto, un suelo arcilloso tiene unidades de 15-25 meq/100 gr. de suelo, un suelo franco de 5 a 15 meq/100 gr. de suelo y un suelo arenoso 5 meq/100 gr. de suelo. En tal sentido a medida que la fertilidad del suelo aumenta, también se eleva el CIC. (CONtexto ganadero, 2017)

El parámetro óptimo de capacidad de intercambio catiónico (CIC), es entre el rango de 35 meq/100 gr. de suelo, a mayor nivel puede generar problemas



de encalado en los suelos y dificultara en la administración de los fertilizantes. (CONtexto ganadero, 2017)

Asimismo, tener en cuenta cuando el CIC, cuando se encuentra entre 5 y 15 meq/100, corresponde a un suelo de arenas y arcillas, que no tienen capacidad de retener los nutrientes necesarios, son suelos poco fértiles. (CONtexto ganadero, 2017)

De acuerdo a suelos analizados en la sierra del Perú los valores se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 7 — Valores de CIC de análisis de suelos

CIC (Meq/100g)	Nivel
< 6	Muy Bajo
6-12	Bajo
12 a 25	Medio
> 40	Muy alto

Extraído de Medina, 2020

e) El nitrógeno, el macronutriente principal

Según Agroecología Tornos, 2018. El nitrógeno, considerado el macronutriente principal para el desarrollo de cultivos. Es importante no carecer de este nutriente.

Al ser un nutriente esencial, su contenido en el suelo es variable, porque influyen factores como el manejo del suelo, la presencia o ausencia de lluvias, el programa de fertilización y el manejo de restos de cosecha que afectan el contenido en el suelo.

Muchas especialistas recomiendan realizar el análisis de suelo, como mínimo una vez al año, para no tener deficiencias de este nutriente.



Tabla 8 — Niveles de nitrógeno en los suelos

Valores (%)	Nivel
< 0.1	Bajo
0.1 a 0.2	Medio
> 0.2	Alto

Extraído de Medina, 2020

f) El fósforo, macronutriente fundamental para las plantas.

Para crecer correctamente las plantas y los cultivos, requieren de este macronutriente que es el fósforo; por lo tanto, la temperatura y la humedad del suelo, así como el tipo de raíces de la planta, permitirá interceptar en mayor o menor cantidad fósforo del suelo. (Agroecología Tornos, 2018).

Según Medina, 2020, para suelo de la sierra de Cusco, los niveles de fósforo en partes por millón (ppm) es de:

Tabla 9 — Niveles de fósforo en suelos

Valores (ppm)		Nivel
< 5		Bajo
5 a 10		Medio
10 a 15		Bueno
> 15		Alto

Extraído de Medina, 2020

g) El potasio, macronutriente esencial para una producción de calidad

El potasio, asegura la calidad del producto de los cultivos, porque es importante cuidar el equilibrio, ya que las carencias y los excesos puede afectar el desarrollo de las plantas. (Agroecología Tornos, 2018).

Ya que una planta que tiene a su disposición el potasio suficiente, aumenta el nivel de los azúcares en los frutos. En los cereales como el trigo y el centeno, incrementa la lignificación y asegura la producción de paja de calidad. (Agroecología Tornos, 2018).

En la tabla siguiente, se observan los valores para evaluar el contenido potasio en el suelo:

Tabla 10 — Niveles de potasio en el suelo

Valores (ppm)	Nivel
< 150	Bajo
150 a 250	Medio
250 a 350	Alto
>350	Muy alto

Extraído de Medina, 2020

h) Microorganismo en el suelo

La pérdida o poblaciones reducidas de microorganismos afecta el desarrollo adecuado de la vida en el suelo, en razón que los microorganismos son los responsables de la dinámica, transformación y desarrollo del mismo. (Morales, 2009, citado por Méndez, 2016).

Los microorganismos proporcionan nutrientes de forma permanente, asegurando la fertilidad del suelo y permita alcanzar un balance de un desarrollo ambiental adecuado. (Morales, 2009, citado por Méndez, 2016).

El microbiota del suelo consta de tres grandes grupos: bacterias, donde se incluyen los actinomicetos; hongos y algas, que transforman compuestos complejos y los convierten en fuentes de carbono y energía (Carballas, 2004, citado por Méndez, 2016)

Uribe, 1999, citado por Méndez, describe rangos de valores normales de bacterias, actinomicetos y hongos que podríamos encontrar en un suelo en buen estado

Tabla 11 — Promedio de parámetros de microorganismos en suelos

Organismos	(UFCx10 ³)/gr de S°
Bacterias	1,000-100,000
Actinomicetos	100-10,000
Hongos	1-100

Extraído de Uribe, 1999, citado por Méndez, 2016.



Se aprecia en la tabla, los promedios de unidades formadoras de colonias (UFC) en suelos

3.2.3 Biorremediación

Benavides (2005). Se puede precisar a la biorremediación como el uso del ser vivo para que se solucione los problemas ambientales, tal como el suelo o agua subterránea contaminada. La biorremediación abarca todo aquel proceso en que se usa el microorganismo, hongo, planta o enzima derivada del mismo para que se trate el ecosistema inverso por un contaminante y de esa manera se pueda restaurar. (Benavides, 2005).

En ambientes no contaminados, los hongos, las bacterias y otros microorganismos heterotróficos degradan de manera constante las sustancias orgánicas disponibles, y así obtener energía. (Benavides, 2005). Cuando los agentes contaminantes orgánicos, como lo es el petróleo, es por accidente liberado en un ambiente, ciertos o algunos microorganismos nativos mueren, mientras tanto otros microorganismos sobrevivirán ya que tienen la capacidad de degradar de degradarlo. (Benavides, 2005).

La biorremediación tiene la acción de abastecer a estos microorganismos con nutrientes, oxígeno, y alguna otra condición que favorezca su acelerado desarrollo y reproducción. (Benavides, 2005). Estos microorganismos en tal caso podrán degradar los agentes contaminantes a una velocidad superior, siendo una técnica que limpia la contaminación, desarrollando el mismo proceso de biodegradación que ocurre de manera natural en el ecosistema (Benavides, 2005).

Depende de los sitios y de su contaminante, la biorremediación logra ser más certera y menos caro que una solución alternativa tal como la cremación o el entierro del material contaminado. (Benavides, 2005). La biorremediación logra que se clasifique conforme se ejecute, tal, como se tiene la biorremediación in situ (se tratan los materiales contaminados en los lugares que se encuentran) y ex situ (los materiales contaminados se trasladan para que sean tratados) (Benavides, 2005).

Los tratamientos pueden estar en función a uno o varios contaminantes como el organoclorado, hidrocarburo o metal pesado. Un ejemplo es el procedimiento de descontaminación del derrame del petróleo. En la descontaminación del petróleo se

hacen uso de fertilizante como nitratos o sulfatos, los mismos que estimularan al metabolismo de una bacteria nativa o exógena que degrada los componentes del petróleo. (Benavides, 2005).

Estos métodos implican en aumento de la humedad y del nutriente necesario para que se consiga el incremento microbiano y que favorezca al metabolismo. Se puede usar en grandes extensiones de suelos con un mínimo de transporte, la ventilación habitual se efectúa usando maquinarias apropiadas (Motocultor) para que se revuelva el suelo. (Benavides, 2005).

Este procedimiento tiene la ventaja que podemos tratar una gran cantidad de suelos a la vez y que es eficaz y efectivo para reducir las concentraciones de casi todo lo que constituye el petróleo típico. En la figura 4 que continua a seguidamente se muestra el parámetro implicado en la biorremediación (Benavides, 2005).

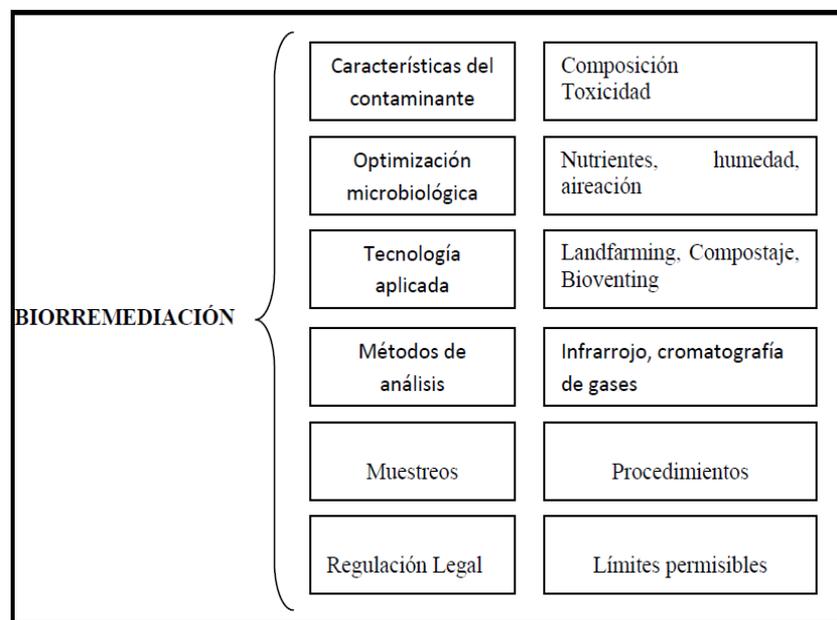


Figura 4 — Parámetros implicados en la Biorremediación

Extraído de Benavides. 2005

a) Remediación de ambientes afectados por derrame de petróleo

El ecosistema o medio ambiente afectado por el derramamiento del petróleo, puede soportar una inestabilidad o desequilibrio en sus factores: biótico y abiótico, esto debido a la contaminación del agua, suelo y el sedimento, el río, y las zonas inundables. (Solanas, 2009).



La restauración del ecosistema busca, a través de la adaptación de una técnica de Remediación Ambiental, su descontaminación, reduciendo la densidad del contaminante tal como el Hidrocarburo y Metal Pesado, accediendo de tal forma un desarrollo adecuado del medio ambiente y la manutención de la vida en general. (Solanas, 2009).

– **Remediación Ambiental**

La remediación ambiental forma conjuntos de procedimientos destinados a que se recuperen áreas afectadas por la contaminación. (Solanas, 2009).

El método existente para que se trate el suelo contaminado que puede ser de naturaleza biológica, química y física, tanto unos como otros logran que se aplique en el sitio de la contaminación que se conoce como “in situ” o en otros lugares conocido como “ex situ”. (Solanas, 2009).

– **Tratamientos Físicos:**

Según, Solanas, 2009, menciona los siguientes tratamientos:

1. Excavaciones y remociones
2. Extracciones de vapor
3. Lavado del suelo
4. Aireación
5. Estabilización y solidificación
6. Vitrificación
7. Tratamientos Térmicos (incineraciones, pirolisis, desorción térmica, entre otras.)

– **Tratamientos Químicos:**

Según, Solanas, 2009, menciona lo siguiente.

- 1) Neutralizaciones
- 2) Extracciones con solvente
- 3) Deshalogenaciones
- 4) Tratamientos químicos directos.

– **Tratamientos Biológicos**

Según, Solanas, 2009, menciona lo siguiente. La técnica de remediación biológica emplea un proceso natural para que se elimine la sustancia química dañina del ecosistema y abarca 2 métodos:

1. Biorremediación
2. Fitorremediación.

– **Recuperación Física**

(Van deuren *et al* 1997). La técnica física para la restauración del ambiente contaminado con Petróleo constituye un procedimiento aplicado de manera mecánica o manual usando una herramienta o maquinaria que permita que se realicen trabajos, así como la eliminación de un sedimento o la extracción del crudo.

El lavado de suelos es uno de estos métodos físicos para la restauración del ambiente contaminado en especial con hidrocarburo, consiste en que aplique agua a elevada presión para que se remueva el suelo y sedimento y que favorezca su separación del elemento contaminante tal como el petróleo que se pega en las partículas del suelo. (Van deuren *et al* 1997).

Van deuren *et al* 1997. En el uso de este método se debe tener en consideración 2 aspectos fundamentales de naturaleza del contaminante:

1. Densidad: es fundamental puesto que esto le va a permitir al contaminante que flote o se hunda en el agua. Debiendo su valor ser menor en comparación con el agua $1\text{Kg}/\text{m}^3$, lo cual va hacer que vaya flotando en el agua y que permita su recuperación
2. Solubilidad: el contaminante recuperado debe ser insoluble en el agua, que no permita mezclarse o dispersarse en el ambiente

Este método podemos utilizarlo “in situ” o “ex situ” en una instalación transportable. Como un acto complementario a esta técnica de remediación se debe realizar el monitoreo de los productos o los residuos en el suelo tratado y su posible efecto de las medidas de recuperación del lugar, en especial cuando la remediación sea in situ. (Van deuren *et al* 1997).

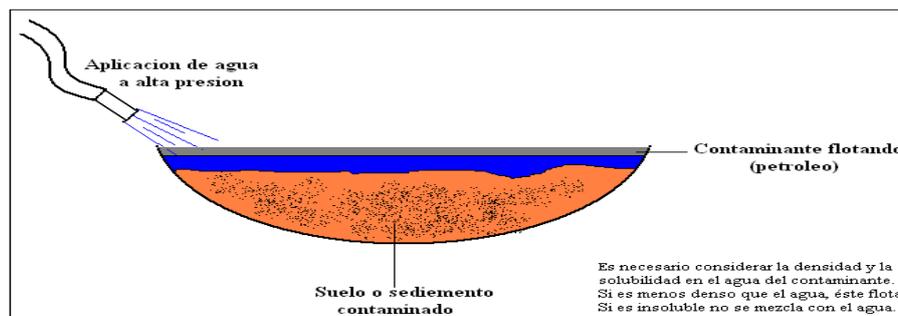


Figura 5 — Lavado de suelos y sedimentos contaminados

Fuente: Van deuren *et al* 1997.

La solución acuosa como efecto de los tratamientos pueden ser recicladas, en especial con el método ex situ, posteriormente deben recibir tratamientos adecuados. (Van deuren *et al* 1997).

El contaminante removido, igualmente, tiene que ser tratado y dispuesto de forma adecuada, tomando en consideración el cumplimiento de la norma ambiental aplicable, conforme a los tipos de contaminantes y formas de disposición final. (Van deuren *et al* 1997).

3.2.4 Métodos de biorremediación

Se describen a continuación los métodos más utilizados

a) Biorremediación por compostaje

La biorremediación en filas de compostaje es una técnica de recuperación sobre todo en suelos de superficie, que reducen las concentraciones de los elementos que constituyen el petróleo en el suelo, mediante la biorremediación. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Esta técnica generalmente compromete el esparcido en filas encima de la superficie, de los suelos contaminados excavados y el estímulo de las actividades microbianas aeróbicas presente en el suelo, mediante aireación e incorporación de minerales, nutrientes y humedad adecuada. (Sánchez, y Rodríguez, 2001). El incremento y mejora de las poblaciones microbianas resulta en la degradación del petróleo que se absorbe por medio del metabolismo de los microorganismos. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

El suelo generalmente tiene grandes números de diferentes microorganismos tal como, bacterias, algas, hongos, microorganismo unicelular, y actinomicete. (Sánchez, y Rodríguez, 2001). En el suelo con buen drenaje, el cual es más apropiado para estas tecnologías, los organismos son por lo general son aeróbicos. De esto, las colonias de bacterias es las más numerosa y bioquímicamente más activa. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Cuando no existe colonias de microorganismos nativos, es factible realizar la inoculación al suelo con colonias de microorganismo cultivado o estiércol de los animales (entre los que destaca el estiércol de la vaca o el pollo). Añadiendo estiércol se está haciendo 2 cosas, en primer lugar, estamos incrementando la población microbiana y en segundo lugar se está suministrando nutrientes para los microorganismos. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Para un crecimiento sostenido de las poblaciones bacterianas, las pilas de compostaje deben conservar un rango de pH entre 6 y 8 a lo largo de las operaciones e intervención realizada, siendo valores de pH 7 óptimos (Sánchez, 2001). Suelo afuera de estos rangos requerirán un arreglo, si el pH se encuentra por debajo de los rangos nombrados, es decir pH menor a 6 se requiere añadiduras de cal y en caso que el pH sea mayor a 8, se logra disminuir con la añadidura del azufre. (Sánchez, 2001.)

El microorganismo requiere de fuentes de carbono para el desarrollo celular y fuentes de energía para que se mantenga la función metabólica requerida para su desarrollo. (Sánchez, y Rodríguez, 2001). La fuente de carbono puede proceder de los contaminantes, de los carbonos contenidos en un fertilizante o aditivo y de los agentes de esponjamiento del suelo tal como: la paja, el aserrín, la cascara de semilla, entre otros (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Estos microorganismos además solicitan el nitrógeno y fósforo para su desarrollo celular. El fertilizante utilizado en horticultura puede compensar



las carencias de un nutriente requerido por la colonia de microorganismos, en estos procesos de biorremediación. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Los microorganismos del suelo también requieren de hidrataciones adecuadas para su adecuado crecimiento. De todas maneras, una enorme humectación del suelo reduce los movimientos del aire en el subsuelo y disminuyen las disponibilidades del oxígeno los cuales son fuertemente necesarios para el proceso metabólico aeróbico de la bacteria. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Los rangos ideales de hidratación de los suelos están comprendidos entre el 20 a 30 % del peso. En este proceso de biorremediación en pilas de compostaje del suelo deben ser hidratados diariamente puesto que se secan con rapidez como resultado de la evapotranspiración, las que a su vez, se ven incrementadas a lo largo de la operación de aireación y bajo una condición de clima cálido en especial en verano. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

En suelo de granos finos (arcilloso), a lo largo de una operación de compostaje e hidratación puede ocurrir su apelmazamiento (es decir puede estar menos esponjosa o en su defecto más compacta de los normal). Cuando esto sucede, el oxígeno no logra filtrarse por medio de la corteza de este grumo. Como efecto, las colonias de bacterias baja y el proceso de degradación de los hidrocarburos se ralentizar, es decir el proceso es más lento. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Para que así se evite el apelmazamiento, los “cultivos” de los suelos pueden ser implementados con la adición de agentes de esponjamiento a lo largo de las distribuciones iniciales y la preparación de los suelos. (Sánchez, y Rodríguez, 2001). Para iniciar los tratamientos, construimos una pista de trabajo al cual lo impermeabilizamos con una mezcla de cemento pobre, con una inclinación que culmine en un sumidero, de esta manera se logra un reciclaje de los lixiviados, los cuales posteriormente iremos reinyectando en el suelo a tratar, de esta manera se genera un ciclo semicerrado de circulación del agua. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Se excava el suelo en un sitio contaminado llamado "hot spots" (localización específica con elevada contaminación) para que después se traslade a zonas de tratamientos específicos. Se dispersa el suelo en fila o en pila de 1,5 m de altura por 2,1 a 2,5m de ancho. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

El nutriente biológico se agregará conforme a la necesidad para que se logre y se mantenga una relación C: N: P apropiada. La USEPA (United States Environment Protection Agency) propone que la relación C:N:P sea de 100:15:1 o bien, 100:15:0.5. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

El agente de esponjamiento tal como las pajas, la cáscara de semilla y/o estiércol se agregará para abastecer como una fuente adicional de carbono. Después se sigue con las operaciones de biorremediación, efectuando volteos periódicos de los suelos tratados. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

b) Bioestimulación

La bioestimulación se basa en la incorporación de una modificación en el medio ambiente de los microorganismos autóctonos, a través de los aportes de nutrientes, aireación, entre otros procesos. En algunos casos solo será suficiente que se añada oxígeno a través de aireación, y en otros casos se podrían añadir nutrientes o ajustar los niveles de pH (Sánchez, y Rodríguez, 2001). En todo caso, esta aproximación es válida siempre que el microorganismo autóctono sea capaz de degradar el contaminante tras algunos procesos más o menos extenso de adaptaciones previas. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

En lo referido a las adiciones de nutrientes, la biorremediación necesita que los nutrientes entren en contacto con las áreas impregnadas por los contaminantes y que las concentraciones sean suficientes para soportar los crecimientos máximos previstos de las colonias degradadoras, en la operación de biorremediación. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Según Ponce (2014), La bioaumentación consiste en adiciones de una solución acuosa que contenga nutrimentos o elementos como el nitrógeno y

el fósforo para que mejore la biodegradación del contaminante orgánico o para la inmovilización de lo inorgánico. Esta estrategia también se utilizó en suelo contaminado con pesticida y se ha verificado un buen resultado con desechos de municiones.

Son necesarios adicionar nutrientes para asegurar el desarrollo, incremento y crecimiento de las poblaciones de microorganismos, los macronutrientes que destacan es el Carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) y en cantidades menores los elementos micronutrientes. (Ponce, 2014)

Según Ponce, 2014, Estos procesos se pueden dar bajo condición aerobia o anaerobia, se describe a continuación:

– **Biodegradación aerobia:**

Con suficiente oxígeno, sumado a ello nutrientes elementales, los microorganismos logran degradar el contaminante orgánico, para convertirlos en dióxido de carbono, agua y nuevas biomásas celulares. (Ponce, 2014)

De acuerdo a la condición de los lugares afectados como la topografía, altitud, clima, podemos usar material de las zonas de esta manera se mejore la condición de la biodegradación. (Ponce, 2014)

– **Biodegradación anaerobia:**

En ausencia del oxígeno, el contaminante orgánico es metabolizado hasta el metano, también se produce una cantidad limitada de dióxido de carbono, hidrógeno molecular, ácido sulfhídrico, amoníaco entre los más fundamental. Ponce (2014)

Según Ponce (2014), La característica determinante en la selección, el logro o el fracaso de estas técnicas de biorremediación son los tipos de suelos. El suelo debe ser lo más homogéneo, con valores de porosidad y permeabilidad al aire apropiado ($> 10-10 \text{ cm}^2$). Debiendo existir una condición óptima de pH entre 6 y 8, de humedad (12 a 30% en peso), temperatura entre 0 y 40 °C y el nutriente del suelo en una relación de N: P, de 10:1. (Ponce, 2014)



Ventajas.

Este método es muy beneficio en el tratamiento de una extensa zona contaminada, tales como centros industriales, en el que no es factible o adecuado que se pare los procesos operativos para que se realice los tratamientos requeridos (Ponce, 2014)

Desventajas:

Esta técnica no es aceptable para el suelo arcilloso, elevadamente estratificado, demasiado heterogéneo, pues puede provocar una limitación en la transferencia de oxígeno. (Ponce, 2014)

c) Bioaumentación.

Este método se usa cuando el microorganismo de la microflora es insuficiente para degradar el contaminante y cuando se necesitan los tratamientos inmediatos del lugar contaminado, consiste en la suma de altas concentraciones de microorganismo (benéfico) vivo capaz de degradar el contaminante. (Ponce, 2014)

Ha sido utilizado para que se trate el suelo contaminado con insecticida, herbicida y con desechos con alta concentración de metales. Ponce (2014). Este método trabaja con condición de los laboratorios o bioreactores, pero en un ambiente externo (suelo o agua) su implementación depende de muchos factores a tomar en cuenta. (Alexander, 1999 citado en Ponce 2014).

Ponce, 2014, describe los factores a tener en cuenta:

- Presencia de toxina, nutriente y condición ambiental, movilidades y/o distribución de las colonias de microorganismo y la presencia de abundantes materias orgánicas.
- Las colonias de microorganismos, al ser añadidos debe tener la capacidad sobrevivencia frente a depredadores y competir para asegurar el éxito con las colonias autóctonas antes de ocupar el nicho potencial.
- En particular, el ambiente más selectivo y el uso del consorcio o colonias microbianas favorece la bioaumentación.



Ventajas.

No necesita áreas adicionales para que se realice los tratamientos, ni la utilización de maquinarias pesadas.

Desventajas.

La dimensión de las colonias del microorganismo degradador crecen rápido como reacción a la contaminación del medio y es muy dificultoso, si no inalcanzable, que se incremente el pueblo microbiano más allá de ese valor.

d) Fitorremediación

Es un método de biorremediación que consiste en que se utilice la planta, el sistema microbiano de la planta, enmiendas orgánicas de los suelos y técnica agronómica para contener, trasladar, remover y estabilizar y posteriormente degradar un compuesto contaminante del medio. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Según, Sánchez, y Rodríguez, 2001; en la figura que se enseña seguidamente se logra apreciar el proceso que se da lugar en las plantas para la descontaminación:

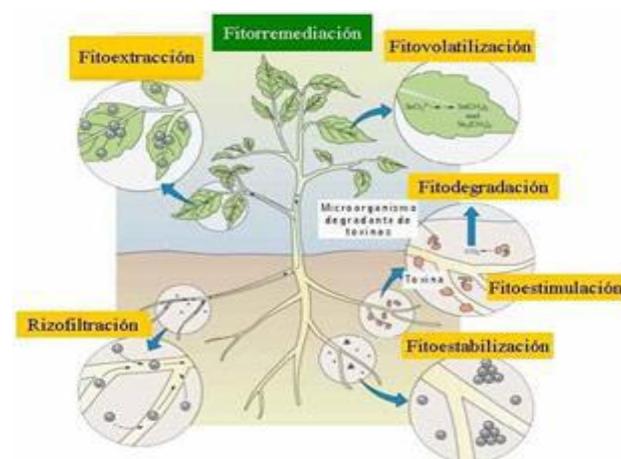


Figura 6 — Fitorremediación con plantas y sus procesos

Extraído de Sánchez, y Rodríguez, 2001.

Puede ser usada únicamente o en conjunto con otra tecnología tradicional de regeneración del suelo y agua subterránea contaminada con metal pesado, pesticida, solvente clorado, explosivo, crudo e hidrocarburo aromático policíclico (HAP). (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Por lo regular se determina a lugar de disminuida densidad de contaminantes, suelo superficial, aguas corrientes superficiales y aguas subterráneas. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

La planta puede fijar el tóxico o los tóxicos o también puede metabolizar tal como lo hace la colonia de microorganismos en el proceso de biorremediación. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

La fitorremediación es una técnica innovadora y con gran efectividad, ya que viene hacer una técnica muy económica, fácil de utilizar y ante todo, respetuosa con el ambiente puesto que no altera en el medio ambiente. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

La fitorremediación es una tecnología muy amplia y específica una cifra del mecanismo que es definido por las plantas. La Fitorremediación implica la absorción y asimilación de los contaminantes por las plantas, o logra ser que se exploten las actividades asociadas a las plantas en la rizósfera. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Por lo usual estos 2 procedimientos son administrados por la característica física de los contaminantes, las solubilidades del agua y la posibilidad de asimilación del suelo son 2 propiedades químicas que inciden en la fitorremediación del contaminante. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

El contaminante inorgánico soluble en el agua es absorbido por la raíz de la planta, mientras que el compuesto orgánico no es tomado rápido por la planta, sino que es blanco de la enzima de la planta o de la colonia de microorganismos asociado con la rizósfera. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).



Tabla 12 — Tipología de la fitorremediación

Tipo	Procesos involucrados	Tratamiento de la contaminación
Fitoextracción	Uso de la planta, que permita concentrar metales en los órganos de cosechables como las raíces y hojas.	Cadmio, cobalto, níquel, mercurio, plomo, selenio, zinc.
Rizofiltración	A través de la raíz de la planta y con las colonias de microorganismos, se utilizan para absorber y concentrar el metal pesado, partiendo de los efluentes líquidos contaminados y degradar el compuesto orgánico.	Cadmio, cobalto, cromo, níquel, mercurio, plomo, zinc, isótopos radioactivos y compuestos fenólicos
Fitoestabilización	Con el uso de plantas tolerantes a metales, se reducen la movilidad del contaminante, para evitar el tránsito a las napas subterráneas o al aire.	Lagunas con desecho o relaves de yacimientos mineros. Asimismo, en tratamiento para compuesto fenólicos y clorados.
Fitoestimulación	Con el uso de la exudación radicular se promueven el desarrollo de las colonias de microorganismos como los hongos y las bacterias.	Los hidrocarburos derivados del petróleo y elementos poli-aromáticos, tolueno, atrazina, entre otros.
Fitovolatilización	La planta capta y modifica los metales pesados, compuestos orgánicos, para que después libere al medio ambiente mediante la transpiración.	Mercurio, selenio, solvente clorado entre ellos el tetraclorometano y triclorometano.
Fitodegradación	Utilizando plantas terrestres o acuáticas, capturan, almacenan y degradan compuestos orgánicos, que darán subproductos con menor toxicidad.	Conjunto de municiones (TNT, DNT, nitrobenzono, nitrotolueno), atrazina, solventes clorados, DDT, pesticidas fosfatados, fenoles y nitrilos, entre otros.

Extraído de Sánchez, y Rodríguez, 2001

Según (Sánchez, y Rodríguez, 2001, existen diferentes métodos de procedimiento por fitorremediación, el cual se puede concluir en aquellos tratamientos que bio-remedian metales y otros compuestos orgánicos.

- **Tratamientos o método de fitorremediación de metales mediante procesos de remoción:** entre los que destacan la fitoextracción y rizofiltración
- **Tratamiento o método de fitorremediación de compuestos orgánicos,** entre los que destacan: fitodegradación, biodegradación rizosférica aumentada, Bombas orgánicas y fitovolatilización



– **Fitoextracción**

Proceso mediante el cual se captan los iones metálicos, por medio de la raíz de las plantas, para su posterior acumulación en el tallo y hoja. Existen plantas que retienen de forma selectiva una gran cantidad de metales (entre ellos destacan, Ni, Zn y Cu), que logran acumular en los tejidos, concentraciones superiores a la que se encuentra presente en el suelo o en el agua. (Sánchez, y Rodríguez, 2001).

Existen experiencias de este método, usado para eliminar el hidrocarburo del agua y suelo con un cultivo de alfalfa, álamo, enebros, entre otros. (Sánchez, y Rodríguez, 2001.)

– **Rizofiltración**

Sánchez, y Rodríguez, (2001.) considera que este proceso es parecido a la fitoextracción, pero en vez de cultivar la planta en el suelo, se cultiva en un invernadero a través de la hidroponía.

Las plantas son cultivadas en un tanque con agua y cuando desarrollan grandes sistemas radicales se sustituyen las aguas limpias por aguas contaminadas, para que a través de las raíces absorba lo tóxico, es decir queden fijados en la raíz de la planta. En la medida que la raíz se satura de lo tóxico, se cortan y eliminan y paulatinamente se sigue el proceso mientras salen nuevas raíces, separando y excluyendo. (Sánchez, y Rodríguez, 2001.)

Este método se utiliza para la recuperación del sitio contaminado con metales, en los tratamientos de descargas de actividades industriales, para agua de escorrentía del cultivo, los drenajes ácidos de las minas y contaminaciones radioactivas. (Sánchez, y Rodríguez, 2001.)

Estos métodos se probaron de manera satisfactoria para que se elimine el ion radioactivo en los accidentes de las plantas nucleares de Chernobyl, la planta que dio muy buenos resultados fue el girasol. (Sánchez, y Rodríguez, 2001.)



– **Fitodegradación**

Estrategia de biorremediación, a través de las cuales las plantas degradan un compuesto orgánico. El compuesto es absorbido y metabolizado por oxidasas y halogenasas primordialmente. (Sánchez, y Rodríguez, 2001)

– **Especies aptas para fitorremediación**

Ciertas plantas han logrado las capacidades naturales de soportar y concentrar un contaminante en su tejido, estas capacidades pueden ser usada para que se limpie un ambiente contaminado con elementos tóxicos, tal como el hidrocarburo o residuo de metal pesado. (Maqueda, 2003)

Las plantas denominadas fitorremediadoras, tienen como atributo ideal, lograr que se acumule el metal en sus órganos, de preferencia en las partes superiores de las plantas; es tolerante a acumular y concentrar metales, desarrollan con rapidez, generando biomasa en grandes cantidades, son fáciles de cosechar y contiene una sustancia que impide que el herbívoro la consuma, para que prevenga el traspaso del metal pesado a las cadenas alimenticias. (Maqueda, 2003)

La planta fitorremediadora destaca aquella planta llamada hiperacumuladora, la cual es capaz de crecer en suelo contaminado con metal tóxico y acumularlo a un nivel extraordinario elevado. Existen muchas plantas con esas características. (Maqueda 2003).

Según, Maqueda, 2003, por definición la planta hiperacumuladora de plomo, níquel, cobalto y cobre, es aquella capaz de almacenar en las partes aéreas más de 1000 mg/kg en peso seco; mientras que la planta hiperacumuladora de cadmio acumula 100 mg/kg en peso seco. Se ha reportado más de 400 diversas clases de plantas que tienen la capacidad hiperacumuladora.



Tabla 13 — Especies de plantas empleadas en biorremediación

Nombre taxonómico	Nombre vulgar
Plantas Acuáticas	
<i>Azolla filiculoides</i>	Helecho acuático
<i>Bacopa momieri</i>	Bacopa
<i>Eichornia crassipes</i>	Jacinto de agua
<i>Hydrilla verticillata</i>	Maleza acuática
<i>Lemna sp</i>	Lenteja de agua
<i>Pistia stratiotes</i>	Lechuga de agua
<i>Salvinia molesta</i>	Salvinia
<i>Spirodela polyrrhiza</i>	Flores de agua
<i>Oriza sativa</i>	Arroz
Plantas de ornato	
<i>Brassica juncea</i>	Mostaza
<i>Helianthus annus</i>	Girasol
<i>Guadua angustifolia</i>	Guadua
Plantas terrestres	
<i>Agrostis castellana</i>	Vallico
<i>Thlapi caerulescens</i>	Carraspique
<i>Athyrium yokocense</i>	Helecho
<i>Avena sativa</i>	Avena forrajera

Extraído de Maqueda 2003

3.2.5 Microorganismos

La degradación del hidrocarburo en un diferente ecosistema (suelo y agua) necesita de la presencia de un microorganismo (colonia de bacteria, hongo, alga) que, mediante las actividades bioquímicas, oxida el hidrocarburo. (Ríos, 2005 citado por Ñustez 2012).

Alguna especie del microorganismo (colonias de bacterias, hongos, algas) metaboliza números limitados de hidrocarburo, de forma que la presencia de la colonia mixta con diferente capacidad metabólica, es necesario para que se degrade una mezcla compleja de hidrocarburo como el crudo. (Ríos, 2005 citado por Ñustez 2012).

La degradación de hidrocarburo se lleva a cabo fundamentalmente por una colonia de bacteria, seguida por la colonia de hongos, colonias de levaduras y colonias de algas, entre otros (Ríos, 2005 citado por Ñustez 2012).

El reporte de los porcentajes de una colonia de bacteria y hongo presente en el suelo, varía de manera notoria de entre 0.13% y 50% para la colonia de bacteria, y de 6% a 82% para la colonia de hongo, con relación a las comunidades heterótrofas totales de los suelos. Las proporciones de las colonias del hongo y las colonias de la bacteria depende de la condición del lugar. (Ríos, 2005 citado por Ñustez 2012).

Los números de colonias del microorganismo heterótrofo total en el suelo, se considera como típicas, se encuentran en cuentas totales de 10⁷ a 10⁹ UFC/g del suelo; para una colonia degradadora potencial en el suelo no contaminado esta entre 10⁵ y 10⁶ UFC/g; y entre 10⁶ y 10⁸ UFC/g en suelo contaminado (Ríos, 2005 citado por Ñustez 2012).

En un ecosistema en el que la población microbiana degradadora no es significativa, se ha usado las estrategias de bioaumentación con la finalidad de que se incremente las tasas de biodegradación del contaminante. (Ríos, 2005 citado por Ñustez 2012).

Se prefieren las estrategias de bioaumentación usando un microorganismo nativo, ya que otro microorganismo puede presentar un problema de adecuación. (Ríos, 2005 citado por Ñustez 2012).

Hace poco se han tomado en cuenta el uso de los microorganismos genéticamente manipulados (OGM) para la biorremediación de lugares contaminados (Ríos, 2005 mencionado por Ñustez 2012).

a) Consorcios Bacterianos degradadores de hidrocarburos

Según (Santiago et al., 1978, citado por Bermúdez 2012), considera que la facultad de degradación microbiana del hidrocarburo, son hechos conocidos desde el final del siglo XIX, por la observación de Miyoshi (1895) sobre las especies *Botrytis cinerea*. (Rahn (1906) dio a conocer las habilidades de una diversidad de especies de hongos, de emplear parafinas como exclusivas fuentes de energía.

Luego en Fush and Ponsford (1912) elaboraron una lista de colonias de bacterias, que tienen la capacidad de degradar, diversos tipos de hidrocarburo. (Santiago et al., 1978 mencionado por Bermúdez 2012).



Según, Santiago et al., 1978 mencionado por Bermúdez 2012; en la actualidad, las literaturas especializadas refieren grandes variedades de microorganismo hidrocarbonoclasta:

Tabla 14 — Variedades de microorganismos hidrocarbonoclastas

Microorganismo	Investigadores
<i>Proteobacteria, Mycobacterium</i> y <i>Sphingobacterium</i>	(Kanaly et al., 2000).
<i>Planococcus spp</i>	(Engelhardt et al., 2001).
<i>Pseudomonas spp</i>	(Lim and Halos, 1997; Al-Gounaim and Diab, 1998).
<i>Bacillus, Brevibacterium</i>	(Lim and Halos, 1997)
<i>Corynebacterium spp</i>	(Lim and Halos, 1997; Al-Gounaim and Diab, 1998).
<i>Arthrobacter spp., Acinetobacter spp.,</i> y <i>Flavobacterium spp</i>	(Razak et al., 1999).
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> y otras especies de los géneros	(Lim and Halos, 1997).
<i>Marinobacter</i> y <i>Alcanivorax</i>	(Shutsubo, 2001).
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> y <i>Rhodovulum sp</i>	(Sasaki et al., 2000).
<i>Bacillus alcalophilus, Bacillus licheniformis, Bacillus macerans, Corynebacterium sp, Micrococcus varians</i>	(Morales, 2006).
Algunas especies de <i>Candida</i> y <i>Rhodotorula</i> (levaduras)	(Prabhakaran and Sivadas, 1995); (Fonseca, 1998).
<i>Cladosporium, Penicillium</i> y <i>Aspergillus son</i> (hongos filamentosos)	(Fonseca, 1998).

Extraído y adaptado de Bermúdez 2012.

La concentración y conformación de las comunidades microbianas, así como la tasa de transformación o degradación del hidrocarburo está influenciado por diferentes factores, entre ellos la temperatura, el pH, oxígeno, humedad, disposición del nutriente, estructuras, composiciones y disponibilidades de los contaminantes. (Bermúdez 2012)



b) Biodegradación microbiana de hidrocarburos

La biodegradación microbiana de hidrocarburos se refiere a la acción de que la colonia del microorganismo, puede desarrollarse a expensa del uso de este compuesto químico (hidrocarburo). (Solanas, 2009.)

Aun cuando puedan sorprendernos que las colonias de microorganismos sean capaces de alimentarse a costa de un compuesto tan extraño para los seres humanos como el benceno, naftaleno o el pireno; investigaciones realizadas por profesionales de la geoquímica y microbiología nos ofrecerán explicaciones. (Solanas, 2009.)

Reflexionando sobre una serie de sucesos ocurridos durante el tiempo geológico desde que se formó la Tierra hasta la actualidad, se ve que el microorganismo en su diversidad de especies, están en la tierra desde hace más de 3 mil millones y medio de años, en razón de los organismos superiores que desde hace menos de mil millones de años y los seres humanos desde hace sólo 6 millones de años, un instante a escalas del tiempo geológico. (Solanas, 2009.)

En la actualidad ya no es discusión que el petróleo y, luego, su componente mayoritario, el hidrocarburo, tiene su procedencia en el compuesto que forma parte de los organismos, al que lo denominamos compuestos biogénicos. (Solanas, 2009.)

Una secuencia de reacción química, ocurrida a una elevada temperatura y a lo largo de millones de años, que el profesional geoquímico engloba con el termino de procesos diagenéticos y catagenéticos, ha dirigido a conversiones paulatinas de esta estructura biogénica en hidrocarburo. (Solanas, 2009.)

En sitios en los cuales se ha encontrado hidrocarburos, se ha conseguido probar la validez de existencia de etapas geológicas, anterior de los organismos, que poseía en su célula compuesto biogénico como el pigmento eritroafina o el alcaloide veratramina. (Solanas, 2009.)



Estos fenómenos suponen que colonias del microorganismo, capaz de desarrollarse en su origen solo a costa de compuestos biogénicos, como los azúcares o la proteína, ha ido conviviendo durante millones de años con una escala de compuesto orgánico que al final da lugar al componente del crudo del petróleo actual. (Solanas, 2009.)

Durante millones de años, ha sido seleccionado enzimas que aparecieron por mutaciones o intercambios genéticos en una determinada colonia de microorganismo capaz de que metabolice el compuesto de hidrocarburo. (Solanas, 2009.)

Actualmente se puede comprender que las colonias del microorganismo hayan evolucionado con la capacidad para que metabolice el hidrocarburo y por lo opuesto presente mayor dificultad en degradar contaminantes como el pesticida o los explosivos, producto sintetizado por los seres humanos, y que a proporción del tiempo geológico sólo hace que sería un instante que están en nuestro planeta tierra. (Solanas, 2009.)

Para varias de los compuestos, llamadas xenobióticos, el microorganismo, pese a su pronta adaptación a una nueva situación, podría no haber sintetizado aun el conjunto de enzimas necesarios. (Solanas, 2009.)

El microorganismo que utiliza hidrocarburo como sustrato, debe de poseer una enzima llamada monooxigenasa que es dependiente del oxígeno. (Maroto y Rogel, 2004.)

La mayor parte de colonias de microorganismos en teoría si es capaz de subsistir en ese medio, pueden degradar hidrocarburo de cadenas largas para que sean de accesible al conocimiento y sin que entremos en detalles metabólicos se puede manifestar que el microorganismo pueda degradar alcanos, primeramente, debe de oxidar con el oxígeno el último carbono de las moléculas, gracias a los complejos multienzimáticos que no hace más que se incorpore estas moléculas del oxígeno. (Maroto y Rogel, 2004.)



Así se obtienen hidrocarburos con grupos de alcohol siendo de esa forma moléculas más reactivas. A través de otra enzima estos grupos de alcohol se oxidan más hasta los grupos aldehídos y por último carboxílicos. (Maroto y Rogel, 2004.)

Así se obtienen moléculas similares a los ácidos grasos y que pueden ser degradados a acetyl-CoA por b-oxidación. Este procedimiento de oxidación además logra producirse en carbono no terminales, dan lugar a 2 ácidos grasos que se procesan por b-oxidación. (Maroto y Rogel, 2004.)

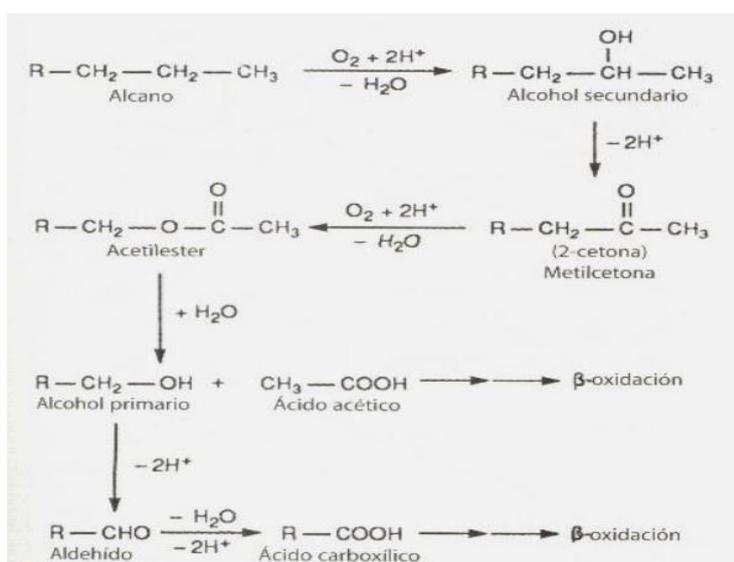
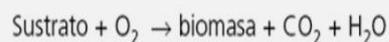


Figura 7 — Reacciones de la degradación anaerobia de hidrocarburo

Extraído de Maroto y Rogel, 2004.

Degradación aerobia:



Degradación anaerobia:

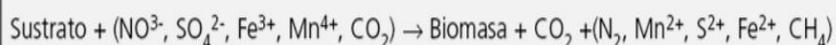


Figura 8 — Esquema de degradación aerobia y anaerobia

Extraído de Maroto y Rogel, 2004.



La mayor parte de microorganismos en teoría están en la capacidad de usar estos mecanismos y pocos logran sobrevivir en esa condición. Para ello deben ser capaces de sobrevivir en ambientes muy hidrófobos como lo es el petróleo. (Maroto y Rogel, 2004.)

Por tanto, para que se colonice la interface petróleo-agua tienen que cambiar sosteniblemente las membranas. También, para que se introduzca el hidrocarburo en las células lo hace vía vesícula. Por tanto, si se habla de requerimiento genético no solo es preciso los sistemas monooxigenasas sino otro gen que permita variar las envolturas y la formación de esa vesícula. . (Maroto y Rogel, 2004.)

Por tal motivo son pocas las especies que puedan efectuar biodegradación. Desde luego la especie con más posibilidad y la más estudiada en el campo es la *Pseudomona sp.* (Maroto y Rogel, 2004.)

c) **Factores determinantes**

El factor crítico a tomar en cuenta en los tratamientos biológicos es: tipos y concentraciones de los contaminantes; concentraciones o colonias del microorganismo, concentraciones del nutriente, aireación y la condición ambiental (Ercoli, Gálvez, Di Paola, Cantero, Videla, Medaura, Bauzá, 2001.)

Ercoli, *et al* (2001). Entre el factor o factores que influyen en las aplicaciones y es determinante de la eficacia en la biorremediación son:

– **Tipo de hidrocarburos**

La biodegradabilidad de unos compuestos orgánicos se debe a que son utilizados por el microorganismo como fuentes de carbono. No todo el compuesto orgánico se degrada con las mismas facilidades. (Ercoli, et al, 2001).

El compuesto alifático de cadenas lineales (parafínico) se degrada con facilidad, la estructura ramificada estéricamente inaccesible para la



degradación. Por esa misma forma, el compuesto alifático insaturado degrada más lento que el saturado. (Ercoli, *et al*, 2001).

– **Concentración de hidrocarburos**

Cuando la concentración de los contaminantes es elevada logra suceder que se produzcan inhibiciones de los crecimientos microbianos (reduzca su posibilidad de metabolización) o si es muy elevada que intoxique a la colonia del microorganismo y esta muera. (Ercoli, *et al*, 2001).

– **Presencia de microorganismos**

El microorganismo puede degradar hidrocarburo y alguna otra sustancia contaminante en modo de cultivo puro (especies únicas) o cultivo mixto (varia la especie que se mantiene en relaciones simbióticas). (Ercoli, *et al*, 2001).

Para los casos de los procedimientos del suelo contaminado con hidrocarburo se requieren concentraciones mínimas de microorganismo degradador específico de 10³ a 10⁴ UFC/g de suelo (UFC) y de organismo heterótrofo total de 10⁵ a 10⁶ UFC/g del suelo. En estos casos por lo general no se necesitan inoculaciones (Ercoli, *et al*, 2001).

Si estas masas críticas no son suficientes se puede agregar una colonia del microorganismo al suelo a través de las inoculaciones o mediante los procesos conocidos como bioaumentación. Con ello se logra incrementos importantes, logrando estimular la colonia microbiana que existe por incorporación de un nutriente. (Ercoli, *et al*, 2001).

– **Nutrientes:**

Según Ercoli, *et al*, 2001, considera que el nutriente es una sustancia química necesaria para el crecimiento y desarrollo del microorganismo y se puede separar en 4 grupos:

Diversas fuentes como el Carbono, Fosforo, Nitrógeno y oligoelementos (micronutriente). Las fuentes de carbono son los contaminantes, y proporcionan al carbono necesario para que se produzca el compuesto



celular, producto metabólico (CO₂, agua, enzimas) y microorganismo (debido a la reproducción del mismo). (Ercoli, *et al*, 2001).

Las dosificaciones de nitrógeno y fosforo se efectúan en función de las concentraciones de los contaminantes, conforme a la relación C:N:P que varían de acuerdo a diversos autores 100:10:1; la concentración de los hidrocarburos que se toman como información referente y que aportan en un 80% de masa como el carbono al proceso, la rapidez de degradaciones esperadas y balances de las masas de los materiales en tratamientos y de los aportes de los fertilizantes de los elementos considerados. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

Fuente de Nitrógeno, facilita los elementos necesarios para la producción de los aminoácidos y las enzimas. Puesto que el uso de este compuesto es muy rápido, el suelo no alcanza a cubrir toda la necesidad en los procesos y debe ser incorporado bajo el modo del fertilizante de uso agrario como urea o sulfato de amonio. Además, se pueden usar fertilizante de procedencia orgánica como el estiércol. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

La fuente de Fósforo interfiere en la formación del compuesto energético de las células, que se usan en el proceso de reproducción y degradación. Puesto que el uso de este compuesto es rápido el suelo no alcanza a cubrir toda la necesidad de los procesos y debe ser incorporado bajo las formas del fertilizante de utilización agraria como fosfato diamónico o fosfato tricálcico. Además, se puede usar fertilizante de procedencia orgánica como estiércol. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

d) Condiciones Ambientales,

Según Corona – Ramírez y Iturbe – Argüelles, 2005). Se tiene:

– **Aireación:**

El oxígeno es primordial en la degradación del hidrocarburo, su presencia está en razón que es un proceso aeróbico. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

– **pH:**

Es fundamental para el crecimiento del microorganismo degradador, siendo lo más apropiado una categoría entre 6 y 8. Cuando el pH sobrepasa de 8 de pH, es necesario que se disminuya el mismo a través de la incorporación del Azufre a la tierra. Si es inferior de 6 de pH, se logra añadir a través de la introducción del carbonato de calcio o hidróxido de calcio, el propósito es lograr un pH óptimo cercano a 7 de pH. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

Cuando se encuentra metal pesado en los terrenos a muy elevada concentración se debe laborar a un pH que mantenga a los metales inmovilizados o en formas no solubles (pH alto) el propósito que disminuya la toxicidad del microorganismo. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

– **Humedad:**

El agua es fundamental para el crecimiento del microorganismo ya que actúan como medios de traslado del nutriente y el oxígeno a las células. Es adecuado que se mantenga la humedad del orden del 70% de la capacidad de campo. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

Un exceso de la humedad crea inhibiciones de los procesos por anaerobiosis. Un déficit obstaculiza el crecimiento del microorganismo. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

– **Temperatura**

Influye en la rapidez de las degradaciones marcadas, depende de los tipos de microorganismo disponible. Generalmente la temperatura más adecuada se encuentra entre 20 ° C y 40 ° C, (el microorganismo que trabaja a esta temperatura se denomina mesófilo). La rapidez de las degradaciones crece con la temperatura, por lo que los incrementos de las mismas son útiles. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

Cuando se sobre pasa los 40 °C se crea un descenso de las actividades microbianas, o bien se producen rotaciones poblacionales hacia especies

más resistente a la elevada temperatura, como sucede en el proceso de los compostajes en donde alcanza una temperatura de 65°C. (Corona – Ramírez e Iturbe – Argüelles, 2005).

e) Microorganismos depredadores de petróleo

Los denominados organismo hidrocarburoclástico es una colonia de bacteria y hongo capaz de degradar el petróleo fisiológicamente y metabólicamente. Todo ecosistema, contiene cierto tipo de microorganismo degradador del petróleo, en las tablas que continúan se indica el género reportado en estudios desarrollados. (Aycachi, 2008).

Tabla 15 — Colonias de bacterias degradadoras de petróleo

<i>Achronobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Actinomyces</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Bacillus</i>
<i>Beneckea</i>	<i>Brevebacterium</i>	<i>Coryneformes</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Klebsiella</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Leumthrix</i>	<i>Moraxella</i>
<i>Nocardia</i>	<i>Peptococcus</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Sarcina</i>	<i>Spherotilus</i>	<i>Spirillum</i>
<i>Streptomyces</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Xanthomyces</i>

Extraído de Aycachi, 2008.

Tabla 16 — Colonias de hongos degradadores de petróleo

<i>Allescheria</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Aureobasidium</i>
<i>Botrytis</i>	<i>Candida</i>	<i>Cephalosporium</i>
<i>Cladosporium</i>	<i>Cunninghamella</i>	<i>Debaromyces</i>
<i>Fusarium</i>	<i>Gonytrichum</i>	<i>Hansenula</i>
<i>Helmintrosporium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Oidiodendrum</i>
<i>Paecylomyces</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Rhodosporidium</i>	<i>Rhodotorula</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Saccharomycopsis</i>	<i>Scopulariopsis</i>	<i>Sporobolomyces</i>
<i>Torulopsis</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Trichosporon</i>

Extraído de Aycachi, 2008.



Según Ayachi, 2008, considera que además, se han informado el uso de camarones en la degradación del petróleo, siendo el *Peanus duorarum* y *Peanus aztecuz*, que tienen capacidades de degradar el hidrocarburo casi en su totalidad, y va desde el compuesto de 12 carbonos a el compuesto de 22 carbonos.

f) Compuestos que pueden ser biodegradados

Existe una diversidad de opiniones con respecto a si la colonia del microorganismo tiene un límite en su capacidad digestiva o si es capaz de degradar cualquiera de los compuestos que las personas puedan producir. Sin duda alguna, la verdad es situada a través de 2 puntos de vista extremos. (Aycachi, 2008).

Sin embargo, la colonia del microorganismo puede degradar infinidad de un compuesto bajo una condición diferente. Varios compuestos de origen sintético, logran además modificarse o se transforman a través de la utilización de bacterias, hongos o de cualquier tipo de poblaciones microbianas trabajando en sociedad. (Aycachi, 2008). Este proceso varía a partir de las putrefacciones de la comida hasta la limpia del derrame del petróleo. (Aycachi, 2008).

En múltiples casos este proceso es beneficioso y esencial. Luego de todo, gran parte de los procesos cíclicos orgánicos e inorgánicos, precisos para el sostenimiento del medio ambiente es resultado de las actividades microbianas. También de que se pueda modificar o degradar algunos compuestos, los rendimientos tienen que ser elevados. (Aycachi, 2008).

Una variedad del producto químico xenobiótico es resistente a los ataques microbianos y/o es tóxico para el microorganismo. En cambio, en una zona contaminada con diferentes composiciones xenobióticos se ha aislado colonias del microorganismo que logran degradar varios de ellos con facilidad y rapidez. (Aycachi, 2008).

Entre lo que se encuentra son el cloruro de etileno, PCBs, gasolina y otros derivados del petróleo, compuestos con 2 y 3 agrupaciones nitro, incluido



la gama de herbicidas nitrogenados y trinitrotolueno, hidrocarburo policlorado, abarcando: pentaclorofenol, tetracloroetileno, dicloroetileno, cloruro de vinilo, tetracloroetano, creosota y fluoranteno. (Aycachi, 2008).

3.2.6 Bioaumentador y bioestimulante.

En el mercado se puede encontrar una diversidad de productos para recuperar la característica física, química y microbiológica del suelo contaminado por hidrocarburos, muchos laboratorios desarrollan los bioestimulantes que son básicamente elementos químicos como el nitrógeno y fosforo.

Los bioaumentadores son más conocidos como los microorganismos eficaces.

a) Bioaumentador

– Microorganismos eficientes (EM)

Los microorganismos efectivos, vienen hacer una mezcla de grupos o colonias de microorganismos de origen natural que lo encontramos en el suelo y los alimentos. Son conocidos como EM (effective microorganisms) traducido del inglés. (BID, 2009)

El EM, está compuesto o contiene colonias de Lactobacillus, bacterias que son utilizadas en la elaboración de quesos y yogures, también colonias de levaduras, que se utilizan en la elaboración del vino la cerveza y los panes y finalmente las colonias de bacterias fototrópicas, que las encontramos en el suelo y el sistema radicular de las plantas. (BID, 2009)

Las colonias de microorganismo descritos en el párrafo anterior no son tóxicos, ni nocivos, tampoco están genéticamente modificados, tienen muchos beneficios ya que son benéficos y sumamente eficientes sobre todo de origen natural. (BID, 2009).

A través de diversas pruebas el Dr. Higa, logro que estos tres grupos de microorganismos coexistan, y logren el efecto de sinergia, es decir trabajen en equipo, ya el efecto es superior. (BID, 2009).

El consorcio bacteriano contenido en el EM, como las bacterias fotosintéticas, tiene la capacidad de reducir y neutralizar malos olores y en muchos casos prevenirlo. (BID, 2009), Asimismo tiene la capacidad de transformar sustancias que desarrollan un olor desagradable como el metano, ácidos sulfhídricos, amoniacos entre otros, en ácidos orgánicos, que no producen malos olores y no es nocivo para el ser humano. (BID, 2009).

Por lo tanto, el EM, se utiliza en baños, cocinas, graseras, lugares contaminados por hidrocarburos y pesticidas y en lugares habitados por animales domésticos entre otros usos. (BID, 2009).

Las bacterias ácido lácticas, han desarrollado sustancias que actúan como acelerante en la descomposición de materia orgánica, reduciendo el tiempo de compostaje, asimismo producen sustancias que para evitar los patógenos en los cultivos. (BID, 2009). Las levaduras contenidas en el EM, produce sustancias que participan como hormonas naturales y actúan como promotores del desarrollo y el crecimiento de las plantas. (BID, 2009).

– **Principio de la biorremediación en suelos contaminados por hidrocarburos**

Microorganismos + Suelo Contaminado por hidrocarburos. Los microorganismos digieren el petróleo y otros contaminantes orgánicos, convirtiéndolos en: $CO_2 + H_2O$ + crecimiento de biomasa de los microorganismos, que da como resultado Suelo Descontaminado. (BIOEM- Perú (2021))

Tabla 17 — Tipos de microorganismos contenido en el EM

Tipos de Microorganismos	Cantidad (CFU/mL)
Bacterias Acidolácticas	$> 6.0 \times 10^5$
Bacterias Fototróficas	$> 4.0 \times 10^5$
Levaduras	$> 3.0 \times 10^4$

Extraído de EM Research Organization, Inc. Interamerica Branch Office. BIOEM- Perú (2021)



El método de tratamiento Biorremediación con EM, es una tecnología: japonesa se basa en la degradación del Hidrocarburo por medio de Bacterias Benéficas, (Solución Ambiental Segura), en un tiempo aproximado de 3 a 4 meses. (BIOEM- Perú, 2021)

Al concluir la biorremediación se tiene un producto Tierra lista para incorporarla como mejorador de suelos u otros usos. Asimismo, Estos microorganismos NO han sido genéticamente modificados ó sintetizados en laboratorio. (BIOEM- Perú, 2021)

b) **Bioestimulante**

Es la adición de una solución acuosa que contenga un nutriente como el nitrógeno y fósforo para que mejore la biodegradación del contaminante orgánico o para la detención de lo inorgánico. El macronutriente es necesario para el desarrollo y aumento de las colonias del microorganismo, el macronutriente como el nitrógeno, fósforo y potasio y en menores cantidades los micronutrientes.

Dentro de los productos, de mayor comercialización se tiene la urea

– **Úrea.**

Según (DQI, 2015) Úrea, además llamada como carbamida, es el nombre de los ácidos carbónicos de las diamidas cuyas fórmulas químicas son $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$.

Es una materia nitrogenada que producen por algunos seres vivos como medio de supresión de los amoníacos, los cuáles son elevadamente tóxicos para ellos. En el animal se encuentra en la sangre, orina, bilis y sudor. (DQI, 2015)

La urea, tiene una presentación como unos sólidos cristalinos y de color blanco, de formas esféricas o granulares. Es una materia higroscópica, es decir, que tienen la capacidad de aspirar agua de la atmósfera y muestra ligeros olores a amoníaco. En el mercado la urea se muestrea en pellet, gránulo, o diluida, dependiendo de las aplicaciones. (DQI, 2015)



Nombre Químico: Úrea

Fórmula Química: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

Peso Molecular: 60 g/mol.

Sinónimos Carbamida, carbonildiamida o ácido carbamídico

– **Usos y aplicaciones**

Fertilizante, pienso para el animal, plástico, intermedios químicos, estabilizantes de explosivo, medicinas, adhesivo, división del hidrocarburo, elaboración de los ácidos sulfámicos, agente contra incendio, modificadores de densidad para el almidón o revestimiento de los papeles con base de caseína. (DQI, 2015)

– **Fertilizante**

De la úrea originada alrededor del 90%, se emplea como fertilizante. Se hecha al suelo y abastece nitrógeno a las plantas. Además, se usa urea de bajos contenidos de biuret (menor al 0.03%) como fertilizante de utilización foliar. (DQI, 2015), Como fertilizante foliar, disuelta en el agua, es aplicada en las hojas de la planta, sobre todo en árboles frutales como el cítrico. (DQI, 2015)

Como fertilizante presentan una serie de ventajas, al proporcionar elevados contenidos de nitrógeno, los cuales son esenciales en el metabolismo de las plantas ya que se relacionan de forma directa con las cantidades de tallo y hojas; tanto el tallo como las hojas absorben la luz para la fotosíntesis, también el nitrógeno se encuentra presente en la vitamina y proteína, y está en estrecha relación con los contenidos proteicos del cereal. (DQI, 2015)

Los granos de úrea se aplican al suelo, los cuales deben estar bien trabajados y ser ricos en bacteria. Las aplicaciones pueden realizarse en el inicio de la siembra o antes. Después los granos se hidrolizan y se descomponen. Debe tener cuidado en las correctas aplicaciones de la urea al suelo. (DQI, 2015)



Si ésta es añadida en la superficie, o si no se añade al suelo, ya sea por una buena aplicación, lluvias o riegos, los amoníacos se vaporizan y la pérdida es muy importante. La falta de nitrógeno en las plantas se manifiesta en el descenso de las áreas foliares y una baja de las actividades fotosintéticas. (DQI, 2015)

– **Fertilización foliar**

La fertilización foliar es una vieja práctica, generalmente se aplica una cantidad relativa exigua en relación a la del suelo, en especial de un macronutriente. (DQI, 2015)

En cambio, diferentes estudios se demuestran que el uso de la úrea bajo de biuret, permite que se reduzca la dosis del fertilizante aplicado al suelo, sin perder los rendimientos, tamaños y calidad de las frutas. (DQI, 2015)

– **Industria química y plástica**

Está presente en un adhesivo, plástico, resina, tinta, producto farmacéutico y acabado para un producto textil, papeles y metal. (DQI, 2015)

– **Como suplemento alimentario para ganado**

Se agrega a los alimentos del ganado y proporcionando el nitrógeno, lo cual es fundamental en la formación de proteínas. (DQI, 2015)

– **Estimulador de microorganismos.**

La urea disuelta en agua, se aplica a los suelos afectados por hidrocarburos, grasas y carburantes, como fertilizante proporciona elevados contenidos de nitrógeno, lo cual es necesario en el metabolismo del microorganismo y el aumento de la colonia presente en el suelo. (DQI, 2015)

– **Reacciones con otros microorganismos (bacterias)**

Boccolini *et al* (2016) considera que la fertilización nitrogenada prolongada con urea aumentó el aporte de rastrosos y MOS (Materia



orgánica del suelo), pero no generó cambios en la materia orgánica particulada. No obstante, a partir de la mineralización, el Nitrógeno de dicha fracción podría actuar como sustrato para los microorganismos nitrificantes del suelo. La disminución del pH edáfico, no afectó negativamente a la comunidad de nitrificantes. La urea representó una fuente de sustrato a partir del aporte de N, aumentando la abundancia y diversidad de las BOA (bacterias oxidantes de amoníaco)

La actividad nitrificante potencial no reflejó estos cambios, sin embargo, el contenido de nitrato fue mayor en los tratamientos con aplicación Boccolini *et al* (2016)

3.3 Marco conceptual

- a) **Agrotóxicos.** Son amplios conjuntos de una sustancia química, orgánica e inorgánica, que se utiliza para que se combata la plaga, mala hierba o enfermedad de la planta, en especial en un cultivo intensivo.
- b) **Aleatoria.** Cuando es seleccionada casualmente y todos los miembros tienen iguales oportunidades de ser incluidos en el estudio
- c) **Aplicación.** Es la acción de aplicar un tratamiento necesario para evaluar su efecto en la investigación, esta aplicación puede ser de forma líquida o sólida.
- d) **Análisis de suelos.** Acción que se inicia con el muestro de suelo y el resultado del análisis de sus propiedades químicas, físicas y biológicas, que es necesario saber para iniciar un proceso de fertilización para cultivar plantas.
- e) **Bioaumentación.** Es la adición de colonias de bacterias y/o microorganismos, que es necesario para que acelere la degradación de los contaminantes.
- f) **Bioestimulación.** Es un proceso que supone la incorporación de sustratos o nutrientes en el ecosistema para estimular una existente colonia de bacterias o microorganismos que tienen la capacidad de biorremediar un suelo, entre los nutrientes que destacan esta la urea y el fosforo.



- g) **Biorremediación.** método que usa colonias de microorganismos, plantas o actividad enzimática, para degradar contaminantes y recuperar las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del suelo, y retorne el ecosistema a sus condiciones naturales.
- h) **Catión.** son los iones con carga positiva agrupadas en materias orgánicas por pérdida o ganancia de electrones.
- i) **Características físicas del suelo.** Es la composición proporcional de sus componentes, que son conocidas como propiedad física o mecánica del suelo: entre ellos están las texturas, estructuras, color, permeabilidades, porosidad, drenajes, consistencias, profundidades efectivas.
- j) **Características químicas del suelo.** Corresponde por lo fundamental al contenido de distintas sustancias como los denominados macro nutriente (N, P, Ca, Mg,K,S) y micro nutriente (Fe, Mn,Co,2n;B,MO,Cl) para la planta o para proveer al suelo de una diferente característica (Carbono orgánico, carbono cálcico, fe en diferentes estados). Nos permite que se reconozca una cierta cualidad del suelo cuando se provoca un cambio químico o reacciones del mismo. Las fundamentales son: Las materias orgánicas, las fertilidades y la acidez-alcalinidad.
- k) **Características microbiológicas del suelo.** Es la conformación de microfaunas de los suelos, como colonias del hongo, bacteria, nematodo, insecto y lombriz, el cual mejora la condición del suelo apresurando las descomposiciones y mineralización de la materia orgánica.
- l) **Degradación de petróleo.** Proceso mediante el cual ciertas especies de microorganismo como bacterias, hongos, actinomicetos y protozoos, con capacidad degradativa, obtienen nutrientes por digestión del petróleo, descomponiendo en compuestos orgánicos como el CO₂ y el agua, que retornan al medio ambiente.
- m) **Evaluación.** La evaluación hace referencia a unos procesos por medio de las cuales algunas o diversa característica de un conjunto de material o tratamiento, programa, etc., recibe las atenciones de quienes evalúan, se analiza y se valora su característica y condición en atención a un parámetro de referencias para que se emitan juicios que sean relevantes para los evaluadores.

- n) **Fertilización:** Aporte de una sustancia orgánica o inorgánica con el objetivo de que se mantenga o aumente la fertilidad de un suelo.
- o) **Fertilizante.** Materia que tiene cantidades apreciables del elemento nutritivo en formas asimilables por la planta.
- p) **Fertilidad de suelo.** Presencia, en el suelo del elemento necesario (materia orgánica, mineral) para el desarrollo de la planta en cantidades suficientes, precisamente equilibrado.
- q) **Hidrocarburos.** Compuesto orgánico formado solo por átomos de carbono e hidrogeno. Se usa como combustibles en un motor de combustiones internas. Es un líquido de elevada viscosidad y forma parte del diésel y combustible de avión.
- r) **Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP).** Grupos de sustancia química que se forma a lo largo de las incineraciones incompletas del carbón, el petróleo, el gas, la madera, la basura y otra sustancia orgánica, como el tabaco y la carne asada al carbón, y es potencialmente tóxica.
- s) **Hidrofilia:** es la propiedad física de la molécula que tiene preferencia a que interactúe con el agua o se disuelva en ella.
- t) **Los hidrocarburos alifáticos.** Es un compuesto orgánico constituido por carbono e hidrógeno, en el cual el átomo de carbono forma una cadena abierta. Los hidrocarburos alifáticos de cadenas abiertas se clasifican en alcano, alqueno y alquino.
- u) **Mineralógico.** Es la ciencia que estudia a los minerales en este caso a todo lo minerales existentes en el suelo.
- v) **Microorganismos eficientes (EM).** Consorcio de microorganismo formado por colonias de bacterias y hongos, que tienen la capacidad de recuperar ambientes contaminados a su estado inicial.
- w) **Microorganismos:** Ser vivo más diminuto que solo puede ser apreciado mediante los microscopios. En estos extensos grupos se puede incorporar al virus, la bacteria,



levadura y mohos que pululan por el planeta tierra. Tiene una organización biológica muy fundamental ya que es unicelular.

- x) **Microorganismos del Suelo.** Componente fundamental del suelo. se encuentra en el suelo, es bacteria, actinomiceto, hongo, alga y protozooario.
- y) **Muestra.** La muestra es un subconjunto representativo de una población. Hay diversos tipos de muestreos. Los tipos de muestras que se seleccionen van a depender de la calidad y cuán representativos se quiera sean los estudios.
- z) **Métodos.** Son los pasos o estrategias a seguir en la ejecución de una actividad investigativa.
- aa) **Osmosis.** Es la mutua influencia entre los nutrientes del suelo de los abonos orgánico en su momento de aplicación en el campo de producción
- bb) **Población.** Son los conjuntos totales de individuos, objeto o medida que posee alguna característica común observable en lugares y en momentos determinados.
- cc) **Producción.** Acto para que se produzca, cosas producidas, actos o modos de que se produzca. Suma del producto de los suelos o de las industrias. Actividad humana dirigida a generar bienes y corresponde al aumento de la biomasa en un producto por unidad de tiempo sin que peligre la estabilidad del ecosistema.
- dd) **Petróleo.** Sustancias compuestas por mezclas del hidrocarburo, de color opaco y olor excesivo, de color negro y más ligero que el agua, sus destilaciones fraccionadas dan un producto de mucha consideración industrial como la gasolina, el alquitrán, los disolventes, entre otros.
- ee) **Relación Carbono nitrógeno.** Porción de carbono con relación a las cantidades nitrógeno que tienen unos materiales.
- ff) **Rendimiento agrícola.** Viene hacer la productividad fraccionada entre la superficie. Las unidades de medidas más utilizadas es la (Tm/Ha).

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1 Tipo y nivel de investigación

Se describe a continuación.

4.1.1 Tipo de investigación

De acuerdo al alcance de su objetivo es experimental, porque se manipulará las variables independientes: (Suelo agrícola con dosis de bioestimulación y suelo agrícola con dosis de bioaumentación), para que se midan sus efectos en la variable dependiente: características de la propiedad física, química, microbiológica y degradación del HTP del suelo contaminado por hidrocarburos.

Según a las características de las variables es de tipo cuantitativo, ya que las variables propiedades físicas, químicas, microbiológicas y degradación de HTP del suelo contaminado por hidrocarburos, es tangible y se pueden obtener a través de mediciones en los sistemas internacionales de medida.

Según la finalidad del estudio, es de tipo aplicativo, ya que el propósito es resolver el problema de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.

4.1.2 Nivel de investigación

Experimental, porque se manipulará la variable independiente (Suelo agrícola con adición de bioestimulante y bioaumentador, en la biorremediación de la propiedad física, química, microbiológica y degradación de petróleo del suelo contaminado por hidrocarburos, utilizando tres niveles de dosis de bioestimulante y tres niveles de bioaumentador para evaluar las propiedades física, química, microbiológica y degradación de hidrocarburos, realizando los estudios en humedad, CIC, pH, densidad aparente, macronutrientes, colonias de microorganismos presentes en el suelo.

Es descriptivo ya que se describirá el comportamiento de las características de la propiedad física, química, microbiológica y degradación de HTP del suelo biorremediado tal y como se aprecia en lo real, dándose a entender dicha característica a través del uso de la tabla y gráfico de las estadísticas descriptivas.

Es transversal puesto que las observaciones de la variable (propiedades física, química y biológica del suelo biorremediado y degradación de hidrocarburos) se realizarán en un solo momento en el tiempo, campaña agrícola 2019.

Es explicativa ya que se plantea explicar el cambio o efecto de las variables características de la propiedad física, química, microbiológica y degradación de HTP del suelo biorremediado, en función de la variable niveles de aplicación de suelo agrícola con adición de bioestimulante y bioaumentador, es decir se establecerá la conexión causa-efecto.

4.1.3 Método de investigación

Se aplicará el método cuantitativo experimental, cuyo procedimiento permitirá validar los efectos de la biorremediación de los suelos contaminados por hidrocarburo, mediante los métodos de bioestimulación y bioaumentación para la degradación de HTP y la recuperación de las características de la propiedad física, química, microbiológica de los suelos

La investigación utilizara la biorremediación ex situ, que consiste en que se extraiga el material (suelos contaminados por hidrocarburos) y trasladarlo al lugar donde se instalaran los biorreactores o macetas para realizar la descontaminación.

4.2 Diseño de la investigación

Es considerada a la estructura y plan de estrategias utilizadas en el proceso de la investigación o el estudio. (Kerlinger, 2002)

En ese sentido, el diseño de la investigación, es la estrategia de concebir y conceptualizar el problema de investigación, para estructurarlo de manera tal que sea una guía o camino a seguir en la experimentación, y su posterior evaluación y análisis de datos. (Moreno, 2013)



El diseño del estudio adoptado es el post test y grupo control, con un arreglo de bloques completos al azar, siendo su diseño de investigación el siguiente:

RUE1	X1	O1
RUE2	X2	O2
RUE3	X3	O3
RUE4	X4	O4
RUE5	X5	O5
RUE6	X6	O6

Donde:

R: Asignación aleatoria, es decir que las unidades elementales fueron asignadas de manera aleatoria a las unidades experimentales

UE: Unidades experimentales

X: Tratamiento o condición experimental

O: Una medición de las variables de las unidades elementales después de la aplicación del tratamiento o estímulo.

El Diseño, a emplearse el Diseño de Bloques Completamente Aleatorizado (DBCA), ya que se considera el principio básico de las experimentaciones: repeticiones y aleatorizaciones. Teniendo en cuenta la efectividad de los tratamientos y la finalidad del estudio para que se compare un promedio de una muestra diferente independiente, para los cuales se plantean al criterio para las opciones de los números de repetición por tratamientos:

En el experimento se aplicaron dosis de bioestimulante y bioaumentación, en ese sentido el diseño del estudio se realizó por Diseño de Bloques Completamente Aleatorizado (DBCA), que fueron distribuidas al azar cada unidad experimental a las que se aplicó el tratamiento.



Tabla 18 — Descripción de los tratamientos del estudio

Clave	Tratamiento
T1	5kg de urea.
T2	10kg de urea.
T3	15kg de urea
T4	5Lt EM-A
T5	10Lt EM-A
T6	15 Lt EM-A
T7	Testigo

El modelo matemático del diseño experimental será el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + G_j + e_{ijk}$$

Y_{ijk} = Es el k-ésimo elemento perteneciente al j-ésimo Tratamiento al i-ésimo bloque.

μ = es la media general

M_i = es el efecto debido al i-ésimo bloque.

G_j = es el efecto debido al j-ésimo tratamiento

e_{ijk} = error experimental

Tomando en cuenta la efectividad de seis (6) tratamientos y un (1) testigo y la finalidad del estudio para que se compare un promedio de una diferente muestra independiente se usó el diseño de bloques completos al azar, para los cuales se propone el criterio para elegir los números de repetición por tratamientos:

- Error tipo I (nivel de significancia) de 0.05
- Error tipo II (potencia de prueba) de 0.95
- Magnitud de la diferencia entre dos medias de tratamiento de 20% (menor a 35%)
- Coeficiente de variación de 5%

De acuerdo a lo planteado se determinó 3 repeticiones por tratamiento, efectuando un total de 21 unidades experimentales, que se indican en la tabla 19.

Tabla 19 — Aleatorización de los tratamientos

UE1 (T5)	UE2 (T1)	UE3 (T7)	UE4 (T4)	UE5 (T6)	UE6 (T2)	UE7 (T3)
UE8 (T7)	UE9 (T4)	UE10 (T1)	UE11 (T3)	UE12 (T2)	UE13 (T5)	UE14 (T6)
UE15 (T6)	UE16 (T3)	UE17 (T1)	UE18 (T2)	UE19 (T7)	UE20 (T4)	UE21 (T5)

La tabla indica el resultado de la aleatorización en la unidad experimental (UEi) de acuerdo al tratamiento donde:

UE1, UE2, ..., UE21 = Número de unidades experimentales

(T1, T2, ..., T07) = Número de tratamientos

Visualizamos que todas las unidades experimentales, de los tratamientos fueron asignados de manera aleatoria, cumpliendo de manera satisfactoria los supuestos de libertad.

4.3 Descripción ética de la investigación

La investigación utilizó un método de biorremediación no destructivo; en los tratamientos se utilizaron productos no fiscalizados es decir productos que no cuentan con restricción alguna, tales como las colonias de microorganismos eficientes (EM) y el fertilizante UREA, asimismo estos tratamientos no contaminan el medio ambiente.

En la redacción del informe final de la tesis, se ha citado y referenciado de acuerdo al estilo ISO 690, respetando los derechos de autor y propiedad intelectual. Por lo tanto, se ha cumplido con el código de ética del investigador que establece la universidad.

4.4 Población y muestra

Se describe a continuación:

4.4.1 Población

La población estuvo formada de suelo contaminado por hidrocarburos 1 m³, se planteó 42 kg por unidad experimental y un total de 882 kg, que fueron dispuestas en el diseño DBCA de 7x3, me muestra en la siguiente tabla:



Tabla 20 — Distribución de las unidades experimentales

Tratamientos	Tratamientos	Repeticiones	Nº Unidades experimentales
5kg de urea.	1	3	3
10kg de urea.	1	3	3
15kg de urea	1	3	3
5Lt EM-A.	1	3	3
10Lt EM-A.	1	3	3
15Lt. EM-A	1	3	3
Testigo	1	3	3
Total, unidades Experimentales			21

4.4.2 Muestra

a) Técnica de muestreo

El muestreo para las variables dependientes fue bajo el método probabilístico, a través del muestreo aleatorio simple.

b) Cálculo del tamaño de la muestra

El cálculo del tamaño de las muestras se determinó por los métodos probabilísticos, ya que se conocen las dimensiones de la población, se estimó tomando en cuenta las pruebas del 95 % de probabilidad y 5 % de error. variaciones positivas y negativas ($p=q$) del 50% y se aplicó la posterior ecuación:

$$n = \frac{N * z^2 * p * q}{(N - 1) * e^2 + z^2 * p * q}$$

Tenemos lo siguiente:

n: Tamaño de la muestra

N: población en estudio 882kg (suelo biorremediado)

Z: Parámetros estadísticos que dependen del nivel de confianza, en el estudio es de 95 % de probabilidades = 1.96

p: Probabilidades de que ocurran los eventos estudiados es 50%

q: (1-p) Probabilidades de que no ocurran los eventos estudiados es 50%

e: error igual al 5 %

Reemplazando el valor se establece 268 kg. de suelo biorremediado.

4.5 Procedimiento

La investigación, inicio tomando en cuenta lo siguiente:

4.5.1 Actividades en campo e instalación

Etapa I. Activación del bioaumentador (microorganismos eficientes)

Esta etapa se realizó el 19 de julio del 2020, que consistió en la activación de los microorganismos eficientes (EM), utilizando las siguientes proporciones:

- 5% de Microorganismos eficientes (EM-Compost)
- 5% de melaza de caña
- 90% de agua

Una vez realizado la mezcla fue colocada en un bidón, para la activación. Después de 7 días esta apto para el uso y se denomina microorganismos eficientes activados (EM-A). Para el experimento se utilizaron bidones de 20 litros.

Etapa II. Disposición del suelo contaminado por hidrocarburos.

Fue extraído de forma manual el suelo contaminado por hidrocarburos del lugar donde manipulan las maquinarias, tomando en cuenta las áreas delimitadas por las plumas de contaminación, para disponerlos de manera equitativa en los biorreactores (macetas).

El suelo contaminado por hidrocarburos, fue extraído el 20 de julio del 2020, de la planta de concentradora de minerales, ubicado en el fundo Saywa, de la localidad de Lucre, distrito de Curasco, Provincia de Grau, Departamento de Apurímac.

Etapa III. Ubicación y diseño

El experimento, se instaló en el fundo de la Familia Pumacayo ubicado en la localidad de Hahuapampa, del distrito de Vilcabamba, provincia de Grau, Departamento Apurímac.

Se instalo y se acondiciono el experimento el 26 de julio del 2020, se utilizaron materiales como yute y malla raschel para evitar la presencia de agentes externos como insectos y otros.

Se ubico los biorreactores o macetas de acuerdo al diseño experimental (DBCA), contando con que todo el proceso tenga un espacio para la manipulación de las

muestras de suelo, ventilación, hidratación, para los cuales se dispuso de una cuneta para que se evite la entrada del agua.

Etapa IV: Instalación de macetas

Se instalo el 27 de julio del 2021, los biorreactores o macetas de acuerdo a los tratamientos planteados cuidando las condiciones de aleatorización y repetitividad, de acuerdo al croquis experimental. Se peso el suelo utilizando una balanza de precisión colocando la cantidad de 10 kg. de sustrato (Suelo agrícola y suelo contaminado) en cada maceta; haciendo un total de 21 macetas.

Etapa V. Aplicación del bioestimulante y bioaumentador

a) Bioestimulante.

Con la balanza se procede al pesado de la urea en función a los niveles por cada tratamiento descritas en la tabla 8., se realiza una solución con agua para la aplicación en cada unidad experimental.

La aplicación del bioestimulante se realiza de acuerdo a las fechas:

- Primera aplicación el 10 de agosto del 2020
- Segunda aplicación: 10 de octubre del 2020
- Tercera aplicación: 10 de enero del 2021

b) Bioaumentador

Se procede a medir con una probeta los microorganismos eficientes, en función a los niveles por cada tratamiento descritas en la tabla 8. Se realiza una solución con agua para la aplicación en cada unidad experimental.

La aplicación del bioaumentador se realiza de acuerdo a las fechas:

- Primera aplicación el 10 de agosto del 2020
- Segunda aplicación: 10 de octubre del 2020
- Tercera aplicación: 10 de enero del 2021

Etapa VI. - Ejecución de actividades del tratamiento

Es la actividad, para brindar los cuidados en el proceso de biorremediación, son las siguientes:



a) Revolver el suelo:

Esta actividad se realizó cada semana después de la instalación de los sustratos y la aplicación de los tratamientos, que consistió en la revuelta del suelo con la herramienta azadón pequeño para favorecer la aireación o ventilación, para mejorar en las estructuras y quebrar el agregado grande del sustrato.

Asimismo, la ventilación o aireación permite que se mezcle de manera uniforme los tratamientos con el sustrato. favorece a los crecimientos bacterianos y a la destitución aerobia del hidrocarburo

b) Hidratación:

Esta actividad se realizado adicionando agua una vez por semana, para favorecer a los crecimientos bacterianos, además a que mejore su forma y sean manejables los sustratos tratados.

Etapa VII. Toma de muestras

En fecha 10 de marzo del 2021, se tomó la muestra, dicha muestra fue tomada al concluir el proceso de la biorremediación, dichas muestras fueron enviadas al laboratorio para para su análisis correspondiente.

Se tomo un kilogramo de suelo biorremediado por cada tratamiento incluido el testigo, y por seguridad una muestra adicional de un kilogramo por tratamiento.

4.5.2 Análisis de muestra y evaluación de parámetros

a) Análisis de muestra

Tomadas las muestras, en fecha 15 de marzo del 2021, las mismas que fueron enviadas al Laboratorio SLab- Sistemas de Servicios y Análisis Químicos SAC., ubicado en la ciudad de Lima.

Estas muestras enviadas fueron para que el análisis correspondiente y efectuó las comparaciones de los tratamientos sobre concentraciones de TPH, en los sustratos, es decir para evaluar la degradación de los HTP en la recuperación de las propiedades: física, química y microbiológica del suelo.

b) Evaluación de los parámetros:

Las variables a evaluar es la degradación de los HTP y la biorremediación de las propiedades: físicas, químicas y microbiológicas del suelo.

En fecha 30 de setiembre del 2021, la empresa entrego los resultados del análisis de los suelos biorremediados, los mismos que fueron realizados en función de las variables e indicadores establecidos de acuerdo a la siguiente tabla.

Tabla 21 — Variables a evaluar

Variable a evaluar	Indicador	Índices
Biorremediación de las características de las propiedades físicas de suelo.	- Textura - Humedad - Porosidad - Densidad aparente	- Clase textural - % - % - g/cc
Biorremediación de las características de las propiedades químicas de suelo.	- pH - CIC - Macro elementos	- Acides y alcalinidad - meq/100 g - % NPK
Biorremediación de las características de las propiedades biológicas de suelo.	- Bacterias - Hongos	- Ufc/gr - Ufc/gr
Degradación de hidrocarburos totales de petróleo	- TPH	- Gr/kg de S°

4.5.3 Materiales necesarios para la investigación

Para el desarrollo y ejecución de la investigación, utilizamos los siguientes materiales, insumos, equipos entre otros que describo a continuación:

a) Materiales y equipos utilizados en el campo

- Alambres
- Picos
- Palas
- Rastrillo
- Malla rashel
- Yute



- Regadora
- Manguera
- Bolsas de polietileno
- Pabilo
- Estacas
- Azadón
- Balanza

b) Biológico y de experimentación

- Microorganismos eficientes
- Úrea

c) De oficina

- Computadora
- Impresora
- Cámara fotográfica
- Calculadora
- Libreta de campo
- Lápiz
- Lapicero
- Cámara fotográfica

4.6 Técnica e instrumentos

Se describe a continuación

4.6.1 Técnicas de investigación

La información que se generó en la ejecución de la presente investigación, lo registre en la ficha de evaluación y el cuaderno de campo; se registró la información de cada tratamiento, el instrumento para medir el peso de las muestras fue la balanza de precisión. Asimismo, se tomó información teniendo en cuenta las variables de la investigación y la operacionalización de las variables, generando información ordenada para realizar el procesado de los datos.

Para el procesamiento de la información generada en la investigación, utilizamos el programa, Microsoft Excel, Microsoft Word y él y PASW Statistics 25. El dato

obtenido previamente ha sido homogenizado, calculando el promedio por un tratamiento y repetición de acuerdo a la variable observadas, después fue sometido al cumplimiento de la condición de los diseños experimentales:

4.6.2 Técnicas estadísticas

Para el procesado de la información, primeramente, homogenizamos los datos a un m³ de suelo y previamente al procesado de los resultados, se cumplió con los siguientes supuestos:

Homogeneidad de varianzas

Normalidad de datos

4.7 Análisis estadístico

Se describe a continuación

4.7.1 Homogeneidad de varianzas

Para realizar la prueba de ANOVA, verificamos dicha condición, mediante la prueba de Levene. Utilizamos la regla para rechazar la hipótesis de homogeneidad es si el valor p (Sig.) es menor que 0.05.

Tabla 22 — Prueba de homogeneidad de varianzas de las variables

Variables	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
% Arena	0.568	2	18	0.576
% Limo	0.449	2	18	0.645
% Arcilla	1.386	2	18	0.276
% Humedad relativa	0.299	2	18	0.745
% Porosidad	1.245	2	18	0.312
Densidad aparente mg/m ³	0.113	2	18	0.894
THP gr/Kg de suelo	0.004	2	18	0.996
pH (Acides-Alcalinidad)	0.005	2	18	0.995
CIC meq/100mg	0.014	2	18	0.987
% Nitrógeno	0.597	2	18	0.561
% Fósforo	0.001	2	18	0.999
% Potasio	0.002	2	18	0.998
Bacterias Ufc/gr	0.001	2	18	0.999
Hongos Ufc/gr	0.000	2	18	1.000

Hipótesis de homogeneidad:

Ho: Las varianzas de las variables en estudio son iguales

H1: Las varianzas de las variables en estudio son diferentes

Según la tabla 22. El valor de la significancia es superior a 0.05 (Sig.>0.05) concluimos que no rechazamos la hipótesis nula y aceptamos que las variables de la investigación son iguales es decir homogéneas.

4.7.2 Normalidad de datos

La prueba de normalidad, fue comprobada utilizando el estadístico Shapiro-Wilk, contrastando la hipótesis, que las muestras tomadas tienen como procedencia de una población normal.

La regla para rechazar la hipótesis de normalidad fue si el valor p (Sig.) es menor que 0.05, se rechaza la Hipótesis nula.

Tabla 23 — Prueba de normalidad de las variables

Variable	Significancia de los tratamientos al 95%						
	T1= 5kg-Urea	T2=10Kg-Urea	T3= 15Kg-Urea	T4=5Lt-EM-A	T5=10Lt-EM-A	T6=15Lt-EM-A	T7= Testigo
% Arena	0.982	0.490	0.220	0.394	0.664	0.915	0.560
% Limo	0.139	0.878	0.949	0.369	0.497	0.202	0.605
% Arcilla	0.850	0.814	0.774	0.852	0.557	0.388	0.882
% Humedad relativa	0.430	0.527	0.605	0.927	0.496	0.824	0.220
% Porosidad	0.381	0.520	0.278	0.206	0.971	0.728	0.710
Densidad aparente mg/m3	0.832	0.163	0.344	0.731	0.342	0.780	0.851
THP gr/Kg de suelo	0.790	0.832	0.290	0.537	0.198	1.000	0.579
pH (Acides-Alcalinidad)	0.738	0.691	0.115	0.363	0.225	0.882	0.466
CIC meq/100mg	0.954	0.337	0.780	0.138	0.187	0.268	0.545
% Nitrógeno	0.578	0.144	0.085	0.089	0.192	0.085	0.274
Fósforo (ppm)	0.910	0.312	0.139	0.616	0.159	0.883	0.964
Potasio (ppm)	0.107	0.125	0.398	0.355	0.142	0.125	0.988
Bacterias Ufc/gr	0.780	0.114	0.637	0.174	0.792	0.988	0.490
Hongos Ufc/gr	0.277	0.234	0.476	0.661	0.480	0.994	0.407

a. Corrección de significación de Lilliefors



Hipótesis de normalidad.

Ho: Los datos provienen de una distribución normal

H1: Los datos no provienen de una distribución normal

Al observar los niveles de significancia para cada variable y tratamiento se observa que los valores son mayores que 0.05 (Sig.>0.05) por lo que no se puede rechazar Ho, en ese sentido se acepta que los datos proceden de una distribución normal.

Luego del cumplimiento de normalidad y homogeneidad de variables, procedí a procesar los datos, para dar respuesta a los objetivos de la investigación, mediante los estadísticos descriptivos y la hipótesis de la investigación con la prueba de análisis de varianza y Tukey.

4.7.3 Hipótesis estadísticas

Se probó las hipótesis, mediante la tabla ANOVA y el estadístico F de Fisher.

Tabla 24 — ANOVA

Modelo	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Media Cuadrática	Fc
Bloque	SCBL	b-1	MCBL = SCBL/(b-1)	$\frac{MCTR}{MCE}$
Tratamiento	SCTR	t-1	MCTR = SCTR/(t-1)	
Error	SCE	n-b-t+1	MCE = SCE/(n-b-t+1)	
Total	SCT	n-1		

Donde:

- SCBL : Suma de cuadrados del bloque
- SCTR : Suma de cuadrados del tratamiento
- SCE : Suma de cuadrados del error
- SCT : Suma de cuadrados del total
- b : Número de bloques
- t : Número de tratamientos
- MCBL : Media cuadrática de bloques
- MCTR : Media cuadrática de tratamientos
- MCE : Media cuadrática del error experimental



Fc : F de Fisher calculado.

a) **Hipótesis estadísticas**

Formulación de hipótesis nulas y alternas

En la prueba de hipótesis, planteamos las hipótesis nulas y alternas (hipótesis estadísticas) tomando en consideración las hipótesis de investigación, de acuerdo a los siguiente:

Hipótesis para tratamientos:

H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$; (El efecto de los tratamientos en la variable Xi es el mismo)

H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$; (Existe un efecto atribuible a los tratamientos en la variable Xi)

Donde:

H0: Hipótesis nula

H1: Hipótesis alterna

μ_1 : Promedio de las variables Xi en el tratamiento 1

μ_2 : Promedio de las variables Xi en el tratamiento 2

μ_3 : Promedio de las variables Xi en el tratamiento 3

μ_4 : Promedio de las variables Xi en el tratamiento 4

μ_5 : Promedio de las variables Xi en el tratamiento 5

μ_6 : Promedio de las variables Xi en el tratamiento 6

μ_7 : Promedio de las variables Xi en el tratamiento 7

Hipótesis para bloques

H0: $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3 =$; (El efecto de los bloques en la variable Xi es el mismo)

H1: $\beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$; (Existe un efecto atribuible a los bloques en la variable Xi)

Donde:

β_1 : Promedio de las variables Xi en el bloque 1

β_2 : Promedio de las variables Xi en el bloque 2

β_3 : Promedio de las variables Xi en el bloque 3



b) Estadístico

La selección del estadístico para la prueba de hipótesis, fue mediante la significancia (Sig.) definido como la máxima probabilidad de cometer el error tipo I, fijando alfa en 0.05, luego tomamos la decisión de rechazar la hipótesis nula (H_0) si la significancia de la tabla ANOVA es menor que 0.05 (Sig. < 0.05).

c) Nivel de significancia

El nivel de significancia definido es de 0.05 para la prueba de hipótesis para cada factor independiente. Para la prueba de comparación múltiple de promedios con el método de Tukey el nivel de significancia es de 0.05

d) Región crítica o regla de decisión

Se contrastó la hipótesis nula $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$ frente a la hipótesis alterna: $H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

e) Condiciones para rechazar o aceptar las hipótesis

Se rechazó H_0 cuando el valor de la significancia (Sig.) < 0,05



CAPÍTULO V RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis de resultados

Se describe los resultados para cada uno de los objetivos observados por efecto de la aplicación de los tratamientos.

5.1.1 Biorremediación de las propiedades físicas del suelo

La evaluación lo realicé a los 210 días (7 meses) después de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación, los resultados se expresan a continuación.

a) Textura del suelo

Se evaluó el contenido el porcentaje de arena, limo y arcilla, presente en los tratamientos:

Tabla 25 — Estadísticos descriptivos: arena, limo y arcilla en la textura de suelos

Tratamiento	% Arena				% Limo				% Arcilla			
	Media	Desv. Tip	Intervalo de confianza para la media al 95%		Media	Desv. Tip	Intervalo de confianza para la media al 95%		Media	Desv. Tip	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Lím. inferior	Lím. superior			Lím. inferior	Lím. superior			Lím. inferior	Lím. superior
T1= 5kg-Úrea	26.08	0.93	23.78	28.38	45.38	0.76	43.50	47.26	27.98	0.22	27.43	28.53
T2= 10kg-Úrea	30.60	0.49	29.38	31.82	40.98	0.32	40.19	41.76	28.04	0.39	27.08	29.00
T3= 15kg-Úrea	30.91	0.13	30.59	31.23	38.01	0.43	36.94	39.08	30.95	0.34	30.10	31.80
T4=5Lt-EM-A	26.59	0.54	25.25	27.92	45.14	0.36	44.23	46.04	28.09	1.01	25.59	30.59
T5=10Lt/EM-A	30.87	0.66	29.23	32.51	41.44	0.54	40.09	42.79	28.20	0.77	26.30	30.11
T6=15Lt/EM-A	31.01	0.26	30.37	31.66	38.53	1.14	35.71	41.36	31.22	0.60	29.74	32.70
T7=Testigo	26.91	0.33	26.10	27.73	39.08	0.34	38.24	39.92	30.98	0.28	30.28	31.68

- **Arena.** Se evaluó el contenido en porcentaje de arena presente en los tratamientos,



Los resultados de porcentaje de arena en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación, se tiene el tratamiento con 15Lt de EM-A (T6) con un valor promedio de 31.01% de contenido de arena, luego el tratamiento con 15Kg de Urea (T3) con un valor de 30.91%, de contenido de arena en el suelo, luego el tratamiento con 10 Lt de EM-A (T5) con un valor promedio de 30.87% de contenido de arena en el suelo.

Seguidamente el tratamiento 10 Kg de Úrea (T2) con un valor de 30.60%, de contenido de arena en el suelo, posteriormente el testigo tiene un valor de 26.91% de contenido de arena en el suelo; seguidamente el tratamiento 5Lt de EM-A (T4) con 26.59% de arena en el suelo y finalmente el tratamiento con 5kg de Úrea (T1) con un valor promedio de 26.08%.

- **Limo.** Se evaluó el contenido en porcentaje de limo presente en los tratamientos.

Los resultados de porcentaje de limo en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación, se tiene el tratamiento con 5Kg de Úrea (T1) con un valor de 45.38%, de contenido de limo en el suelo, luego el tratamiento con 5Lt de EM-A (T4) con un valor de 45.14% de contenido de limo en el suelo, luego el tratamiento con 10Lt de EM-A (T5), con un valor promedio de 41.44%, de contenido de limo en el suelo, seguido por el tratamiento 10Kg de Úrea (T2) con un valor de 40.98%, de contenido de limo en el suelo.

Seguidamente por el tratamiento testigo (T7) con un valor de 39.08% de contenido de limo en el suelo, seguidamente el tratamiento 15Lt de EM-A, con un valor promedio de 38.53% de contenido de limo en el suelo y finalmente el tratamiento con 15Kg. de Úrea (T3) con un valor promedio de 38.01%.

- **Arcilla.** Se evaluó el contenido en porcentaje de arcilla presente en los tratamientos.



Los resultados de porcentaje de arcilla en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación, se tiene el tratamiento con 15Lt de EM-A (T6) con un valor promedio de 31.22%, de contenido de arcilla en el suelo, luego el tratamiento testigo (T7) con un valor promedio de 30.98% de contenido de arcilla en el suelo, seguido por el tratamiento 15Kg de Urea (T3) con un valor promedio de 30.95% de contenido de arcilla en el suelo.

Seguido por el tratamiento 10 Lt de EM-A (T5) con un valor promedio de 28.20% de contenido de arcilla en el suelo, seguido por el tratamiento 5Lt de EM-A (T4) con un valor promedio de 28.09% de contenido de arcilla en el suelo, seguido por el tratamiento 10Kg. de Urea (T2) con un valor de 28.04% de contenido de arcilla en el suelo y finalmente el tratamiento 5Kg de Urea con un valor promedio de 27.98% de contenido de arcilla en el suelo.

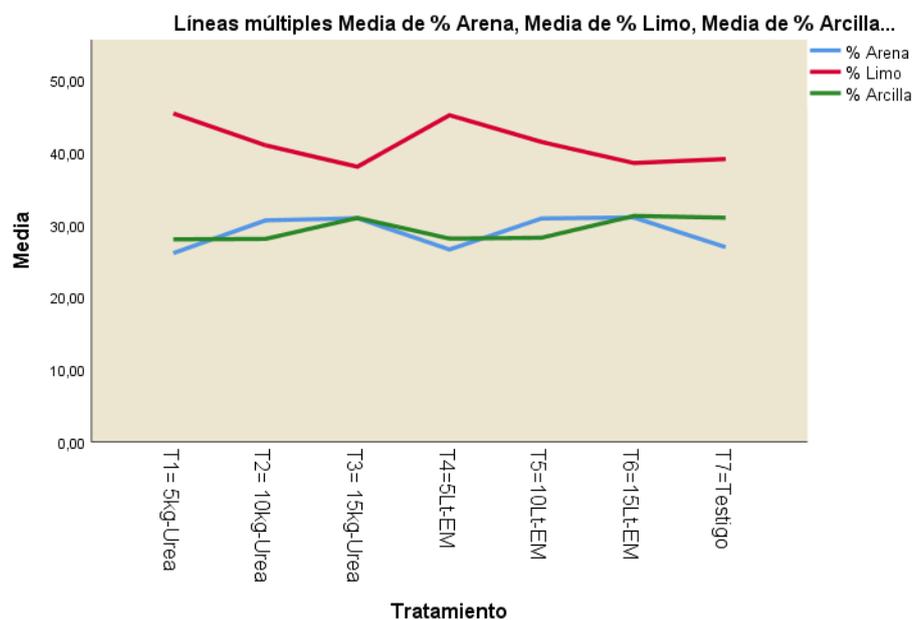


Figura 9 — Perfil de medias de arena, limo y arcilla en suelos

Cabe manifestar que en la tabla 25, muestra que el promedio para porcentaje de arena, el tratamiento 15Lt de EM-A (T6) se encuentra entre 30.37% a 31.66% al 95% de probabilidades y tiene una variabilidad de más o menos de 0.26% en dicho tratamiento. También el promedio para porcentaje de limo, el tratamiento 5Kg de Urea (T1) se encuentra entre 43.50% a 47.26% al 95% de probabilidades y tiene una variabilidad de más o menos de 0.76% en dicho tratamiento.



Finalmente se muestra que el promedio para porcentaje de arcilla, el tratamiento 15Lt de EM-A (T6) se encuentra entre 29.74% a 32.70% al 95% de probabilidades y tiene una variabilidad de más o menos de 0.60% en dicho tratamiento.

b) Humedad

Se evalúa la humedad con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación

Tabla 26 — Estadísticos descriptivos humedad en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Úrea	9.1224	0.0072	9.1046	9.1402
T2= 10kg-Úrea	9.1521	0.0075	9.1334	9.1708
T3= 15kg-Úrea	9.1908	0.0034	9.1824	9.1992
T4=5Lt-EM-A	11.1598	0.0203	11.1095	11.2101
T5=10Lt-EM-A	12.7395	0.0374	12.6466	12.8324
T6=15Lt-EM-A	13.3933	0.1017	13.1407	13.6459
T7=Testigo	5.4150	0.0327	5.3338	5.4962



Figura 10 — Perfil de medias de humedad en suelos

Los resultados de porcentaje de humedad en los suelos evaluados, después de 210 días de instalación y aplicación del bioestimulante y la bioaumentación,



En la tabla 26 y figura 10, se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6) tienen mayor efecto en el porcentaje de humedad en el suelo ya que alcanzó el promedio de 13.39 % con una variabilidad de $\pm 0.10\%$, mostrando valores de 13.14% a 13.64% a un nivel de confianza al 95%, analizando en orden decreciente, se observa el tratamiento a base de 10lt de EM-A (T5) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 12.73%, con una variabilidad de $\pm 0.03\%$, mostrando valores de 12.64% a 12.83% a un nivel de confianza al 95%, luego el tratamiento a base de 5lt de EM-A (T4) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 11.15%, con una variabilidad de $\pm 0.02\%$, mostrando valores de 11.10% a 11.21% a un nivel de confianza al 95%.

Seguidamente el tratamiento a base de 15kg de Úrea (T3) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 9.19%, con una variabilidad de $\pm 0.003\%$, mostrando valores de 9.18% a 9.19% a un nivel de confianza al 95%, sucesivamente el tratamiento a base de 10kg de Úrea (T2) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 9.15%, con una variabilidad de $\pm 0.007\%$, mostrando valores de 9.13% a 9.17% a un nivel de confianza al 95%; asimismo el tratamiento a base de 5kg de Úrea (T1) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 9.12%, con una variabilidad de $\pm 0.007\%$, mostrando valores de 9.10% a 9.14% a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, los tratamientos antes analizados son superiores al tratamiento testigo que alcanzó el promedio de 5.41% con un comportamiento con una variabilidad de $\pm 0.03\%$, mostrando valores de 5.33% a 5.49% a un nivel de confianza al 95%.

Por lo tanto, el tratamiento a base de 15lt de EM-A (T6), muestra mejor comportamiento en la conservación de humedad con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

c) Porosidad

Se evalúa la porosidad con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación



Tabla 27 — Estadísticos descriptivos porosidad en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Úrea	48.31	0.83	46.24	50.38
T2= 10kg-Úrea	48.92	0.09	48.69	49.15
T3= 15kg-Úrea	47.88	0.17	47.45	48.30
T4=5Lt-EM-A	50.13	0.28	49.44	50.82
T5=10Lt-EM-A	49.57	0.58	48.14	51.00
T6=15Lt-EM-A	50.57	0.63	49.00	52.14
T7=Testigo	46.96	0.25	46.34	47.57

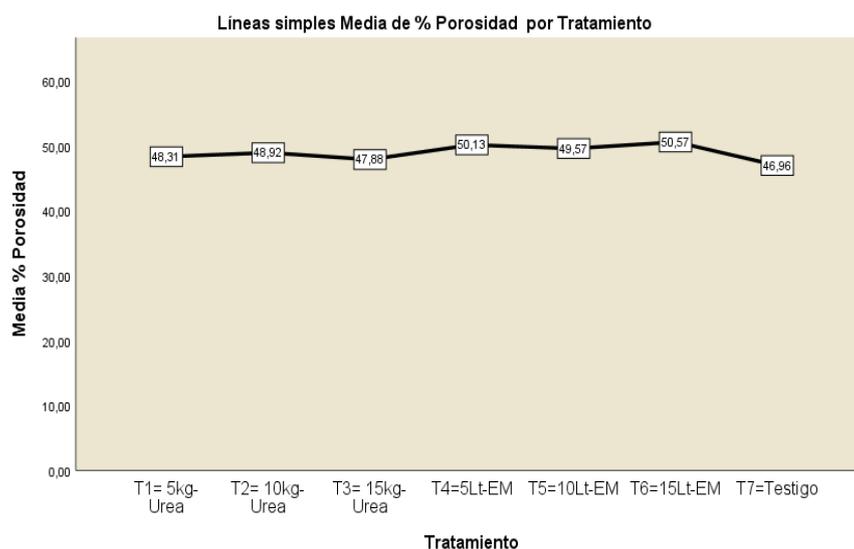


Figura 11 — Perfil de medias porosidad en suelos

Los resultados de porcentaje de porosidad en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación,

En la tabla 27 y figura 11, se aprecia que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6) tienen mayor efecto en el porcentaje de porosidad en el suelo ya que alcanzó el promedio de 50.57 % con una variabilidad de $\pm 0.63\%$, mostrando valores de 49.00% a 52.14% a un nivel de confianza al 95%, analizando en orden decreciente, se observa el tratamiento a base de 5Lt de EM-A (T4) tiene efecto en el porcentaje de porosidad con un valor de 50.13%, con una variabilidad de $\pm 0.28\%$, mostrando valores de 49.44% a 50.82% a un nivel de confianza al 95%, luego el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) tiene efecto en el porcentaje de porosidad con un valor de 49.57%, con una variabilidad de $\pm 0.58\%$, mostrando valores de 48.14% a 51.00% a un nivel de confianza al 95%.



Seguidamente el tratamiento a base de 10kg de Úrea (T2) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 48.92%, con una variabilidad de $\pm 0.09\%$, mostrando valores de 48.69% a 49.15% a un nivel de confianza al 95%, sucesivamente el tratamiento a base de 5kg de Úrea de (T1) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 48.31%, con una variabilidad de $\pm 0.83\%$, mostrando valores de 46.24% a 50.38% a un nivel de confianza al 95%; asimismo el tratamiento a base de 15kg de Úrea (T3) tiene efecto en el porcentaje de humedad con un valor de 47.88%, con una variabilidad de $\pm 0.17\%$, mostrando valores de 47.45% a 48.30% a un nivel de confianza al 95%.

Los tratamientos antes analizados son superiores al tratamiento testigo que alcanzó el promedio de 46.96% con un comportamiento con una variabilidad de $\pm 0.25\%$, mostrando valores de 46.34% a 47.57% a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15lt de EM-A (T6), muestra mejor comportamiento en el mantenimiento de la porosidad en el suelo con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

d) Densidad aparente

Se evalúa la densidad aparente con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación

Tabla 28 — Estadísticos descriptivos densidad aparente en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Úrea	1.3128	0.0030	1.3054	1.3202
T2= 10kg-Úrea	1.3414	0.0029	1.3342	1.3487
T3= 15kg-Úrea	1.3192	0.0011	1.3164	1.3219
T4=5Lt-EM-A	1.3871	0.0027	1.3805	1.3938
T5=10Lt-EM-A	1.4052	0.0070	1.3878	1.4227
T6=15Lt-EM-A	1.3867	0.0063	1.3710	1.4023
T7=Testigo	1.3282	0.0019	1.3236	1.3328



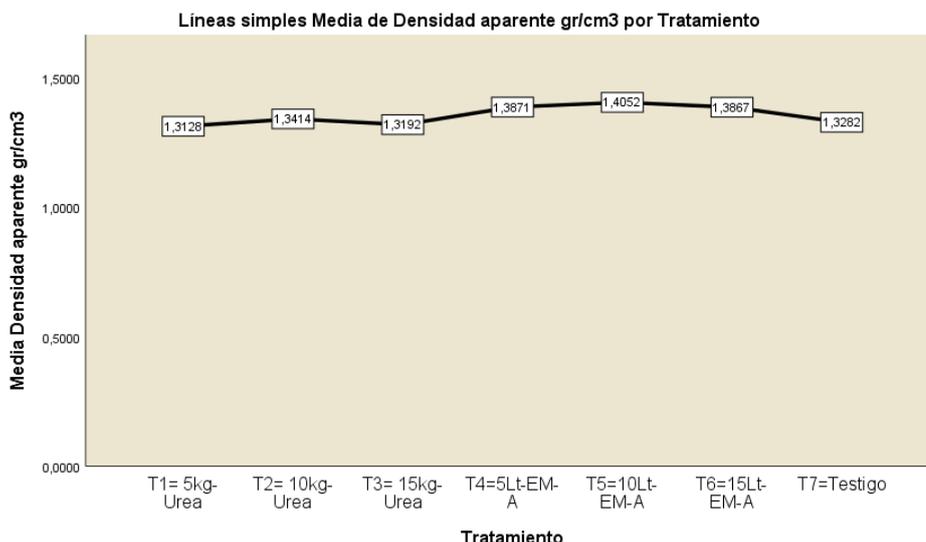


Figura 12 — Perfil de medias densidad aparente en suelos

Los resultados de porcentaje de porosidad en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

En la tabla 28 y figura 12 se aprecia que el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) tienen mayor efecto en la densidad aparente en el suelo ya que alcanzó el promedio de 1.4052 gr/cm³ con una variabilidad de ± 0.0070 gr/cm³, mostrando valores de 1.3878 gr/cm³ a 1.4227 gr/cm³ a un nivel de confianza al 95%, analizando en orden decreciente, se observa el tratamiento a base de 5lt de EM-A (T4) tiene efecto en la densidad aparente en el suelo ya que alcanzó el promedio de 1.3871 gr./cm³ con una variabilidad de ± 0.0027 gr/cm³, mostrando valores de 1.3805 gr/cm³ a 1.3938 gr/cm³ a un nivel de confianza al 95%, luego el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6) tiene efecto en la densidad aparente en el suelo ya que alcanzó el promedio de 1.3867gr/cm³ con una variabilidad de ± 0.0063 gr/cm³, mostrando valores de 1.3710 gr/cm³ a 1.4023gr/cm³ a un nivel de confianza al 95%.

Seguidamente el tratamiento a base de 10Kg de Úrea (T2) tiene efecto en la densidad aparente en el suelo ya que alcanzó el promedio de 1.3414 gr/cm³ con una variabilidad de ± 0.0029 gr/cm³, mostrando valores de 1.3342gr/cm³ a 1.3487 gr/cm³ a un nivel de confianza al 95%; sucesivamente el tratamiento testigo (T7) tiene la densidad aparente en el suelo ya que alcanzó el promedio de 1.3282gr/cm³ con una variabilidad de ± 0.0019 gr/cm³, mostrando valores de



1.3236 gr/cm³ a 1.3328 gr/cm³ a un nivel de confianza al 95%, seguido por el tratamiento a base de 10kg de Úrea (T2) tiene la densidad aparente en el suelo ya que alcanzó el promedio de 1.3414 gr/cm³ con una variabilidad de ± 0.0029 gr/cm³, mostrando valores de 1.3342 gr/cm³ a 1.3487 gr/cm³ a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento 5Kg de Úrea (T1) tiene la densidad aparente en el suelo ya que alcanzó el promedio de 1.3128 gr/cm³ con una variabilidad de ± 0.0030 gr/cm³, mostrando valores de 1.3054gr/cm³ a 1.3202 gr/cm³ a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 10lt de EM-A (T5), muestra mejor comportamiento en la densidad aparente con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

5.1.2 Biorremediación de las propiedades químicas del suelo

La biorremediación de las propiedades químicas del suelo, fue evaluado a los 210 días (7 meses) posteriores a la aplicación de los tratamientos bioestimulante y la bioaumentación, los resultados muestran a continuación:

a) Potencial de hidrogeniones o concentración de iones de hidrogeno. (pH)

Se evalúa los valores presentes con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación

Tabla 29 — Estadísticos descriptivos de variación del pH en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Úrea	5.9138	0.0129	5.8818	5.9457
T2= 10kg-Úrea	5.1414	0.0464	5.0263	5.2566
T3= 15kg-Úrea	5.5047	0.0091	5.4821	5.5273
T4=5Lt-EM-A	6.2518	0.0024	6.2459	6.2577
T5=10Lt-EM-A	6.0621	0.0047	6.0505	6.0738
T6=15Lt-EM-A	6.4127	0.0028	6.4057	6.4197
T7=Testigo	4.1048	0.0184	4.0590	4.1505



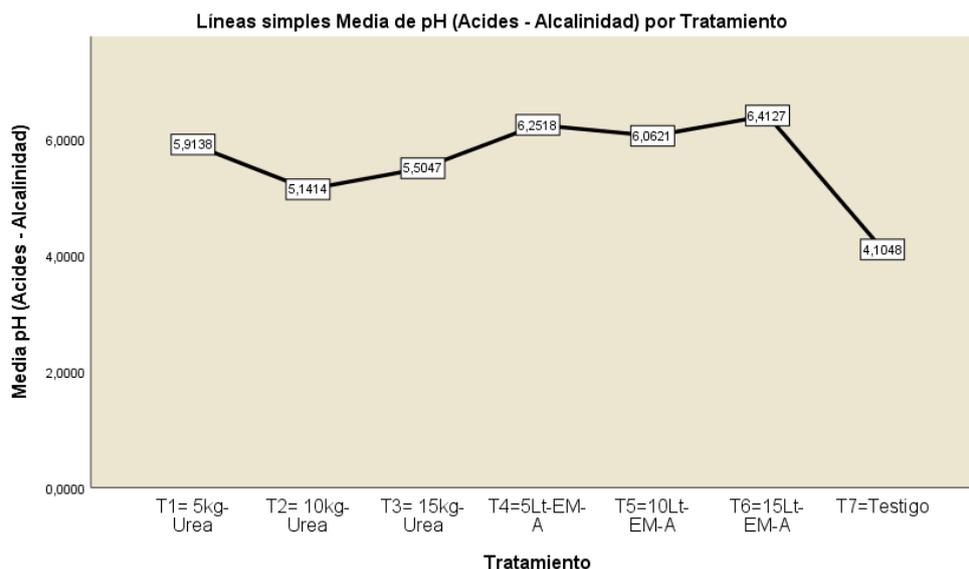


Figura 13 — Perfil de medias de niveles de pH en suelos

Los resultados de nivel de pH (acides o alcalinidad) en los suelos evaluados, después de 210 días de aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

En la tabla 29 y figura 13 se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6) tienen mayor efecto en reducción de la acides en el suelo ya que alcanzó el promedio de 6.4127pH con una variabilidad de ± 0.0028 pH, mostrando valores de 6.4057pH a 6.4197pH a un nivel de confianza al 95%, analizando en orden decreciente, se observa que el tratamiento a base de 5Lt de EM-A (T4) tienen una reducción de la acides en el suelo ya que alcanzó el promedio de 6.2518 con una variabilidad de ± 0.0024 pH, mostrando valores de 6.2459pH a 6.2577pH a un nivel de confianza al 95%, seguidamente el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) tiene efecto en reducción de la acides en el suelo ya que alcanzó el promedio de 6.0621pH con una variabilidad de ± 0.0024 pH, mostrando valores de 6.0505 a pH 6.0738 a un nivel de confianza al 95%.

Seguidamente el tratamiento a base de 5kg de Úrea (T1) tiene efecto en reducción de la acides en el suelo ya que alcanzó el promedio de 5.9138 con una variabilidad de ± 0.0129 pH, mostrando valores de 5.8818pH a 5.9457pH a un nivel de confianza al 95%; seguidamente el tratamiento a base de 15kg de Úrea (T3) tiene efecto en reducción de la acides en el suelo ya que alcanzó el promedio de 5.5047pH con una variabilidad de ± 0.0091 pH, mostrando valores de 5.4821pH a 5.5273pH a un nivel de confianza al 95%; seguidamente el tratamiento a base de



10kg de Úrea (T2) tiene efecto en reducción de la acidez en el suelo ya que alcanzó el promedio de 5.1414pH con una variabilidad de ± 0.0464 pH, mostrando valores de 5.0263pH a 5.2566pH a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo no tiene efecto significativo en la reducción de la acidez en el suelo, con un promedio de 4.1048pH con una variabilidad de ± 0.0184 pH, mostrando valores de 4.0590pH a 4.1505pH a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6), muestra mejor comportamiento en la reducción de la acidez del pH en el suelo con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

b) CIC

Se evalúa la capacidad de intercambio catiónico (CIC) presente en los suelos, con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación, el resultado se muestra en la siguiente tabla y figura:

Tabla 30 — Estadísticos descriptivos CIC en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Urea	19.5124	0.0024	19.5064	19.5183
T2= 10kg-Urea	18.7612	0.0031	18.7534	18.7690
T3= 15kg-Urea	20.4140	0.0038	20.4046	20.4234
T4=5Lt-EM-A	19.5107	0.0014	19.5072	19.5142
T5=10Lt-EM-A	18.7607	0.0015	18.7569	18.7646
T6=15Lt-EM-A	20.4112	0.0029	20.4041	20.4183
T7=Testigo	10.0605	0.0020	10.0557	10.0654



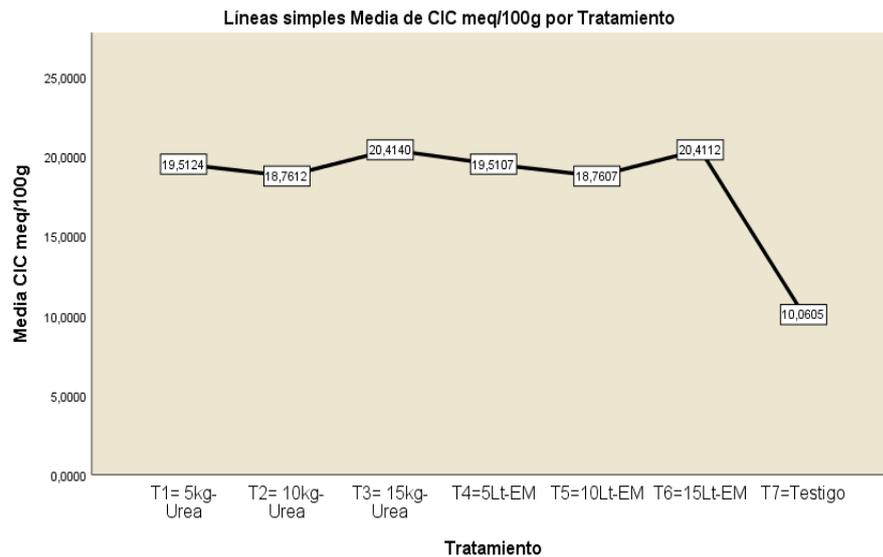


Figura 14 — Perfil de medias de CIC en suelos

El resultado de nivel de CIC (Capacidad de intercambio catiónico) en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

Según la tabla 30 y la figura 14, observamos que el tratamiento a base de 15Kg de Urea (T5) tienen mayor efecto en la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo ya que alcanzó el promedio 20.4140meq/100g con una variabilidad de ± 0.0038 meq/100g, mostrando valores de 20.4046meq/100g a 20.4234meq/100g a un nivel de confianza al 95%; analizando en orden decreciente, se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6) tienen efecto en la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo ya que alcanzó el promedio 20.4112meq/100g con una variabilidad de ± 0.0029 meq/100g, mostrando valores de 20.4041meq/100g a 20.4183meq/100g a un nivel de confianza al 95%.

Seguidamente el tratamiento a base de 5kg de Úrea (T1) tiene efecto en la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo ya que alcanzó el promedio 19.5124meq/100g con una variabilidad de ± 0.0024 meq/100g, mostrando valores de 19.5064meq/100g a 19.5183meq/100g a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 5 lt de EM-A (T4) con efecto en la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo ya que alcanzó el promedio 19.5107meq/100g con una variabilidad de ± 0.0014 meq/100g, mostrando valores de 19.5072meq/100g a 19.5142meq/100g a un nivel de confianza al 95%.



Seguido por el tratamiento a base de 10kg de Úrea (T2) tiene efecto en la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo ya que alcanzó el promedio 18.7612meq/100g con una variabilidad de ± 0.0031 meq/100g, mostrando valores de 18.7534meq/100g a 18.7690meq/100g a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) mostrando un efecto en la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo ya que alcanzó el promedio 18.7607meq/100g con una variabilidad de ± 0.0015 meq/100g, mostrando valores de 18.7569meq/100g a 18.7646meq/100g a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo presenta niveles de capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo, alcanzando el promedio 10.0605meq/100g con una variabilidad de ± 0.0020 meq/100g, mostrando valores de 10.0557meq/100g a 10.0654meq/100g a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15Kg de Urea (T5), muestra mejor efecto en la recuperación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) en el suelo con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

c) Macro elementos.

- **Nitrógeno**

Se evalúa la presencia de nitrógeno presente en el suelo, con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación

Tabla 31 — Estadísticos descriptivos nitrógeno en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Urea	0.1105	0.0018	0.1059	0.1150
T2= 10kg-Urea	0.1697	0.0007	0.1680	0.1713
T3= 15kg-Urea	0.1512	0.0023	0.1456	0.1568
T4=5Lt-EM-A	0.1111	0.0021	0.1058	0.1164
T5=10Lt-EM-A	0.1726	0.0055	0.1590	0.1862
T6=15Lt-EM-A	0.1512	0.0023	0.1456	0.1568
T7=Testigo	0.0609	0.0013	0.0577	0.0641



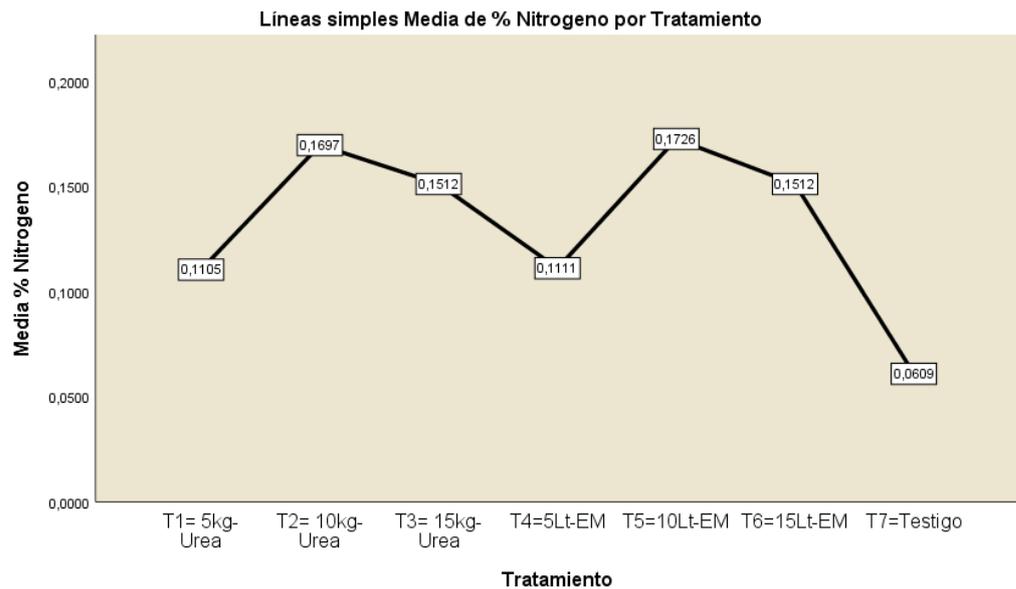


Figura 15 — Perfil de medias nitrógeno en suelos

Los valores de niveles de nitrógeno presentes en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

En la tabla 31 y figura 15 se observa que el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) tienen mayor efecto en la presencia de nitrógeno en el suelo ya que alcanzó el promedio 0.1726% con una variabilidad de $\pm 0.0055\%$, mostrando valores de 0.1590% a 0.1862% a un nivel de confianza al 95%; analizando en orden decreciente, observamos que el tratamiento a base de 10Kg de Urea (T2) con respecto a la presencia de nitrógeno en el suelo alcanzan el promedio 0.1697% con una variabilidad de $\pm 0.0007\%$, mostrando valores de 0.1680% a 0.1713% a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 15 kg de Urea (T3) y tratamiento a base de 15Lt de EM-A(T6) presenta nitrógeno en el suelo en promedio 0.1512% con una variabilidad de $\pm 0.0023\%$, mostrando valores de 0.1456% a 0.1568% a un nivel de confianza al 95%;

Seguidamente el tratamiento a base de 5Lt de EM-A (T4) presenta nitrógeno en el suelo en promedio 0.1111% con una variabilidad de $\pm 0.0021\%$, mostrando valores de 0.1058% a 0.1164% a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 5Kg de Urea (T1) presenta nitrógeno en el suelo en promedio 0.1105% con una variabilidad de $\pm 0.0018\%$, mostrando valores de 0.1059% a 0.1150% a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo (T7) presenta niveles de nitrógeno en el suelo en promedio 0.0609% con una variabilidad de ± 0.0013 %, mostrando valores de 0.0577% a 0.0641% a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 10lt de EM-A (T5), muestra mejores porcentaje de nitrógeno en el suelo, con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

- **Fósforo**

Se evalúa la presencia de fosforo en el suelo, con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación

Tabla 32 — Estadísticos descriptivos fósforo en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Urea	6.3477	0.0491	6.2258	6.4695
T2= 10kg-Urea	6.7140	0.0123	6.6835	6.7445
T3= 15kg-Urea	8.3566	0.0872	8.1399	8.5732
T4=5Lt-EM-A	6.5040	0.0173	6.4609	6.5471
T5=10Lt-EM-A	6.7623	0.0542	6.6278	6.8969
T6=15Lt-EM-A	8.6227	0.0235	8.5642	8.6812
T7=Testigo	1.2460	0.0465	1.1305	1.3615

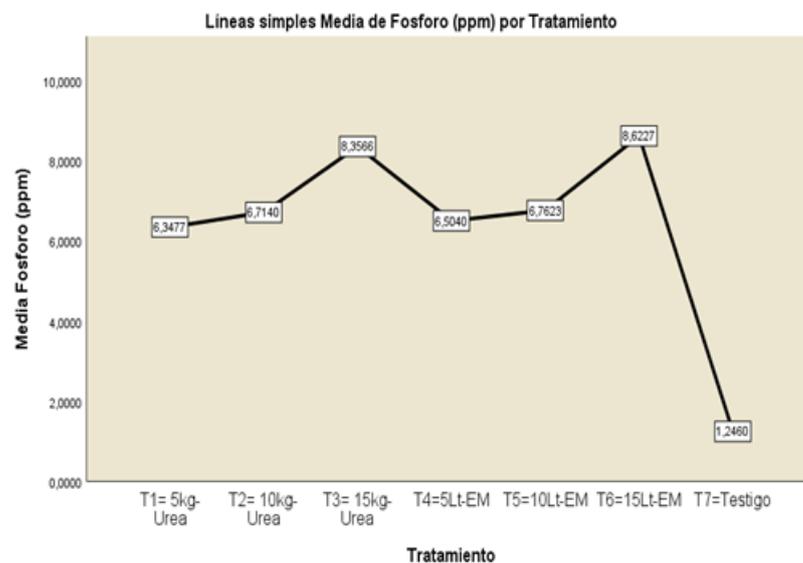


Figura 16 — Perfil de medias fosforo en suelos

El resultado de niveles de fosforo presentes en los suelos evaluados, después de 210 días de instalación y aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

En la tabla 32 y figura 16 se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6) tienen mayor efecto con la presencia de fósforo en el suelo ya que alcanzó el promedio 8.6227ppm con una variabilidad de ± 0.0235 ppm, mostrando valores de 8.5642ppm a 8.6812ppm a un nivel de confianza al 95%; analizando en orden decreciente, observamos que el tratamiento a base de 15Kg de Úrea (T3) tiene presencia de fósforo en el suelo alcanzando el promedio 8.3566ppm con una variabilidad de ± 0.0872 ppm, mostrando valores de 8.1399ppm a 8.5732ppm a un nivel de confianza al 95%.

Seguidamente el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) con una presencia de fósforo en el suelo alcanzando el promedio 6.7623ppm con una variabilidad de ± 0.0542 ppm, mostrando valores de 6.6278ppm a 6.8969ppm a un nivel de confianza al 95%, seguido por el tratamiento a base de 10Kg de Urea (T2) que tiene presencia de fósforo en el suelo alcanzando el promedio 6.7140ppm con una variabilidad de ± 0.0123 ppm, mostrando valores de 6.6835ppm a 6.7445ppm a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 5Lt de EM-A (T4) con presencia de fosforo en el suelo alcanzando el promedio 6.5040ppm con una variabilidad de ± 0.0173 ppm, mostrando valores de 6.4609ppm a 6.5471ppm a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 5kg de Úrea (T1) con presencia de fosforo en el suelo alcanzando el promedio 6.3477ppm con una variabilidad de ± 0.0491 ppm, mostrando valores de 6.2258ppm a 6.4695ppm a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo presenta niveles de fosforo en el suelo en promedio 1.2460ppm con una variabilidad de ± 0.0465 ppm, mostrando valores de 1.1305ppm a 1.3615ppm a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6), muestra mayor presencia de fosforo en el suelo, con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

• **Potasio**

Se evalúa la presencia de potasio en el suelo, con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación

Tabla 33 — Estadísticos descriptivos potasio en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Urea	93.3100	0.2689	92.6420	93.9780
T2= 10kg-Urea	83.6167	0.5352	82.2872	84.9462
T3= 15kg-Urea	97.2733	0.2419	96.6723	97.8743
T4=5Lt-EM-A	96.2767	0.2438	95.6711	96.8823
T5=10Lt-EM-A	89.6200	0.5384	88.2825	90.9575
T6=15Lt-EM-A	99.6167	0.5352	98.2872	100.9462
T7=Testigo	65.4467	0.4450	64.3412	66.5521

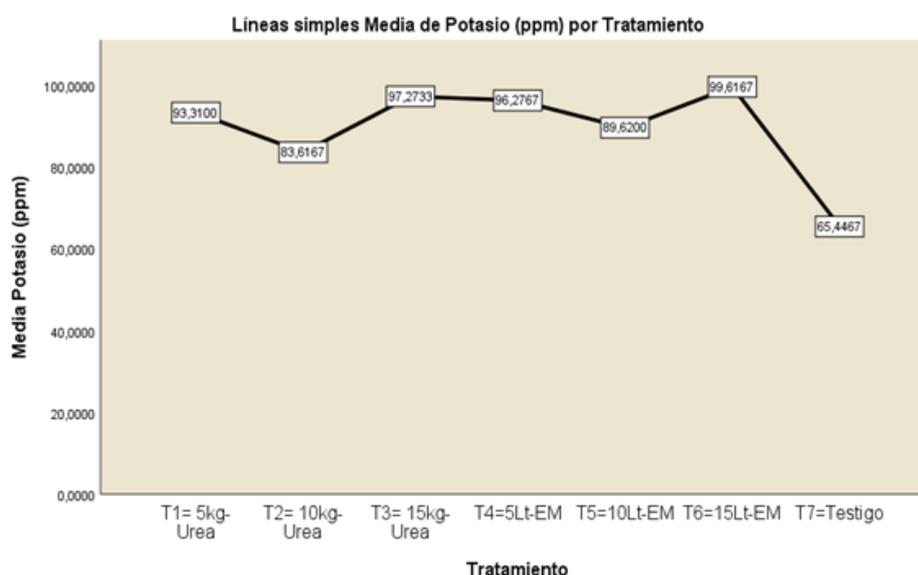


Figura 17 — Perfil de medias potasio en suelos

El resultado de niveles de potasio presentes en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

Como resultado en la tabla 33 y la figura 17 se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6) tienen mayor efecto con la presencia de potasio en el suelo ya que alcanzó el promedio 99.6167ppm con una variabilidad de ± 0.5352 ppm, mostrando valores de 98.2872ppm a 100.9462ppm a un nivel



de confianza al 95%; analizando en orden decreciente, observamos que el tratamiento a base de 15Kg de Úrea (T3) tiene presencia de potasio en el suelo alcanzando el promedio 97.2733ppm con una variabilidad de ± 0.2419 ppm, mostrando valores de 96.6723ppm a 97.8743ppm a un nivel de confianza al 95%; seguidamente está el tratamiento a base de 5Lt de EM-A (T4) tiene presencia de potasio en el suelo alcanzando el promedio 96.2767ppm con una variabilidad de ± 0.2438 ppm, mostrando valores de 95.6711ppm a 96.8823ppm a un nivel de confianza al 95%.

Seguido por el tratamiento a base de 5Kg de Úrea (T1) tiene presencia de potasio en el suelo alcanzando el promedio 93.3100ppm con una variabilidad de ± 0.2689 ppm, mostrando valores de 92.6420ppm a 93.9780ppm a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 10Lt de EM(T5) tiene presencia de potasio en el suelo alcanzando el promedio 89.62ppm con una variabilidad de ± 0.5384 ppm, mostrando valores de 88.2825ppm a 90.9575ppm a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 10Kg de Urea (T2) con una presencia de potasio en el suelo alcanzando el promedio 83.6167ppm con una variabilidad de ± 0.5352 ppm, mostrando valores de 82.2872ppm a 84.9462ppm a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo presenta niveles de potasio en el suelo en promedio 65.4467ppm con una variabilidad de ± 0.4450 ppm, mostrando valores de 64.3412ppm a 66.5521ppm a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15lt de EM-A (T6), muestra mayor presencia de potasio en el suelo, con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

5.1.3 Biorremediación de las propiedades microbiológicas del suelo

Fue evaluado a los 210 días después de la instalación del experimento y aplicación de los tratamientos bioestimulante y la bioaumentación, el resultado lo mostramos seguidamente:

a) **Bacterias**

Se describen a continuación:

Tabla 34 — Estadísticos descriptivos bacterias (UFC) en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Urea	7.91	0.18	7.48	8.35
T2= 10kg-Urea	8.10	0.08	7.90	8.31
T3= 15kg-Urea	8.08	0.02	8.05	8.12
T4=5Lt-EM-A	8.13	0.06	7.99	8.26
T5=10Lt-EM-A	8.37	0.19	7.91	8.84
T6=15Lt-EM-A	8.55	0.45	7.44	9.65
T7=Testigo	0.31	0.10	0.07	0.55

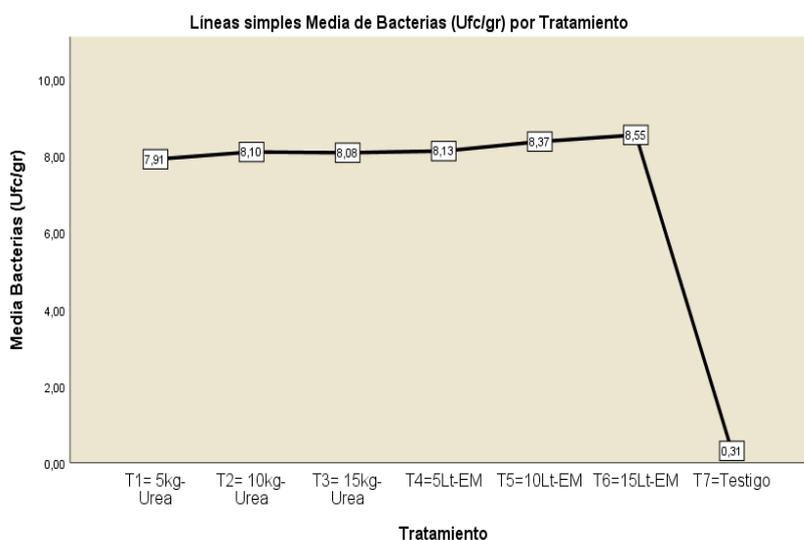


Figura 18 — Perfil de medias bacterias (UFC) en suelos

El resultado de niveles de microorganismo presentes en los suelos evaluados, después de 210 días de la aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

Los resultados en la tabla 34 y la figura 18 se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6), tienen mayor efecto con la presencia de bacterias en el suelo ya que alcanzó el promedio 8.55×10^5 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.45 \times 10^5$ Ufc/gr, mostrando valores de 7.44×10^5 Ufc/gr a 9.65×10^5 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%; analizando en orden decreciente, observamos que el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) tiene presencia



de bacterias en el suelo alcanzando el promedio 8.37×10^5 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.19 \times 10^5$ Ufc/gr, mostrando valores de 7.91×10^5 Ufc/gr a 8.84×10^5 Ufc/gr un nivel de confianza al 95%, seguidamente se observa que el tratamiento a base de 5Lt de EM-A (T4) tiene presencia de bacterias en el suelo alcanzando el promedio 8.13×10^5 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.06 \times 10^5$ Ufc/gr, mostrando valores de 7.99×10^5 Ufc/gr a 8.26×10^5 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%.

Seguidamente está el tratamiento a base de 10kg de Urea (T2) tiene presencia de bacterias en el suelo alcanzando el promedio 8.10×10^5 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.08 \times 10^5$ Ufc/gr, mostrando valores de 7.90×10^5 Ufc/gr a 8.31×10^5 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 15kg de Urea (T3) tiene presencia de bacterias en el suelo alcanzando el promedio 8.08×10^5 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.02 \times 10^5$ Ufc/gr, mostrando valores de 8.05×10^5 Ufc/gr a 8.12×10^5 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento 5Kg de Urea (T1) tiene presencia de bacterias 7.91×10^5 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.18 \times 10^5$ Ufc/gr, mostrando valores de 7.48×10^5 Ufc/gr a 8.35×10^5 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo presenta niveles de bacterias en el suelo en promedio 0.31×10^5 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.10 \times 10^5$ Ufc/gr, mostrando valores de 0.07×10^5 Ufc/gr a 0.55×10^5 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6), muestra mayor presencia de bacterias en el suelo, con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.



b) Hongos.

Tabla 35 — Estadísticos descriptivos hongos (UFC) en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Urea	5.42	0.24	4.82	6.02
T2= 10kg-Urea	5.49	0.53	4.17	6.81
T3= 15kg-Urea	5.73	0.20	5.22	6.23
T4=5Lt-EM-A	5.86	0.15	5.49	6.23
T5=10Lt-EM-A	5.97	0.16	5.57	6.37
T6=15Lt-EM-A	5.99	0.90	3.77	8.22
T7=Testigo	0.41	0.09	0.17	0.64

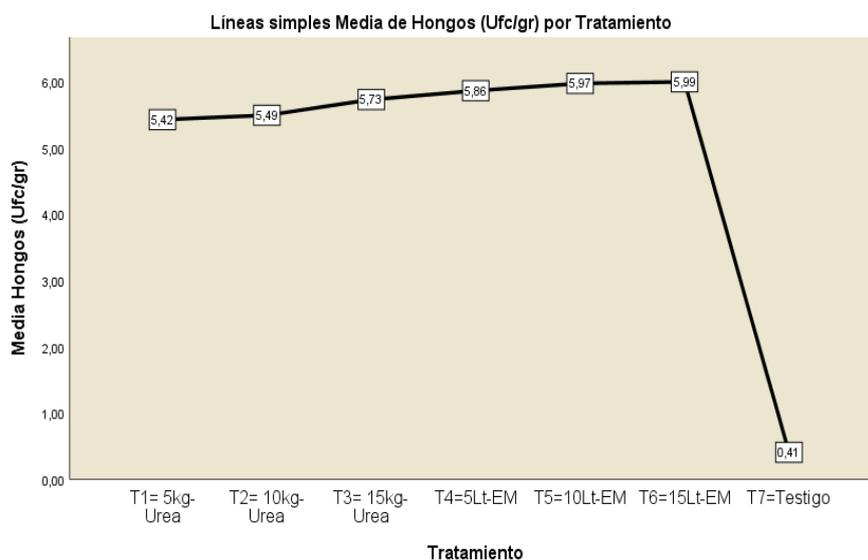


Figura 19 — Perfil de medias hongos (UFC) en suelos

El resultado de niveles de hongos presentes en los suelos evaluados, después de 210 días de instalación y aplicación del bioestimulante y la bioaumentación.

En la tabla 35 y figura 19 se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6), tienen mayor efecto con la presencia de hongos en el suelo ya que alcanzó el promedio 5.99×10^4 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.90 \times 10^4$ Ufc/gr, mostrando valores de 3.77×10^4 Ufc/gr a 8.22×10^4 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%; analizando en orden decreciente, Observamos que el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) tiene presencia de hongos en el suelo alcanzando el promedio 5.97×10^4 Ufc/gr con una variabilidad de \pm



0.16×10^4 Ufc/gr, mostrando valores de 5.57×10^3 Ufc/gr a 6.37×10^4 Ufc/gr un nivel de confianza al 95%, seguidamente se observa que el tratamiento a base de 5Lt de EM-A (T4) tiene presencia de hongos en el suelo alcanzando el promedio 5.86×10^4 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.15 \times 10^4$ Ufc/gr, mostrando valores de 5.49×10^4 Ufc/gr a 6.23×10^4 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%.

Seguidamente está el tratamiento a base de 15kg de Urea (T3) tiene presencia de hongos en el suelo alcanzando el promedio 5.63×10^4 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.23 \times 10^4$ Ufc/gr, mostrando valores de 5.22×10^4 Ufc/gr a 6.23×10^4 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento a base de 10kg de Urea (T2) tiene presencia de hongos en el suelo alcanzando el promedio 5.49×10^4 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.53 \times 10^4$ Ufc/gr, mostrando valores de 4.17×10^4 Ufc/gr a 6.81×10^4 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%; seguido por el tratamiento 5Kg de Urea (T1) tiene presencia de hongos 5.42×10^4 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.24 \times 10^4$ Ufc/gr, mostrando valores de 4.82×10^4 Ufc/gr a 6.02×10^4 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo presenta niveles de unidades formadoras de hongos en el suelo en promedio 0.41×10^4 Ufc/gr con una variabilidad de $\pm 0.09 \times 10^4$ Ufc/gr, mostrando valores de 0.17×10^4 Ufc/gr a 0.64×10^4 Ufc/gr a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15Lt de EM-A (T6), muestra mayor presencia de hongos en el suelo, con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.

5.1.4 Degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP) en suelo contaminado.

La biorremediación de las propiedades: físicas, químicas y microbiológicas del suelo contaminado por hidrocarburos, fue evaluado a los 210 días después de la aplicación de los tratamientos, está representada por la degradación de THP, presente en kilogramos de suelo, los resultados se muestran a continuación.

Hidrocarburos totales de petróleo (THP mg/Kg de suelo)

Se evalúa la cantidad presente de hidrocarburos totales de petróleo con respecto a los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación

Tabla 36 — Estadísticos descriptivos degradación de HTP en suelos

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
T1= 5kg-Urea	19924.17	4.48	19913.05	19935.29
T2= 10kg-Urea	19890.30	2.96	19882.94	19897.66
T3= 15kg-Urea	19870.83	1.99	19865.90	19875.77
T4=5Lt-EM-A	19120.10	0.36	19119.20	19121.00
T5=10Lt-EM-A	15534.37	5.70	15408.41	15660.32
T6=15Lt-EM-A	15398.90	1.10	15396.17	15401.63
T7=Testigo	22798.10	7.53	22779.39	22816.81

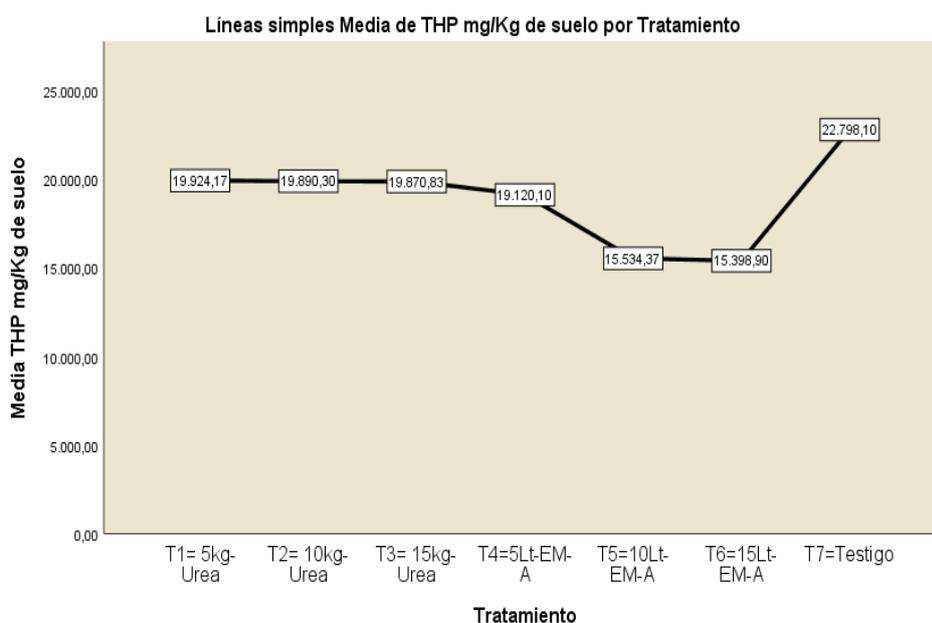


Figura 20 — Perfil de medias de degradación de HTP en suelos

El resultado de la presencia de hidrocarburos totales de petróleo en los suelos evaluados, después de 210 días de instalación y aplicación del bioestimulante y la bioaumentación

En la tabla 36 y figura 20 se observa que el tratamiento a base de 15Lt de EM-A(T6) tienen mayor efecto en reducción de presencia de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo ya que alcanzó el promedio de 15398.90mg/kg de S° con una variabilidad de ± 1.10 mg/kg de S°, mostrando valores de 15396.17gr/kg de S° a 15401.63gr/kg de S° a un nivel de confianza al 95%, analizando en orden creciente, observamos el tratamiento a base de 10Lt de EM-A (T5) tienen efecto en reducción de presencia de



hidrocarburos totales de petróleo en el suelo ya que alcanzó el promedio de 15534.37gr/kg de S° con una variabilidad de ± 5.70 mg/kg de S°, mostrando valores de 15408.41mg/kg de S° a 15660.32mg/kg de S° a un nivel de confianza al 95%,

Seguidamente el tratamiento a base de 5lt de EM-A (T4) tienen efecto en la reducción de la presencia de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo ya que alcanzó el promedio de 19120.10mg/kg de S° con una variabilidad de ± 0.36 mg/kg de S°, mostrando valores de 19119.20 mg/kg de S° a 19121.00gr/kg de S° a un nivel de confianza al 95%, seguido por el tratamiento a base de 15kg de Urea (T3) tienen efecto en la reducción de presencia de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo, ya que alcanzó el promedio de 19870.83mg/kg de S° con una variabilidad de ± 1.99 mg/kg de S°, mostrando valores de 19865.90 mg/kg de S° a 19875.77 mg/kg de S° a un nivel de confianza al 95%; seguidamente el tratamiento a base de 10kg de Urea (T2) tienen efecto en la reducción de presencia de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo, ya que alcanzó el promedio de 19890.30mg/kg de S° con una variabilidad de ± 2.96 gr/kg de S°, mostrando valores de 19882.94 mg/kg de S° a 19897.66mg/kg de S° a un nivel de confianza al 95%; subsecuentemente el tratamiento a base de 5kg de Urea (T1) tienen efecto en la reducción de presencia de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo, ya que alcanzó el promedio de 19924.17mg/kg de S° con una variabilidad de ± 4.48 mg/kg de S°, mostrando valores de 19913.05mg/kg de S° a 19935.29mg/kg de S° a un nivel de confianza al 95%.

Finalmente, el tratamiento testigo (T7) no mostro efectos en la reducción de presencia de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo, alcanzó el promedio de 22798.10mg/kg de S° con una variabilidad de ± 7.53 mg/kg de S°, mostrando valores de 22779.39mg/kg de S° a 22816.81mg/kg de S° a un nivel de confianza al 95%. Por lo tanto, el tratamiento a base de 15lt de EM (T6), muestra mejor comportamiento en la reducción de la presencia de hidrocarburos totales de petróleo en el suelo con respecto a los otros tratamientos y al tratamiento testigo.



5.2 Contrastación de hipótesis

Se realiza la prueba de hipótesis para el modelo, los tratamientos y el bloque.

5.2.1 Prueba de hipótesis para biorremediación de las propiedades físicas del suelo

a) Textura – Arena

Se plantea las hipótesis para la prueba:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es la j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades físicas -textura (arena) en suelos afectados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

e_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para los tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el tratamiento 6



μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, se describe:

Tabla 37 — Análisis de variancia biorremediación de propiedades físicas – textura (arena) en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	17754,019 ^a	9	1972.669	7531.095	0.000
Tratamiento	97.352	6	16.225	61.944	0.000
Bloque	0.887	2	0.443	1.693	0.225
Error	3.143	12	0.262		
Total	17757.163	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo.

Observamos en la tabla 37, que el valor-p es menor que el valor de la probabilidad que se asume ($\text{Sig.} = 0.000 < \alpha = 0.05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y cumpliéndose con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA). Asimismo, la variable dependiente tiene



relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor-p es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \alpha = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 37, el valor-p es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,225 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula (H_0) y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades físicas con respecto a la textura de los suelos, porcentaje de arena, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades físicas-textura (arena) de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que mostramos en lo siguiente.

Tabla 38 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas – textura (arena) en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T1= 5kg-Urea	3	26.0800	
T4=5Lt-EM-A	3	26.5867	
T7=Testigo	3	26.9133	
T2= 10kg-Urea	3		30.6000
T5=10Lt-EM-A	3		30.8667
T3= 15kg-Urea	3		30.9100
T6=15Lt-EM-A	3		31.0133
Sig.		0.464	0.947

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 38, se observa el sub conjunto homogéneo de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: textura (arena) de suelos contaminados por hidrocarburos son 15lt de EM-A(T6), 15kg de Urea (T3), 10Lt de EM-A (T5) y 10Kg de Urea (T2) que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas – textura (arena) 31.01%, 30.91%, 30.86% y 30.60% respectivamente.

La aplicación de testigo (T7), 5Lt de EM-A (T4) y 5Kg de Urea(T1) tienen el mismo efecto en la biorremediación de las propiedades físicas-textura (arena) 26.91%, 26.58% y 26.08% respectivamente.

b) Textura - Limo

Se plantea las hipótesis para la prueba:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades físicas -textura (limo) en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia, cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, se describe:

Tabla 39 — Análisis de variancia biorremediación de propiedades físicas – textura (limo) en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	35851,657 ^a	9	3983.517	9832.705	0.000
Tratamiento	164.506	6	27.418	67.676	0.000
Bloque	0.524	2	0.262	0.646	0.541
Error	4.862	12	0.405		
Total	35856.519	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)



El modelo

Observamos en la tabla 39, que el valor-p es menor que el valor de la probabilidad que se asume ($\text{Sig.} = 0.000 < \text{alfa} = 0.05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y cumpliéndose con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor-p es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \text{alfa} = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula (H_0) y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 39 el valor-p es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,541 > \text{alfa} = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades físicas con respecto a la textura de los suelos, porcentaje de limo, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades físicas-textura (limo) de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que mostramos en lo siguiente.



Tabla 40 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas – textura (limo) en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto		
		1	2	3
T3= 15kg-Urea	3	38.0133		
T6=15Lt-EM-A	3	38.5333		
T7=Testigo	3	39.0800		
T2= 10kg-Urea	3		40.9767	
T5=10Lt-EM-A	3		41.4433	
T4=5Lt-EM-A	3			45.1367
T1= 5kg-Urea	3			45.3800
Sig.		0.433	0.966	0.999

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 40, observamos el sub conjunto homogéneo (3) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas textura (limo) de suelos afectados por hidrocarburos son 5kg de Urea (T1) y 5Lt de EM-A(T4), que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) 45.38% y 45.1367, respectivamente.

Asimismo, se observa el sub conjunto homogéneo (2), de los tratamientos 10Lt de EM-A (T5) y 10Kg de Urea (T2), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas textura (limo) de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) 41.44% y 40.97%, respectivamente.

Finalmente, se observa el sub conjunto homogéneo (1) los tratamientos Testigo (T7), 15Lt de EM-A (T6) y 15Kg de Urea (T3), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas textura (limo) de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas – textura (limo) de 39.08%, 38.53% y 38.01% respectivamente. En este sub conjunto tienen el mismo efecto.

c) Textura – Arcilla

Se plantea las hipótesis para la prueba:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j ésimo biorreactor dentro del i ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades físicas -textura (arcilla) en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j ésimo bloque del i ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula H0: $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna H1: $\beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, se describe:

Tabla 41 — Análisis de variancia biorremediación de propiedades físicas – textura (arcilla) en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	18141,196 ^a	9	2015.688	12668.749	0.000
Tratamiento	45.596	6	7.599	47.762	0.000
Bloque	2.792	2	1.396	8.775	0.064
Error	1.909	12	0.159		
Total	18143.105	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 41, que el valor-p es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y cumpliéndose con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor-p es inferior que el nivel de significancia que se asume (Sig = 0,000< alfa = 0,05) por lo que rechazamos la hipótesis nula (HO) y concluimos que existe



el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 41, el valor-p es superior a la significancia que se asumió (Sig. = 0,064 > alfa = 0,05) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades físicas con respecto a la textura de los suelos, porcentaje de arcilla, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades físicas-textura (arcilla) de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que mostramos en lo siguiente.

Tabla 42 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas – textura (arcilla) en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T1= 5kg-Urea	3	27.9800	
T2= 10kg-Urea	3	28.0433	
T4=5Lt-EM-A	3	28.0900	
T5=10Lt-EM-A	3	28.2033	
T3= 15kg-Urea	3		30.9533
T7=Testigo	3		30.9800
T6=15Lt-EM-A	3		31.2167
Sig.		0.991	0.979

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.
- b. Alfa = 0.05.

En la tabla 42, observamos el sub conjunto homogéneo (2) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas textura (arcilla) de suelos afectados por hidrocarburos son 15Lt de EM-A (T6), testigo (T7) y 15Kg de Urea (T3), que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las



propiedades físicas – textura (arcilla) 31.21%, 30.98% y 30.95%, respectivamente.

Asimismo, se observa el sub conjunto homogéneo (1) los tratamientos 10Lt de EM-A (T5), 5Lt de EM-A (T4), 10Kg de Urea (T2) y 5kg de Urea (T1) para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas textura (arcilla) de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas – textura (arcilla) 28.20%, 28.09%, 28.04% y 27.98%, respectivamente. En este sub conjunto tienen el mismo efecto.

d) Humedad del suelo

Se plantea las hipótesis para la prueba:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j ésimo bioreactor dentro del i ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades físicas -humedad en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j ésimo bloque.

e_{ij} = error experimental asociado al j ésimo bloque del i ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula (H0) : $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna (H1) : $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el tratamiento 3



μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas – humedad en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que mostramos en seguida:

Tabla 43 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades físicas – humedad en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	2240,978 ^a	9	248.998	126547.987	0.000
Tratamiento	130.580	6	21.763	11060.770	0.000
Bloque	0.003	2	0.002	0.778	0.481
Error	0.024	12	0.002		
Total	2241.001	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)



El modelo

Observamos en la tabla 43, que el valor-p es menor que el valor de la probabilidad que se asume ($\text{Sig.} = 0.000 < \alpha = 0.05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor-p es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \alpha = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula (H_0) y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 43, el valor-p es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,481 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula (H_0) y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades físicas – humedad de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades físicas (humedad) de suelos afectados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que mostramos seguidamente.

Tabla 44 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas –humedad en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	5
T7=Testigo	3	5.415000				
T1= 5kg-Urea	3		9.122433			
T2= 10kg-Urea	3		9.152133			
T3= 15kg-Urea	3		9.190800			
T4=5Lt-EM-A	3			11.159800		
T5=10Lt-EM-A	3				12.739533	
T6=15Lt-EM-A	3					13.393333
Sig.		1.000	0.522	1.000	1.000	1.000

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 44, observamos el sub conjunto homogéneo (5) de las medias observadas y se concluye que el mejor tratamiento para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: Humedad de suelos afectados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6), que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: humedad de 13.39%.

Se observa el sub conjunto homogéneo (4) el tratamiento 10Lt de EM-A (T5), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: humedad de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: humedad de 12.73%.

Se observa el sub conjunto homogéneo (3) el tratamiento 5Lt de EM-A (T4), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: humedad de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: humedad de 11.15%.

También se observa el sub conjunto homogéneo (2) el tratamiento 15Kg de Urea (T3), 10Kg de Urea (T2) y 5Kg de Urea (T1), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: humedad de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: humedad de 9.19%, 9.15% y 9.12%. en este sub conjunto tienen el mismo efecto. Finalmente, el tratamiento testigo (T7), en este sub conjunto no tiene significancia.

e) **Porosidad del suelo**

Se plantea las hipótesis para la prueba:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula H0: $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna H1: $\beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$



Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 45 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades físicas: porosidad en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	50256,589 ^a	9	5584.065	25811.374	0
Tratamiento	29.814	6	4.969	22.968	0
Bloque	0.607	2	0.303	1.402	0.284
Error	2.596	12	0.216		
Total	50259.185	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 45, que el valor-p es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor-p es inferior que el nivel de significancia que se asume (Sig = 0,000 < alfa = 0,05) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la



biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 45, el valor p es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,284 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula (H_0) y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades físicas, con respecto a la porosidad de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades físicas (porosidad) de suelos afectados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que nuestro ensayada.

Tabla 46 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas: porosidad en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	5
T7=Testigo	3	46.9567				
T3= 15kg-Urea	3	47.8767	47.8767			
T1= 5kg-Urea	3		48.3067	48.3067		
T2= 10kg-Urea	3		48.9233	48.9233	48.9233	
T5=10Lt-EM-A	3			49.5700	49.5700	49.5700
T4=5Lt-EM-A	3				50.1300	50.1300
T6=15Lt-EM-A	3					50.5733
Sig.		0.268	0.165	0.067	0.085	0.196

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 46, observamos el sub conjunto homogéneo de las medias observadas y se concluye que el mejor tratamiento para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad de suelos afectados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6), que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: porosidad de 50.57%.



Respecto a los otros sub conjuntos, de los tratamientos incluidos el testigo, no muestra diferencias significativas, para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: porosidad de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán efectos en porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: porosidad son similares.

f) Densidad aparente del suelo

Se plantea las hipótesis para la prueba:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j ésimo biorreactor dentro del i ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j ésimo bloque del i ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el tratamiento 5



μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 47 — Análisis de variancia biorremediación de propiedades físicas: densidad aparente en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	38,547 ^a	9	4.283	243296.734	0.000
Tratamiento	0.026	6	0.004	242.031	0.000
Bloque	2.461E-05	2	1.231E-05	0.699	0.516
Error	0.000	12	1.760E-05		
Total	38.547	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 47, que el valor-p es menor que el valor de la probabilidad que se asume ($\text{Sig.} = 0.000 < \alpha = 0.05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).



Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \alpha = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 47, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,516 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula (H_0) y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades físicas, con respecto a la densidad aparente de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades físicas (densidad aparente) de suelos afectados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que nuestro ensayada.

Tabla 48 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades físicas: densidad aparente en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	5
T1= 5kg-Urea	3	1.312800				
T3= 15kg-Urea	3	1.319167	1.319167			
T7=Testigo	3		1.328233			
T2= 10kg-Urea	3			1.341433		
T6=15Lt-EM-A	3				1.386667	
T4=5Lt-EM-A	3				1.387133	
T5=10Lt-EM-A	3					1.405233
Sig.		0.538	0.194	1.000	1.000	1.000

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.



En la tabla 48, observamos el sub conjunto homogéneo (5) de las medias observadas y se concluye que el mejor tratamiento para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente de suelos afectados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6), que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente de 1.4 gr/cm³.

Se observa el sub conjunto homogéneo (4) el tratamiento 5Lt de EM-A (T5) y 15Lt de EM-A (T6), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente de 1.387 gr/cm³ y 1.386 gr/cm³.

Se observa el sub conjunto homogéneo (3) el tratamiento 10Kg de Urea (T2), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente de 1.34 gr/cm³.

También se observa el sub conjunto homogéneo (1 y 2) el tratamiento testigo (T7), 15Kg de Urea (T3) y 5Kg de Urea (T1), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo tendrán como efecto porcentajes de biorremediación de las propiedades físicas: densidad aparente 1.32gr/cm³, 1.319 gr/cm³ y 1.312 gr/cm³. en este sub conjunto tienen el mismo efecto.

5.2.2 Prueba de hipótesis para las propiedades químicas de suelos

Se realizo las pruebas de hipótesis para los indicadores CIC, pH, nitrógeno, fosforo y potasio los resultados describimos a continuación:

a) Prueba de hipótesis para el potencial de hidrogeniones (pH) en el suelo.

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades químicas: pH en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H_0 : $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H_1 : $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula H_0 : $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna H_1 : $\beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque I.



β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 49 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: pH en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	676,547 ^a	9	75.172	247857.240	0.000
Tratamiento	11.542	6	1.924	6342.510	0.000
Bloque	0.002	2	0.001	3.140	0.080
Error	0.004	12	0.000		
Total	676.551	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 49, que el valor-p es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA). Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor-p es menor que la significancia asumida (Sig = 0,000 < alfa = 0,05) por tanto se rechaza hipótesis nula y se concluye que existen efecto atribuible a las aplicaciones de niveles de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 49, el valor-p es mayor que la significancia asumida (Sig. = 0,08 > alfa = 0,05) por tanto se acepta la hipótesis nula (HO) y se concluye que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades químicas con respecto a las propiedades químicas: pH de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades químicas: pH de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que nuestro ensayada.

Tabla 50 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: pH de suelos

Tratamiento	N	Subconjunto						
		1	2	3	4	5	6	7
T7=Testigo	3	4.104767						
T2= 10kg-Urea	3		5.141433					
T3= 15kg-Urea	3			5.504700				
T1= 5kg-Urea	3				5.913767			
T5=10Lt-EM-A	3					6.062133		
T4=5Lt-EM-A	3						6.251800	
T6=15Lt-EM-A	3							6.412700
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

- a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.
- b. Alfa = 0.05.

En la tabla 50, observamos el sub conjunto homogéneo (7, 6 y 5) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, pH de suelos contaminados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6), 10Lt de EM-A y 5Lt de EM-A (T4), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el pH a 6.41, 6.25 y 6.06, respectivamente.

Se observa el sub conjunto homogéneo (4, 3 y 2) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, pH de suelos contaminados por hidrocarburos es de 5Kg de Urea (T1), 15Kg de Urea (T3) y 10Kg de Urea (T2), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el pH a 5.91, 5.50 y 5.14, respectivamente.



Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (1) el tratamiento testigo (T7), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: pH, que incorporados al suelo no tendrá como efecto en el pH de biorremediación del suelo de 4.10 en este sub conjunto no hay efectos.

b) Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) en los suelos

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j ésimo biorreactor dentro del i ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades químicas: CIC en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j ésimo bloque del i ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 6



μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 51 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: CIC en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	7199,739 ^a	9	799.971	150994453.964	0.000
Tratamiento	240.335	6	40.056	7560545.151	0.000
Bloque	2.870E-05	2	1.435E-05	2.708	0.107
Error	6.358E-05	12	5.298E-06		
Total	7199.739	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 51, que el valor (p) es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).



Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \alpha = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 51, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,107 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades químicas, con respecto a la CIC de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades químicas: CIC de los suelos afectados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que nuestro ensayada.

Tabla 52 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: CIC de suelo.

Tratamiento	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
T7=Testigo	3	10.060533			
T5=10Lt-EM-A	3		18.760733		
T2= 10kg-Urea	3		18.761233		
T4=5Lt-EM-A	3			19.510700	
T1= 5kg-Urea	3			19.512367	
T6=15Lt-EM-A	3				20.411233
T3= 15kg-Urea	3				20.414000
Sig.		1.000	1.000	0.968	0.755

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.



En la tabla 52, observamos el sub conjunto homogéneo (4) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, CIC de suelos afectados por hidrocarburos es de 15Kg de Urea (T3) y 15Lt de EM (T6), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar la CIC a 20.414 Meq/100g y 20.411 Meq/100g, respectivamente.

Se observa el sub conjunto homogéneo (3) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, CIC de suelos afectados por hidrocarburos es de 5Kg de Urea (T1), 1Lt de EM-A (T4), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar la CIC a 19.513meq/100g, y 19.510meq/100g, respectivamente.

Se observa el sub conjunto homogéneo (2) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, CIC de suelos afectados por hidrocarburos es de 10Kg de Urea (T2), 10Lt de EM-A (T5), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar la CIC a 18.761meq/100g, y 18.760meq/100g, respectivamente.

Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (1) el tratamiento testigo (T7), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: CIC, que incorporados al suelo no muestra efectos significativos en la CIC del suelo de 10.06meq/100gr.

c) Nitrógeno en el suelo

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j ésimo biorreactor dentro del i ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i ésimo tratamiento.



β_j = efecto del j ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j ésimo bloque del i ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H_0 : $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H_1 : $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula H_0 : $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna H_1 : $\beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque III



Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 53 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: nitrógeno en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	,398 ^a	9	0.044	6085.820	0.000
Tratamiento	0.029	6	0.005	671.654	0.000
Bloque	1.351E-05	2	6.753E-06	0.930	0.421
Error	8.713E-05	12	7.261E-06		
Total	0.398	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 53, que el valor (p) es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume (Sig = 0,000 < alfa = 0,05) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 53, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió (Sig. = 0,107 > alfa = 0,05) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los

bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades químicas, con respecto al nitrógeno de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades químicas: nitrógeno de suelos afectados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, que nuestro enseguida.

Tabla 54 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: nitrógeno en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
T7=Testigo	3	0.060923			
T1= 5kg-Urea	3		0.110467		
T4=5Lt-EM-A	3		0.111133		
T3= 15kg-Urea	3			0.151200	
T6=15Lt-EM-A	3			0.151200	
T2= 10kg-Urea	3				0.169667
T5=10Lt-EM-A	3				0.172600
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.825

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 54, observamos el sub conjunto homogéneo (4) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos es de 10Lt de EM-A (T5) y 10Kg de Urea (T2), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el nitrógeno a 0.17% y 0.16%, respectivamente.

Se observa el sub conjunto homogéneo (3) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6) y 15Kg de Urea (T3), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el contenido de nitrógeno a 0.15% en ambos casos.



Se observa el sub conjunto homogéneo (2) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, nitrógeno de suelos contaminados por hidrocarburos es de 5Lt de EM-A (T4) y 5 Kg de Urea (T1), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el contenido de nitrógeno a 0.111% y 0.110%, respectivamente.

Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (1) el tratamiento testigo (T7), para inducir a la biorremediación de las propiedades físicas: nitrógeno, que incorporados al suelo no muestra efectos significativos en el contenido de nitrógeno del suelo de 0.06%.

d) Fósforo en el suelo

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j ésimo biorreactor dentro del i ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades químicas: fosforo en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j ésimo bloque.

e_{ij} = error experimental asociado al j ésimo bloque del i ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 3



μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo en suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo en suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: fosforo en suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, muestran en seguida:

Tabla 55 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: fosforo en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	957,429 ^a	9	106.381	89296.474	0.000
Tratamiento	106.701	6	17.783	14927.456	0.000
Bloque	0.018	2	0.009	7.527	0.058
Error	0.014	12	0.001		
Total	957.443	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)



El modelo

Observamos en la tabla 55, que el valor (p) es menor que el valor de la probabilidad que se asume ($\text{Sig.} = 0.000 < \alpha = 0.05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \alpha = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 55, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,058 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula (H_0) y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades químicas, con respecto al fósforo de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades químicas: fósforo de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, nuestro ensayada.

Tabla 56 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: fósforo en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto					
		1	2	3	4	5	6
T7=Testigo	3	1.246000					
T1= 5kg-Urea	3		6.347667				
T4=5Lt-EM-A	3			6.504000			
T2= 10kg-Urea	3				6.714000		
T5=10Lt-EM-A	3				6.762333		
T3= 15kg-Urea	3					8.356567	
T6=15Lt-EM-A	3						8.622667
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.620	1.000	1.000

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 56, observamos el sub conjunto homogéneo (6 y 5) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6) y 15Kg de Urea (T3), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el nitrógeno a 8.62 ppm y 8.35ppm, respectivamente.

Se observa el sub conjunto homogéneo (4, 3 y 2) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, fosforo de suelos contaminados por hidrocarburos es de 10Lt de EM-A (T5), 10Kg de Urea (T2), 5 Lt de EM-A (T4) y 5 Kg de Urea(T1), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el contenido de fosforo a 6.76ppm, 6.71ppm, 6.50ppm y 6.34ppm.

Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (1) el tratamiento testigo (T7), no muestra efectos significativos en el contenido de fosforo mostrando 1.24ppm.

e) Potasio en el suelo

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$



Dónde:

Y_{ij} = es el j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades químicas: potasio en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio en suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio en suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades químicas: potasio en suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 57 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades químicas: potasio en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	170007,071 ^a	9	18889.675	738244.103	0.000
Tratamiento	2508.436	6	418.073	16339.068	0.000
Bloque	2.195	2	1.098	42.894	0.058
Error	0.307	12	0.026		
Total	170007.378	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 57, que el valor (p) es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume (Sig = 0,000 < alfa = 0,05) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.



Bloques.

Según la tabla 57, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió (Sig. = 0,058 > alfa = 0,05) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades químicas, con respecto al potasio de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades químicas: potasio de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, nuestro ensayada.

Tabla 58 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades químicas: potasio en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto						
		1	2	3	4	5	6	7
T7=Testigo	3	65.446667						
T2= 10kg-Urea	3		83.616667					
T5=10Lt-EM-A	3			89.620000				
T1= 5kg-Urea	3				93.310000			
T4=5Lt-EM-A	3					96.276667		
T3= 15kg-Urea	3						97.273333	
T6=15Lt-EM-A	3							99.616667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 58, observamos el sub conjunto homogéneo (7, 6, 5 y 4) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, potasio de suelos contaminados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6), 15Kg de Urea (T3), 5Lt de EM-A (T4) y 5kg de Urea (T2) que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el contenido de potasio a 99.61ppm, 97.27ppm, 96.27ppm y 93.31ppm, respectivamente.

Se observa el sub conjunto homogéneo (3 y 2) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades químicas, potasio de suelos contaminados por hidrocarburos es de 10Lt de EM



(T5) y 10Kg de Úrea (T2), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar el contenido de potasio a 89.62ppm y 83.61ppm.

Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (1) el tratamiento testigo (T7), no muestra efectos significativos en el contenido de potasio mostrando 65.44ppm.

5.2.3 Prueba de hipótesis biorremediación de propiedades microbiológicas suelos

Se realizó la prueba de hipótesis en la biorremediación de las propiedades biológicas de suelos contaminados por hidrocarburos, de los indicadores bacterias y hongos en unidades formadoras de colonias (UFC) los resultados se describen a continuación:

a) Bacterias en el suelo (Ufc)

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 3



μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 59 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	1208,836 ^a	9	134.315	3237.499	0.000
Tratamiento	160.497	6	26.750	644.764	0.000
Bloque	0.070	2	0.035	0.838	0.456
Error	0.498	12	0.041		
Total	1209.334	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = ,999)



El modelo

Observamos en la tabla 59, que el valor (p) es menor que el valor de la probabilidad que se asume ($\text{Sig.} = 0.000 < \alpha = 0.05$), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \alpha = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 59, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,516 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades microbiológica, con respecto a las bacterias (Ufc) de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades microbiológicas: bacterias (Ufc) de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, nuestro ensayada.

Tabla 60 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades microbiológicas: Bacterias (Ufc) en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto		
		1	2	3
T7=Testigo	3	0.3100		
T1= 5kg-Urea	3		7.9133	
T3= 15kg-Urea	3		8.0833	8.0833
T2= 10kg-Urea	3		8.1033	8.1033
T4=5Lt-EM-A	3		8.1267	8.1267
T5=10Lt-EM-A	3		8.3733	8.3733
T6=15Lt-EM-A	3			8.5467
Sig.		1.000	0.162	0.157

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 60 observamos el sub conjunto homogéneo (3) de las medias observadas y se concluye que el mejor tratamiento para inducir a la biorremediación de las propiedades biológicas: bacterias presentes en suelos contaminados por hidrocarburos es de 15Lt de EM (T6), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar las unidades formadoras de colonias a 8.5461×10^5 Ufc/gr

Se observa el sub conjunto homogéneo (3 y 2) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades biológicas: bacterias presentes en suelos contaminados por hidrocarburos es de 10Lt de EM-A (T5), 5Lt de EM-A (T4), 10Kg de Urea (T2), 15 Kg de Urea (T3) y 5Kg de Urea (T1), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar las colonias a 8.3733×10^5 Ufc/gr, 8.1267×10^5 Ufc/gr, 8.1033×10^5 Ufc/gr, 8.0833×10^5 Ufc/gr y 7.9133×10^5 Ufc/gr; respectivamente.

Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (1) el tratamiento testigo (T7), para inducir a la biorremediación de las propiedades biológicas: bacterias, presentes en el suelo a 0.3100×10^5 Ufc/gr en este sub conjunto no hay significancia.

b) Hongos en el suelo (Ufc)

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

E_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula H0: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna H1: $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación de las propiedades biológicas: hongo (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación de las propiedades biológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación de las propiedades biológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación de las propiedades biológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula H0: $\beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna H1: $\beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$



Donde:

β_1 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en los suelos contaminados por hidrocarburos en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:

Tabla 61 — Análisis de varianza biorremediación de propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	595,276 ^a	9	66.142	324.640	0.000
Tratamiento	74.133	6	12.355	60.643	0.000
Bloque	0.036	2	0.018	0.089	0.916
Error	2.445	12	0.204		
Total	597.721	21			

a. R al cuadrado = ,996 (R al cuadrado ajustada = ,993)

El modelo

Observamos en la tabla 61, que el valor (p) es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume ($\text{Sig} = 0,000 < \alpha = 0,05$) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 61, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió ($\text{Sig.} = 0,916 > \alpha = 0,05$) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación de las propiedades microbiológicas, con respecto a los hongos (Ufc) de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de las propiedades microbiológicas: hongos (Ufc) de suelos afectados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, nuestro ensayada.

Tabla 62 — Prueba de Tukey al 95%, biorremediación de propiedades microbiológicas: Hongos (Ufc) en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto	
		1	2
T7=Testigo	3	0.4067	
T1= 5kg-Urea	3		5.4233
T2= 10kg-Urea	3		5.4900
T3= 15kg-Urea	3		5.7267
T4=5Lt-EM-A	3		5.8600
T5=10Lt-EM-A	3		5.9700
T6=15Lt-EM-A	3		5.9933
Sig.		1.000	0.715

- Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.
- Alfa = 0.05.

En la tabla 62 observamos el sub conjunto homogéneo (2) de las medias observadas y se concluye que el mejor tratamiento para inducir a la biorremediación de las propiedades biológicas: hongos presentes en suelos



contaminados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A(T6), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar las unidades formadoras de colonias a 5.9933×10^4 Ufc/gr.

Se observa el sub conjunto homogéneo (2 y 1) de las medias observadas y se concluye que los tratamientos para inducir a la biorremediación de las propiedades biológicas: hongos presentes en suelos contaminados por hidrocarburos es de 10Lt de EM-A (T5), 5Lt de EM (T4), 15 Kg de Urea (T3), 10Kg de Urea (T2), y 5Kg de Urea (T1), que incorporados al suelo tendrán como efecto mejorar las colonias a 5.9700×10^4 Ufc/gr, 5.8600×10^4 Ufc/gr, 5.7267×10^4 Ufc/gr, 5.4900×10^4 Ufc/gr y 5.4233×10^4 Ufc/gr; respectivamente.

Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (1) el tratamiento testigo (T7), para inducir a la biorremediación de las propiedades biológicas: hongos, presentes en el suelo a 0.4067×10^4 Ufc/gr en este sub conjunto no hay significancia.

5.2.4 Prueba de hipótesis en la degradación de HTP de suelos contaminados.

Se realizó la prueba de hipótesis de la biorremediación de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de suelos contaminados por hidrocarburos, con referencia a la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, se describe a continuación:

Hidrocarburos totales de petróleo (THP) en el suelo

Se plantea las hipótesis para las pruebas:

Para el modelo.

H0: El modelo general no es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

H1: El modelo general es lineal de la forma: $Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + e_{ij}$

Dónde:

Y_{ij} = es el j-ésimo biorreactor dentro del i-ésimo tratamiento.

μ = es la media general del porcentaje de biorremediación: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en suelos contaminados por hidrocarburos

T_i = efecto debido al i-ésimo tratamiento.

β_j = efecto del j-ésimo bloque.

e_{ij} = error experimental asociado al j-ésimo bloque del i-ésimo tratamiento.

Para tratamientos.

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_7$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5 \neq \mu_6 \neq \mu_7$

Donde:

μ_1 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el tratamiento 1

μ_2 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el tratamiento 2

μ_3 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el tratamiento 3

μ_4 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el tratamiento 4

μ_5 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el tratamiento 5

μ_6 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el tratamiento 6

μ_7 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el tratamiento testigo

Para bloques.

Hipótesis nula $H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3$

Hipótesis alterna $H_1: \beta_1 \neq \beta_2 \neq \beta_3$

Donde:

β_1 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el bloque I.

β_2 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el bloque II

β_3 = Media de la biorremediación del suelo: degradación de hidrocarburos totales de petróleo en el bloque III

Para el contraste de las hipótesis planteadas, para el modelo, tratamientos y bloques se realiza la prueba de análisis de variancia cuyos resultados a un nivel de confianza para la prueba de 95%, que muestro en seguida:



Tabla 63 — Análisis de varianza de degradación de HTP en suelos

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo	7653662924,085 ^a	9	850406991.565	2230329.642	0.000
Tratamiento	125378811.078	6	20896468.513	54804.363	0.000
Bloque	747.955	2	373.978	0.981	0.403
Error	4575.505	12	381.292		
Total	7653667499.590	21			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

El modelo

Observamos en la tabla 63, que el valor (p) es menor que el valor de la probabilidad que se asume (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05), por lo que se rechaza la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis alterna, que nos lleva a la conclusión que el modelo general es lineal y se está cumpliendo con el supuesto planteado para el diseño de bloques completos al azar (DBCA).

Asimismo, la variable dependiente tiene relación con las variables independientes en un 100%, nos permite concluir que hay el efecto que es atribuido a la aplicación de los tratamientos en estudio.

Tratamientos.

El valor (p) es inferior que el nivel de significancia que se asume (Sig = 0,000 < alfa = 0,05) por lo que rechazamos la hipótesis nula y concluimos que existe el efecto atribuible a las aplicaciones de bioaumentación y bioestimulación en la biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos en condiciones de Vilcabamba, provincia de Grau.

Bloques.

Según la tabla 63, el valor (p) es superior a la significancia que se asumió (Sig. = 0,403 > alfa = 0,05) por lo que aceptamos la hipótesis nula y concluimos que los bloques no tienen influencia sobre la biorremediación del suelo: degradando hidrocarburos totales de petróleo de los suelos, en condiciones de Vilcabamba, Grau Apurímac.

Con el objetivo de establecer cuál tratamiento (niveles de bioestimulación o bioaumentación) tiene mayor efecto sobre la biorremediación de los suelos:



degradando los hidrocarburos totales de petróleo de suelos contaminados por hidrocarburos, realizamos la comparación de medias mediante la prueba de significancia de Tukey para un nivel de probabilidad de 95%, nuestro ensayo.

Tabla 64 — Prueba de Tukey al 95%, degradación de HTP en suelos

Tratamiento	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	5
T6=15Lt-EM-A	3	15398.90				
T5=10Lt-EM-A	3		15534.37			
T4=5Lt-EM-A	3			19120.10		
T3= 15kg-Urea	3				19870.83	
T2= 10kg-Urea	3				19890.30	
T1= 5kg-Urea	3				19924.17	
T7=Testigo	3					22798.10
Sig.		1.000	1.000	1.000	0.065	1.000

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

b. Alfa = 0.05.

En la tabla 64, Observamos el sub conjunto homogéneo (1 y 2) de las medias observadas y se concluye que los mejores tratamientos para inducir a la biorremediación del suelo: es decir la degradación los hidrocarburos totales de petróleo de suelos afectados por hidrocarburos es de 15Lt de EM-A (T6) y 10Lt de EM-A (T5), que incorporados al suelo tendrán como efecto menores en la presencia de hidrocarburos totales de petróleo a 15398.90mg/kg de S° y 15534.37mg/kg de S°, respectivamente.

Se observa el sub conjunto homogéneo (3 y 4) de las medias observadas y se observa que los tratamiento para inducir a la biorremediación del suelo: es decir degradar los hidrocarburos totales de petróleo de suelos afectados por hidrocarburos es de 5Lt de EM-A (T4), 15Kg de Urea (T3), 10Kg de Urea (T2) y 5Kg de Urea (T1) que incorporados al suelo tendrán como efecto menores porcentajes de presencia de hidrocarburos totales de petróleo a 19120.10 mg/kg de S°, 19870.83mg/kg de S° %, 19890.30 mg/kg de S° % y 19924.17 mg/kg de S°, respectivamente.

Finalmente se observa el sub conjunto homogéneo (5) el tratamiento testigo (T7), para inducir a la biorremediación del suelo: es decir degradar los hidrocarburos totales de petróleo de suelos afectados por hidrocarburos, que incorporados al suelo no tendrá como efecto porcentajes de biorremediación del suelo de 22798.10mg/kg de S° % en este sub conjunto no hay efectos.



5.3 Discusión

Se discute los resultados a continuación

5.3.1 Discusión sobre la biorremediación de las propiedades físicas

a) Textura del suelo

Con respecto a la biorremediación de las propiedades físicas, correspondiente a la textura del suelo; Los promedios observados en los porcentajes de arena, limo y arcilla, permite concluir que los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación no influye en la textura del suelo biorremediado. Por lo que corresponde de acuerdo al triángulo textural USDA, según Ciancaglini, 2017 a suelos franco arcilloso; el cual tiene mucha relación con lo concluido por Medina, García y Paricaguán, (2014), que establecen que los resultados de las muestras de suelo analizado poseen la textura franco arenoso.

b) Humedad relativa

Los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de 13.39%, 12.73%, 11.15% respectivamente; los valores con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de 9.19%, 9.15% y 9.12 respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 5.41% de humedad en los suelos. Estos valores concuerdan con los resultados de Ñustez (2012), que evaluó la humedad de los suelos que tienen valores 23.1% a 25.00% con la estrategia de bioestimulación y valores 20.30% a 24.9% con la estrategia de bioaumentación. Por lo que el contenido de humedad en los suelos tiene un efecto atribuible a los tratamientos (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05).

c) Porosidad

Los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, muestran valores de 50.57%, 50.13%, 49.57% respectivamente; los valores con bioestimulación (Urea) T2, T1, y T3, muestran valores de 48.92%, 48.31% y 47.88% respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 46.96% de nivel de porosidad en los suelos. Estos valores concuerdan con los resultados de Arrieta, et al (2012), que evaluó la humedad de los suelos con un valor de 44.36% con dos tecnicas de biorremediación como la atenuación natural y bioestimulación. Por lo que el contenido de humedad en los suelos tiene un efecto atribuible a los tratamientos (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05).

d) Densidad aparente

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T5, T4 y T6, muestran valores de densidad aparente de 1.405 gr/cm³, 1.387 gr/cm³ y 1.386 gr/cm³, respectivamente; los valores de densidad aparente con bioestimulación (Urea) T2, T3, y T1, muestran valores de 1.341 gr/cm³, 1.319 gr/cm³. y 1.312 gr/cm³ respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 1.328 gr/cm³. Estos valores tienen mucha relación con los resultados de **Loroña, et al (2019)**, que evaluó la densidad aparente (D.A.) con la aplicación de microorganismos eficaces activados (EM-A) obteniendo resultados en los cuatro tipos de suelos, para suelo urbano tiene 1.48 D.A.; suelo agrícola 1.48 D.A., suelo ribereño 1.50 D.A., suelo costero 1.55 D.A. Asimismo **Arrieta, et al (2012)** que evaluó la densidad aparente de los suelos con un valor de 1.5gr/cm³, con las dos tecnologías o técnicas de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Por lo que la densidad aparente en los suelos tiene un efecto atribuible a los tratamientos con bioaumentación (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05).

5.3.2 Discusión sobre la biorremediación de las propiedades químicas

a) Potencial de hidrogeniones (pH) o concentración de iones de hidrogeno

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, muestran valores de potencial de hidrogeniones (pH) 6.41pH, 6.25pH y 6.06pH, respectivamente; los valores de pH con bioestimulación (Urea) T1, T3, y T2, muestran valores de 5.91pH, 5.50pH y 5.14pH respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 4.10pH. Los resultados tienen relación con los resultados de **Loroña, et al (2019)**, que evaluó el pH con la aplicación de microorganismos eficaces activados (EM-A) obteniendo resultados en los cuatro tipos de suelos, suelo Costero con valores de pH 7.15, suelo Agrícola con valores de pH 7.55, suelo Urbano con valores de pH 8.57 y suelo Ribereño pH 6.18. Seguidamente, **Arrieta, et al (2012)** que evaluó el pH de los suelos con un valor de 5.5 pH antes del tratamiento y 7.7pH a 8.3 pH, después del tratamiento, con las dos tecnologías de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Asimismo, **Ñustez (2012)**, evaluó el pH de los suelos, teniendo valores 7.02pH a 7.39pH con la estrategia de bioestimulación y valores 6.89pH a 7.8pH con la estrategia de bioaumentación. Por lo que las variaciones de niveles de pH en los suelos tienen un efecto atribuible a los tratamientos (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05).

El pH tiene efectos en la disponibilidad de nutrientes y el crecimiento de los cultivos. El suelo con pH muy extremos no es fértil, en razón que no admite nutrientes destinados a las plantas. (Agroecología Tornos, 2018). Por lo que los valores obtenidos se acercan a un nivel neutro.

b) Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, muestran valores de CIC 20.41meq/100gr, 19.51meq/100gr y 18.76meq/100gr, respectivamente; los valores de CIC con bioestimulación (Urea) T3, T1, y T2, muestran valores de 20.41meq/100gr, 19.51meq/100gr y 18.76meq/100gr respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 10.06meq/100gr. Los resultados del estudio tienen relación con los resultados logrados por **Arrieta, et al** (2012) que evaluó la CIC de los suelos con un valor de 18.70 meq/100gr, 18.20 meq/100gr y 14.00 meq/100gr, después del tratamiento, con las dos tecnologías de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Por lo que las variaciones de niveles de CIC en los suelos tienen un efecto atribuible a los tratamientos (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05). Teniendo en consideración lo mencionado por INTAGRI, 2021, el nivel de CIC, provienen de los suelos con alta CIC, que tienen alto contenido de arcilla y/o materia orgánica. La alta CIC brinda al suelo mayor capacidad de retención de nutrientes, que hace más fértiles a los suelos, asimismo Medina, 2020, considera que un CIC < a 6 meq/100g, es muy bajo, de 6 a 12 meq/100gr es bajo, de 12 a 25 meq/100g es medio, de 25 a 40 meq/100g es alto y mayor a > 40 es muy alto. Por lo tanto, el CIC de los tratamientos está en el rango medio frente al testigo que presente un CIC Bajo.

**c) Macroelementos
Nitrógeno (N)**

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T5, T6 y T4, muestran valores de nitrógeno 0.172%, 0.151% y 0.111%, respectivamente; los valores de nitrógeno con bioestimulación (Urea) T2, T3, y T1, muestran valores de 0.169%, 0.1512% y 0.110%, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 0.060%. Los resultados del estudio tienen correspondencia con los resultados logrados por **Ñustez (2012)**, que evaluó el contenido de nitrógeno de los suelos, teniendo valores de 0.03% a 0.06 % con la estrategia de

bioestimulación y valores de 0.04% a 0.06% con la estrategia de bioaumentación, asimismo **Arrieta, et al** (2012) que evaluó las variaciones de nitrógeno de los suelos con un valor de de N-NO 9, 5 mg/kg (0.0095%) y 6 mg/kg (0.006%), después del tratamiento, con las dos tecnologías de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Por lo que las variaciones de niveles de nitrógeno en los suelos tienen un efecto atribuible a los tratamientos (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05). Teniendo en consideración lo mencionado por Agroecología Tornos, 2018, el nitrógeno presente en el suelo es importante para el desarrollo de las plantas, ya que es el principal macronutriente del suelo, siendo importante no carecer de este elemento. Y finalmente Medina, 2020, un porcentaje menor < a 0.1%, es bajo, de 0.1% a 0.2% es medio y mayor a > 0.2% es alto. Por lo tanto, el nitrógeno presente en el suelo según los tratamientos está en el rango medio, frente al testigo que presenta un porcentaje bajo de nitrógeno.

Fósforo (P)

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de fosforo 8.62ppm, 6.76ppm y 6.50ppm respectivamente; los valores de fosforo con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de fosforo 8.35ppm, 6.71ppm y 6.34ppm, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 1.24ppm. Los resultados del estudio tiene correspondencia con los resultados obtenidos por **Ñustez (2012)**, que evaluó el contenido de fosforo de los suelos, teniendo valores de 22.00ppm a 45.86ppm con la estrategia de bioestimulación y valores de 17.76ppm a 30.39ppm con la estrategia de bioaumentación, asimismo **Arrieta, et al** (2012) que evaluó las variaciones de fosforo de los suelos con un valor 40.00 mg/kg (40.00ppm) a 117.00 mg/kg (117.00ppm) después del tratamiento, con las dos tecnologías de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Por lo que las variaciones de niveles de fosforo en los suelos tienen un efecto atribuible a los tratamientos (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05). Teniendo en consideración lo mencionado por Agroecología Tornos, 2018, el fosforo es el macronutriente que aporta a las plantas, para un crecimiento correcto, asimismo Medina, 2020, considera que un valor menor < a 5 ppm, es bajo, de 5 a 10ppm es medio, de 10ppm a 15ppm es bueno y mayor a > 15ppm es alto. Por lo tanto, el fosforo

presente en el suelo según los tratamientos está en el rango medio, frente al testigo que presenta un porcentaje bajo de fósforo presente en el suelo.

Potasio (K)

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, muestran valores de potasio 99.61ppm, 96.27ppm y 89.62ppm respectivamente; los valores de potasio con bioestimulación (Urea) T3, T1, y T2, muestran valores de fósforo 97.27ppm, 93.31ppm y 83.61ppm, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 65.44ppm. Los resultados del estudio tienen correspondencia con los resultados obtenidos por **Ñustez (2012)**, que evaluó el contenido de potasio de los suelos, teniendo valores de 0.15 meq/100gr (58.5ppm) a 0.19meq/100gr. (74.1ppm) con la estrategia de bioestimulación y valores de 0.12meq/100gr (46.8ppm) a 0.24meq/100gr. (93.6ppm) con la estrategia de bioaumentación. Asimismo, **Arrieta, et al (2012)** que evaluó las variaciones de potasio de los suelos con un valor 0.27 mg/kg, 0.28mg/kg y 0.29 mg/kg después del tratamiento, con las dos tecnologías de biorremediación: atenuación natural y bioestimulación. Por lo que las variaciones de niveles de potasio en los suelos tienen un efecto atribuible a los tratamientos (Sig. = 0.000 < alfa = 0.05). Teniendo en consideración lo mencionado por Agroecología Tornos, 2018, el potasio es uno de los macronutrientes que necesitan las plantas para crecer adecuadamente, es así que la planta que tenga a disposición de potasio suficiente incrementa el nivel de azúcares en las frutas, en los cereales incrementa la lignificación y logra producir una paja de calidad; asimismo Medina, 2020, considera que un valor menor < a 150 ppm, es bajo, de 150 a 250ppm es medio, de 250ppm a 350ppm es bueno y mayor a > 350ppm es alto. Por lo tanto, el potasio presente en el suelo según los tratamientos está en el rango bajo.

5.3.3 Discusión sobre las propiedades microbiológicas

a) Bacterias

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de bacterias 8.55×10^5 Ufc/gr, 8.37×10^5 Ufc/gr y 8.13×10^5 Ufc/gr respectivamente; los valores de bacterias con bioestimulación (Urea) T2, T3, y T1, muestran valores de bacterias 8.10×10^5 Ufc/gr, 8.08×10^5 Ufc/gr y 7.91×10^5 Ufc/gr, respectivamente; frente al tratamiento testigo



que tiene 0.31×10^5 Ufc/gr. Los resultados del estudio tienen relación con los resultados que obtuvo **Méndez (2016)**, que tiene valores en la mina Cerro Maimón (CM) el recuento promedio de bacterias en suelos no impactados e impactados fue de $1,650 \times 10^3$ y 750×10^3 UFC respectivamente. seguidamente los resultados de la mina Falconbridge (FB) se obtuvo recuentos promedios de bacterias en los suelos no impactados e impactados de $4,731 \times 10^3$ y $2,879 \times 10^3$ UFC respectivamente. Asimismo, los resultados logrados **Fernández, et al (2012)**, con un consorcio de microorganismos degradadores de cepas aisladas de petróleo extrapesado capaces de degradar asfalteno (tratamiento A), y ejemplares de *Eisenia foétida* (tratamiento B), alcanzando un máximo de $1,90 \times 10^6$ UFC/g para el tratamiento A con una remoción de un 56% y $2,90 \times 10^5$ UFC/g para el tratamiento B con un 92% encontrando diferencias significativas entre los tratamientos. Finalmente Uribe, 1999, citado por Méndez, 2016, considera que los valores de unidades formadoras de colonias (UFC) en suelos varia de 1000 a 100,000 ($\text{UFC} \times 10^3$)/gr en suelos agrícolas. Por lo que confirmamos la capacidad degradadora de los microorganismos (bacterias), que tiene un potencial para ser utilizados en la biorremediación del suelo contaminado con petróleo.

b) Hongos

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de hongos 5.99×10^4 Ufc/gr, 5.97×10^4 Ufc/gr y 5.86×10^4 Ufc/gr respectivamente; los valores de hongos con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de hongos $5.73.10 \times 10^4$ Ufc/gr, 5.49×10^4 Ufc/gr y 5.42×10^4 Ufc/gr, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 0.41×10^4 Ufc/gr. Los resultados del estudio tienen relación con el resultado obtenido por **Méndez (2016)**, que tiene valores en la mina Cerro Maimón (CM) el recuento promedio de hongos en suelos no impactados e impactados fue de 7.1×10^3 y 4.9×10^3 UFC respectivamente. seguidamente los resultados de la mina Falconbridge (FB) se obtuvo recuentos promedios de hongos en los suelos no impactados e impactados de 3.9×10^3 y 3.7×10^3 UFC respectivamente. Asimismo, **Medina et al (2014)**, en la biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos (hongos) en suelos contaminados, en una evaluación de 30 días de tratamiento ex situ, logro un valor de remoción de un 85 % con una variación de ± 1660 a 1662 UFC/g de suelo. Finalmente Uribe,

1999, citado por Méndez, 2016, considera que los valores de unidades formadoras de colonias (UFC) en suelos varía de 1 a 100 (UFCx10³)/gr en suelos agrícolas. Por lo que confirmamos la capacidad degradadora de los microorganismos (hongos) que tienen un potencial para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo.

5.3.4 Discusión sobre la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP)

La aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP) 15398.90mg/kg de S°, 15534.37mg/kg de S° y 19120.10mg/kg de S°, respectivamente; los valores de HTP con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de THP 19870.83mg/kg de S°, 19890.30mg/kg de S°, y 19924.17mg/kg de S°, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 22798.10mg/kg de S°. Los resultados del estudio tienen relación con el resultado obtenido por **Quispe, (2020)**, que logró resultados de diferentes concentraciones con un Inóculo de Bacterias Nativas de Suelo Contaminado con Hidrocarburos, teniendo los tratamientos T1 (control) con 10% de Diésel B5 sin inóculo, T2 con 10% de Diésel B5 con inóculo, T3 con 20% de Diésel B5 con inóculo y T4 con 30% de Diésel B5 con inóculo, obtuvo valores de 47.92% de biodegradación del diésel B5 en el T2 (10% de Diésel) en un tiempo de 21 días de tratamiento, un porcentaje de 50.83% de biodegradación del diésel en el T3 (20% de Diésel), en un tiempo de 28 días de tratamiento y un porcentaje de 43.04% de biodegradación del diésel en el T4 (30% de Diésel) en un tiempo de 36 días de tratamiento.

Los resultados tienen relación con los resultados logrados por **Loroña, et al (2019)**, que evaluó la eficiencia de la biorremediación con la aplicación de microorganismos eficaces activados (EM-A), obteniendo resultados en cuatro tipos de usos de suelo; en el suelo de uso urbano una eficiencia del 41.60 % logrando disminuir de 51 221 mg/kg a 29 911 mg/kg de HTP; en el suelo de uso agrícola, una eficiencia de biorremediación del 40.06 %, logrando disminuir de 35 674 mg/kg a 21 383 mg/kg de HTP; en el suelo de uso ribereño una eficiencia de 35.05 % logrando disminuir de 7 604 mg/kg a 4 939 mg/kg de HTP y por último el suelo de uso costero una eficiencia de 15.29 % logrando disminuir de 12 973 mg/kg a 10 989 mg/kg de HTP.

Los resultados de **Bermúdez (2012)** evidencia que, mediante la bioaumentación, utilizando un consorcio bacteriano BIOIL-FC, obtuvo una remoción superior al 90% a una velocidad media de degradación de $245,0 \pm 35,7 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$. En las fracciones fundamentales del petróleo (SARA) obtuvo remoción superior al 70%, a una velocidad media de degradación entre $107,8 \pm 11,8$ y $233,7 \pm 86,6 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$. Que tiene relación con los resultados de **Ñustez (2012)**, que evaluó la reducción promedio de hidrocarburos totales de petróleo (HTP) $16391,18 \text{ mg/Kg}$ de suelo seco con la estrategia de bioestimulación y $15601,44 \text{ mg/Kg}$ de suelo seco con la estrategia de bioaumentación.

De la misma manera **Arrieta, et al (2012)**, mediante la biorremediación: atenuación natural y bioestimulación, tomando como parámetro de control la concentración de Hidrocarburos Totales del Petróleo (HTP), obtuvo la reducción en la concentración en un tiempo de cuatro meses de 36,86% para atenuación natural y 50,99% para bioestimulación. Dichos resultados tienen relación con **Ortiz; et al (2005)**, con la bioestimulación con nitrógeno y fósforo inorgánico y de bioaumentación con el producto BIOIL-FC. demostró una mayor eficiencia en la oxidación de los hidrocarburos con la aplicación de BIOIL-FC con relación a la bioestimulación tradicional, lográndose un 50% y 61% de remoción del fuel oil y gasolina de 85% de octanaje respectivamente en 28 días, mientras que para gasolina de 96% se alcanzó un 98% de remoción en solo 15 días. El resultado muestra la potencialidad del bioproducto para la remediación de ambientes contaminados con petróleo y sus derivados.

De igual manera **Plaza, et al (2001)**, con la utilización de nutrientes, inoculación de bacterias y/o aprovechando de la microflora natural del suelo. El resultado muestra la activación de la microflora natural por la utilización de nutrientes en proporción adecuada, obteniendo la remoción de hidrocarburo de 70 % en 55 días. Con lo cual se confirma la capacidad degradadora de los microorganismos y el potencial, para la biorremediación de suelos contaminados con petróleo.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- Existe efecto atribuible a la aplicación de la bioestimulación y bioaumentación en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo y la biorremediación de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de suelos, encontrando una relación positiva y significativa ($\text{Sig.} < 0.000$) de 100.00% entre las variables en estudio. El mejor comportamiento viene hacer los tratamientos T6, T5 y T4 que están a base de la bioaumentación con microorganismo eficientes (EM-A), seguido por los tratamientos T3, T2, T1, que están a base de la bioestimulación (urea), comparado con el testigo (T7).
- La aplicación de los tratamientos con bioaumentación y bioestimulación tiene efectos significativos ($\text{Sig.} < 0.05$), obteniendo resultados en biorremediación de las propiedades físicas: como la **humedad** donde se muestra resultados en bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de 13.39%, 12.73%, 11.15% respectivamente; los valores con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de 9.19%, 9.15% y 9.12 respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 5.41% de humedad en los suelos. **Porosidad** los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, muestran valores de 50.57%, 50.13%, 49.57% respectivamente; los valores con bioestimulación (Urea) T2, T1, y T3, muestran valores de 48.92%, 48.31% y 47.88% respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 46.96% de nivel de porosidad en los suelos. **Densidad aparente**, la aplicación de los tratamientos a base de bioaumentación (EM-A) T5, T4 y T6, muestran valores de densidad aparente de 1.405 gr/cm^3 , 1.387 gr/cm^3 y 1.386 gr/cm^3 , respectivamente; los valores de densidad aparente con bioestimulación (Urea) T2, T3, y T1, muestran valores de 1.341 gr/cm^3 , 1.319 gr/cm^3 . y 1.312 gr/cm^3 respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 1.328 gr/cm^3 . **Textura del suelo**, con respecto a la biorremediación de las propiedades físicas, correspondiente a la textura del suelo; Los promedios observados en el porcentaje de arena, limo y arcilla, permite concluir que los tratamientos de bioaumentación y bioestimulación no influye en la textura del suelo biorremediado.
- La aplicación de los tratamientos con bioaumentación y bioestimulación tiene efectos significativos ($\text{Sig.} < 0.05$), obteniendo resultados en biorremediación de las propiedades químicas: **Potencial de hidrogeniones (pH)** que muestra los resultados a base de



bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, con valores de potencial de hidrogeniones (pH) 6.41pH, 6.25pH y 6.06pH, respectivamente; los valores de pH con bioestimulación (Urea) T1, T3, y T2, muestran valores de 5.91pH, 5.50pH y 5.14pH respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 4.10pH. **Capacidad de intercambio catiónico (CIC)**, muestra los resultados a base de bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, con valores de CIC 20.41meq/100gr, 19.51meq/100gr y 18.76meq/100gr, respectivamente; los valores de CIC con bioestimulación (Urea) T3, T1, y T2, con valores de 20.41meq/100gr, 19.51meq/100gr y 18.76meq/100gr respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 10.06meq/100gr. **Macroelementos: Nitrógeno (N)**, muestra los resultados a base de bioaumentación (EM-A) T5, T6 y T4, muestran valores de nitrógeno 0.172%, 0.151% y 0.111%, respectivamente; los valores de nitrógeno con bioestimulación (Urea) T2, T3, y T1, muestran valores de 0.169%, 0.1512% y 0.110%, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 0.060%. **Fosforo (P)**, muestra los resultados a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de fosforo 8.62ppm, 6.76ppm y 6.50ppm respectivamente; los valores de fosforo con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de fosforo 8.35ppm, 6.71ppm y 6.34ppm, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 1.24ppm. **Potasio (K)**, muestra los resultados a base de bioaumentación (EM-A) T6, T4 y T5, muestran valores de potasio 99.61ppm, 96.27ppm y 89.62ppm respectivamente; los valores de potasio con bioestimulación (Urea) T3, T1, y T2, muestran valores de fosforo 97.27ppm, 93.31ppm y 83.61ppm, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 65.44ppm.

- La aplicación de los tratamientos con bioaumentación y bioestimulación tiene efectos significativos (Sig.<0.05), obteniendo resultados en biorremediación de las propiedades microbiológicas: **Bacterias**, con resultados a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de bacterias 8.55×10^5 Ufc/gr, 8.37×10^5 Ufc/gr y 8.13×10^5 Ufc/gr respectivamente; los valores de bacterias con bioestimulación (Urea) T2, T3, y T1, muestran valores de bacterias 8.10×10^5 Ufc/gr, 8.08×10^5 Ufc/gr y 7.91×10^5 Ufc/gr, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 0.31×10^5 Ufc/gr. **Hongos**, con los resultados a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de hongos 5.99×10^4 Ufc/gr, 5.97×10^4 Ufc/gr y 5.86×10^4 Ufc/gr respectivamente; los valores de hongos con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de hongos $5.73.10 \times 10^4$ Ufc/gr, 5.49×10^4 Ufc/gr y 5.42×10^4 Ufc/gr, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 0.41×10^4 Ufc/gr.

- La aplicación de los tratamientos con bioaumentación y bioestimulación tiene efectos significativos (Sig.<0.05), obteniendo resultados en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP), con resultados a base de bioaumentación (EM-A) T6, T5 y T4, muestran valores de degradación de hidrocarburos totales de petróleo (THP) 15398.90mg/kg de S°, 15534.37mg/kg de S° y 19120.10mg/kg de S°, respectivamente; los valores de HTP con bioestimulación (Urea) T3, T2, y T1, muestran valores de THP 19870.83mg/kg de S°, 19890.30mg/kg de S°, y 19924.17mg/kg de S°, respectivamente; frente al tratamiento testigo que tiene 22798.10mg/kg de S°.
- La aplicación de los tratamientos con bioaumentación y bioestimulación tiene efectos significativos en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo y biorremediación de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de los suelos, en Vilcabamba, Grau, Apurímac.

6.2 Recomendaciones

- Al utilizar la bioaumentación a base de microorganismos eficientes activados (EM-A), se logra degradar los hidrocarburos totales de petróleo (THP) de suelos contaminados con hidrocarburos y biorremediar mejorando las propiedades físicas, químicas y microbiológicas. Para ello se recomienda un tratamiento a base de 15Lt de EM-A
- Al utilizar la bioestimulación a base de Úrea, se logra degradar los hidrocarburos totales de petróleo (THP) de suelos contaminados con hidrocarburos y biorremediar mejorando las propiedades físicas, químicas y microbiológicas. Para ello se recomienda un tratamiento a base a 15kg de Úrea.
- En suelos contaminados por hidrocarburos, por insecticidas, por radiación y otros elementos tóxicos, es recomendable utilizar unidades formadoras de colonias (UFC) de microorganismos eficientes (EM) ya que pueden biorremediar las propiedades físicas, químicas y microbiológicas de los suelos de manera integral.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, P. 2004. Producción de Compostaje. Facultad de Agronomía, Universidad de Santiago. Chile.
- Agroecología Tornos (2018) Cómo realizar un buen análisis del suelo para el cultivo. Extraído el 02 de noviembre del 2021 de: <https://www.agroecologiatornos.com/como-realizar-un-buen-analisis-del-suelo-para-el-cultivo/>
- Arévalo, J.C. 2011. CGTA. Evaluación de 15 accesiones de MAD, en un suelo entisol. Tesis de Ing. Perú.
- Arrieta Ramírez, Olga Maria, Rivera Rivera, Angela Patricia, Arias Marin, Lida, Rojano, Benjamín Alberto, Ruiz, Orlando, Cardona Gallo, Santiago Alonso (2012) Biorremediación de un suelo con diesel Mediante el uso de microorganismos autóctonos. *Gestión y Ambiente* [en línea]. 2012, 15(1), 27-39 ISSN: 0124-177X. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169424101004>
- Aycachi, R 2008. Biodegradación de Petróleo Diesel. Universidad Nacional Pedro Luis Gallos, Facultad de Ciencias Biológicas. Lambayeque, Perú. En: <http://www.scribd.com/doc/6437940/Bacterias-Degradadoras-de-Petroleo> Ciencias para la Salud. Universidad Nacional del Comahue, Neuquén
- Banco Interamericano de Desarrollo (2009) Manual Práctico de Uso de EM. Proyecto de Reducción de Pobreza y Mejora de las Condiciones Higiénicas de los Hogares de la Población Rural de Menores Recursos Banco Interamericano de Desarrollo - Convenio Fondo Especial de Japón / BID ATN/JO-10792 UR Edición N° 1. OISCA- Uruguay
- Benavides J., Quintero G. 2005, Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo. *Nova – Publicación científica* vol. 4 n° 5, Junio 2005.



Bermúdez Acosta, Jelvys (2012) Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos a partir del uso de un consorcio bacteriano alóctono en la zona costera de Punta Majagua. Cienfuegos, Cuba. Tesis presentada para optar por el grado académico de Master en Ciencias Técnicas. Mención Ingeniería en Saneamiento Ambiental. Santa Clara Febrero de 2012.

Boccolini, Mónica Fabiola, Basile, Laura Ana, Cazorla, Cristian Román, Galarza, Carlos Martín, Conde, Belén, & Figuerola, Eva Lucía Margarita. (2016). Impacto de la aplicación prolongada de urea sobre bacterias nitrificantes de un Argiudol típico, Argentina. *Ciencia del suelo*, 34(1), 21-31. Recuperado en 28 de julio de 2022, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1850-20672016000100003&lng=es&tlng=es.

BIODYNE Perú, 2018. Biotratamientos ambientales <http://www.biodyne-peru.com/mbh.php>

BIOEM Perú (2021) CERTIFICADO DE CALIDAD: SOLUCIONES DE MICROORGANISMOS EFICACES (EM™) Consultado el 20 de noviembre del 2021 de la página web <http://www.bioem.com.pe>

Castro, K. 2001. Evaluación de la eficiencia del guano de isla en mezclas formuladas con abonos orgánicos y/o fertilizantes minerales. Estudio realizado en maíz y betarraga como cultivos indicadores. Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo UNALM.

Carballas, T. (2004). Microbiología y bioquímica del suelo forestal. Instituto de Biodiversidad Agraria y Desarrollo Rural, pp. 6-10.

Chayneau, C., Morel, J. Y Oudot, J. 1996. Land Traedment of oil based drill cutting in an agricultural soil. *Journal of Enviromental Quality*, 4: 858-867.

Ciancaglini, Nicolás (2017) Guía para la determinación de textura de suelos por método organoléptico, INTA EEA San Juan. – Prosap. Consultado el 02 de noviembre de 2021 en:[http://www.prosap.gov.ar/Docs/INSTRUCTIVO%20\(R-001\)-%20Guía%20para%20la%20determinación%20de%20textura%20de%20suelos%20por%20método%20organoléptico.pdf](http://www.prosap.gov.ar/Docs/INSTRUCTIVO%20(R-001)-%20Guía%20para%20la%20determinación%20de%20textura%20de%20suelos%20por%20método%20organoléptico.pdf)



- Cooney, J., Silver, S. Y Beck, E. 1985. Factors influencing hydrocarbons degradation in three freshwater lakes. *Microbial Ecology*, 11: 127-237.
- Corona – Ramírez L, Iturbe – Argüelles, R. 2005. *Atenuación Natural en Suelos Contaminados con Hidrocarburos*. 2da edición Parson Educación. Madrid, España.
- CONtexto ganadero (2017) La importancia de conocer la capacidad de intercambio catiónico del suelo Extraído del 21 de noviembre del 2021 del portal: <https://www.contextoganadero.com/ganaderia-sostenible/la-importancia-de-conocer-la-capacidad-de-intercambio-cationico-del-suelo>
- DQI, 2015. Distribuidora de químicos industriales Colombia <http://dqisa.com/wp-content/uploads/2015/11/UREA.pdf>
- Ercoli, E.; Gálvez, J.; Di Paola, M.; Cantero, J.; Videla, S.; Medaura, M.; Bauzá, J 2001. Análisis y Evaluación de parámetros críticos en biodegradación de hidrocarburos en suelo. Laboratorio de Bioprocesos, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. En: [www.eco2site.com /informes/biorremediacion.asp](http://www.eco2site.com/informes/biorremediacion.asp)
- Escalante, E. 2000. Estudio de Ecotoxicidad de un suelo contaminado con hidrocarburos. Tesis para obtener el grado de maestro en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, México. D.F.
- Espinoza, 1999. Boletín N° 04. Refinería la Pampilla. Callao. Perú.
- Eweis, J et al. (1998), *Principios de biorrecuperación*. Ed. Mac Graw Hill.
- Eyzaguirre, C. 2007. Curso de estadística e informática. Métodos estadísticos para la investigación 1. UNALM. Lima. Perú.
- FAO. 2015a. Las amenazas a nuestros suelos. Tomado de: <http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/es/c/326259/>
- FAO. 2015b. Las funciones del suelo. Tomado de: <http://www.fao.org/resources/infographics/infographics-details/es/c/294325/>



FAO 2018 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) Guía DE BUENAS PRÁCTICAS PARA LA GESTIÓN Y USO SOSTENIBLE DE LOS SUELOS EN ÁREAS RURALES: Construcción participativa del diagnóstico de suelos Diseño de planes de intervención Prácticas de manejo sostenible de los suelos Bogotá – Colombia. ISBN 978-92-5-130425-9 - FAO y MADS,

Fernández, Celeste; Labrador, Henry; Medina, Luis; Mendoza, Kelly; Aponte, Luiceliz y Izzeddín, Noja (2012) Biodegradación de compuestos recalcitrantes procedentes de un crudo extrapesado aplicando técnicas de biorremediación. Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia [online]. 2012, vol.35, n.3 [citado 2022-01-06], pp.215-223. Disponible en: <http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0254-07702012000300001&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0254-0770.

Figuroa Chávez, Felipe. 1995. El cuy, su cría y explotación. Actividades productivas. (En línea): MONOGRAFIAS. (<http://www.monografias.com/trabajos12/cuy/cuy.shtml>. 13 agosto. 1998).

García, A (2007). Manual de producción y paquete tecnológico de avena, Puebla-México.

García Pando, Gilberto Arquímedes (2013) Guía técnica: Fertilización en el cultivo de maíz blanco. UNALM- Agrobanco. Calca- Cusco- Perú.

Guerrero, J. 2001. El Compost un abono orgánico compuesto para mejorar y dar vida a nuestros suelos. Taller de conservación de suelos y agricultura sostenible. UNALM. Lima.

IMCL (Intendencia Municipal de Cerro Largo). 2004. Producción de Compostaje. Uruguay.

INTEC (Instituto Tecnológico de Chile). 1999. Manual de compostaje. (en línea). Corporación de Investigación Tecnológica de Chile. Consultado 16 febrero del 2005.

INTAGRI (2021) La Capacidad de Intercambio Catiónico del Suelo Extraído de <https://www.intagri.com/articulos/suelos/la-capacidad-de-intercambio-cationico-del-suelo> - Esta información es propiedad intelectual de INTAGRI S.C., Intagri se reserva el derecho de su publicación y reproducción total o parcial.



- Juzcamayta, J. 2007. Biorremediación de suelos contaminados mediante el uso de organismos vivos. Lab. de biorremediación de la UNALM. Lima. Perú
- Kerlinger, F. (2002). Enfoque conceptual de la Investigación del comportamiento., p.83.
- Kimura, R. 2005. Evaluación de los efectos del producto “ENZYMPLUS” (activador biológico) en la elaboración de compost utilizando dos tipos de estiércol (vacuno y ovino). Tesis UNALM. Lima.
- La Rosa, D. 2000. Evaluación de 4 abonos orgánicos en el rendimiento de los cultivos de col y coliflor en la Molina. Tesis UNALM. Lima.
- Loroña Calderón, F., Gomez Lora, W., Jaco Rivera, E., Reynaga Loayza, C., Guiño Sinarahua, M., Gamarra Torres, J., Díaz Huaman, F., Huaman Buitron, N., Rafael Gutierrez, P., Mayte Quispe, J., Moran Carhuapoma, M., & Carhuancho Alzamora, L. C. (2019). Eficiencia de la biorremediación de suelos contaminados con Diesel B5 mediante Microorganismo Eficaces (EM). Cátedra Villarreal, 6(2). <https://doi.org/10.24039/cv201862278>
- Maroto Arroyo M. Esther y Rogel Quesada Juan Manuel, 2004. Aplicación de Sistemas de Biorremediación de suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos
- Martínez, E. y López, F. 2001. Efecto de hidrocarburos en las propiedades físicas y químicas del suelo arcilloso. Terra, 10: 9-17.
- Martínez, Carlos, 2020. Cómo interpretar análisis de suelos. AGROCULTURA . Extraído el 02 de noviembre del 2021, de: https://youtu.be/GQFF_oXLHIY
- Martínez Montiel Laura (2020), Microbiología, Análisis de Suelos y su Interpretación. En el XXII Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas, Chapingo México. Extraído el 21 de noviembre del 2021 de <https://youtu.be/eFb3YwuEDYw>
- Medina, Jhonny, García, Franklin, Paricaguán, Belén (2014) Biodegradación de petróleo por microorganismos autóctonos en suelos contaminados provenientes de la bahía de Amuay del Estado Falcón. Revista INGENIERÍA UC [en línea]. 2014, 21(1), 62-



69[fecha de Consulta 6 de Enero de 2022]. ISSN: 1316-6832. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=70732642007>

Medina Laura, Cesar (2020) Charla Técnica Virtual: "Interpretación de resultados del análisis de suelos". Extraído el 02 de noviembre del 2021 <https://youtu.be/z-kldeEdz-o>
<https://www.inia.gob.pe/events/charla-analisis-suelos/>

Méndez Guillermo, Pierina (2016) Análisis de la microbiota de los suelos impactados y no impactados por minería metálica en República Dominicana. Investigación especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera en Ambiente y Desarrollo en el Grado Académico de Licenciatura. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

Morales, J. Á. (2009). La calidad microbiológica del suelo y de la composta del Parque Itchimbí en su proceso de recuperación. Pichincha, Ecuador : Escuela Politécnica del Ejército .

Moreno Galindo Eliseo (2013) Concepto de Diseño de Investigación, extraído el 12 de diciembre del 2021 del portal: <https://tesis-investigacion-cientifica.blogspot.com/2013/08/concepto-de-diseno-de-investigacion.html?m=0>

Morgan y Watkinson. 1989. Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos. España. Madrid.

Moro Gonzales Alberto (2015), Relaciones catiónicas y su interpretación en los análisis de suelos, extraído el 12 de diciembre del 2021 del portal:
<https://aqmlaboratorios.com/relaciones-cationicas-analisis-de-suelos/>

Muñoz. P 2007. Comparación del sustrato de fibra de coco con los sustratos de corteza de pino compostado, perlita y vermiculita en la producción de plantas de eucalipto. Trabajo para optar el doctorado. Facultad de ciencias forestales. Universidad Austral de Chile.

Maqueda, A. 2003. Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Universidad de las Américas Puebla, Escuela de Ciencias, Departamento de Química y Biología. Puebla, México.



Navarro, et al, 2001. La biorremediación en Perú. Lima-Perú. 2001

Ocampo, J; Robles, D; Wu, A. 2002. El Compostaje como método de Biorremediación de Suelos contaminados con hidrocarburos. Tesis UNALM. Lima, 81p.

Ortiz; Núñez.; Fonseca; Oramas; Almazán; y Cabranes; Miranda; Barbán, Martínez; Díaz; y Borges. 2005. Biorremediación de Suelos Contaminados con Hidrocarburos. Revista Contribución a la Educación y la Protección del Medio Ambiente. (6): 51-60. Pág. 51-60. Centro de Bioproductos Marinos (CEBIMAR). Loma e/ 35 y 37, Alturas del Vedado, Ciudad de La Habana, C. P. 10 600, Cuba. Email: cebimar@ama.cu

Otero Jiménez, Vanessa. Aislamiento, selección e identificación de actinomicetos, bacterias fotosintéticas no sulfurosas y bacterias ácido lácticas con potencial biofertilizante, a partir de suelos asociados al cultivo de plátano en la Costa Atlántica Colombiana. [en línea] 2011 [Fecha consulta : 8 de enero 2022].

Ponce Contreras Daniela Soledad (2014) Biorremediación de Suelos Contaminados Con Hidrocarburos, Proyecto Para Obtener El Título De Ingeniero Civil, Concepción, Universidad Del Bio-Bio, Facultad De Ingeniería, Departamento Ingeniería Civil Y Ambiental.

Quispe Huanca Jesús Marilyn Mey (2020), “Determinación de los Tiempos de la Biodegradación del Hidrocarburo (Diésel B5) a Diferentes Concentraciones en Biorreactores de Polietileno con un Inóculo de Bacterias Nativas de Suelo Contaminado con Hidrocarburos”, Tesis Para optar el Título Profesional de Ingeniera Ambiental. Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa, Facultad De Ingeniería De Procesos, Escuela Profesional De Ingeniería Ambiental. Arequipa, Perú

Rodríguez. S. F. 1996. Fertilizantes: nutrición vegetal. Primera edición AGT. Editor S. A. argentina. 157 p

Sánchez, J Y Rodríguez, L. 2001. Biorremediación: Fundamentos y Aspectos Microbiológicos. Universidad de Oviedo, España



Solanas, A. 2009. La biodegradación de hidrocarburos y su aplicación en la biorremediación de suelos. Universidad de Barcelona España.

Ñustez Cuartas, Diana Cristina (2012) Biorremediación Para la Degradación de Hidrocarburos Totales Presentes En los Sedimentos de una Estación de Servicio de Combustible, Maestría En Ecotecnología Proyecto de Grado presentado como requisito para optar al título de Magíster en Ecotecnología. Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Ciencias Ambientales Pereira. Mayo 2012

Uribe, L. (1999). Uso de indicadores microbiológicos de suelos: ventajas y limitantes. San José, Costa Rica: Congreso Nacional de Suelos.

Van deuren, J., Wang, Z. y Ledbetter, J. 1997. Remediation technologies screening matrix and reference Guide. 3^a Ed. Technology Innovation Office, EPA.
<http://www.epa.gov/tio/remed.htm>



ANEXOS



Anexo 1 - Matriz de consistencia

Título: “BIOESTIMULACIÓN Y BIOAUMENTACIÓN A MICROORGANISMOS EN LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS – VILCABAMBA- GRAU”

I. PROBLEMA	II. OBJETIVOS	III. HIPÓTESIS	IV. VARIABLES
¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau?.	Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos en la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau.	La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos tiene efectos significativos en la biorremediación de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau.	Variable Independiente: Bioestimulación Bioaumentación
¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades físicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau?	Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades físicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau	La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos tiene efectos significativos en la biorremediación de las propiedades físicas de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau.	Variable Dependiente: Biorremediación de las propiedades físicas
¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades químicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau?	Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades químicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba- Grau	La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos tiene efectos significativos en la biorremediación de las propiedades químicas de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau.	Biorremediación de las propiedades químicas
¿Cuál es el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades microbiológicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau?	Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades microbiológicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau	La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos tiene efectos significativos en la biorremediación de las propiedades microbiológicas de suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau.	Biorremediación de las propiedades microbiológicas
¿Cuál es el efecto de la bioaumentación y bioestimulación a microorganismos autóctonos en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau?	Evaluar el efecto de la bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos en la biorremediación de las propiedades microbiológicas de suelos contaminados por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau	La bioestimulación y bioaumentación a microorganismos autóctonos tiene efectos significativos en la degradación de hidrocarburos totales de petróleo, del suelo contaminado por hidrocarburos en Vilcabamba-Grau.	Degradación de hidrocarburos totales de petróleo

Anexo 2 - Diseño del campo experimental

		5.25						
		0.75						
5	1	UE1	UE4	UE3	UE5	UE7	UE2	UE6
		UE3	UE7	UE1	UE6	UE2	UE4	UE5
	0,5 m							
		UE7	UE2	UE5	UE1	UE3	UE6	UE4

Anexo 3 - Ficha de recolección de datos

Ficha N° 01 – Características de las propiedades físicas

Título: “BIOESTIMULACIÓN Y BIOAUMENTACIÓN A MICROORGANISMOS EN LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS – VILCABAMBA- GRAU”

Variable: Propiedades físicas

Tratamiento:.....

Fecha:.....

Toma de datos N° :.....

Indicador	Unidad Medida	N° de muestra								X
		1	2	3	4	5	6	7	8	X
Propiedades físicas										
Textura	Clase textural									
Humedad	HR									
Porosidad	%									
Densidad aparente	g/cc									

Observaciones:

.....

.....



Ficha N° 02 – Características de las propiedades Químicas

Título: “BIOESTIMULACIÓN Y BIOAUMENTACIÓN A MICROORGANISMOS EN LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS – VILCABAMBA- GRAU”

Variable: propiedades químicas

Tratamiento:.....

Fecha:.....

Toma de datos N° :.....

Indicador	Unidad Medida	N° de muestra								X
		1	2	3	4	5	6	7	8	X
Propiedades químicas										
TPH	gr/kg de suelo									
pH	Acides - Alcalinidad									
CIC	Meq/100mg.									
Macro elementos	% N P (ppm) K (ppm)									

Observaciones:

.....

.....



Ficha N° 03 – Características de las propiedades biológicas

Título: “BIOESTIMULACIÓN Y BIOAUMENTACIÓN A MICROORGANISMOS EN LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADO POR HIDROCARBUROS – VILCABAMBA- GRAU”

Variable: Propiedades biológicas

Tratamiento:.....

Fecha:.....

Toma de datos N° :.....

Indicador	Unidad Medida	N° de muestra								X
		1	2	3	4	5	6	7	8	x
Propiedades microbiológicas										
Bacterias	Ufc/gr									
Hongos	Ufc/gr									

Observaciones:

.....

.....



Ficha N° 04 – Degradación de hidrocarburos totales de petróleo

**Título: “BIOESTIMULACIÓN Y BIOAUMENTACIÓN A MICROORGANISMOS
EN LA BIORREMEDIACIÓN DE SUELOS CONTAMINADO POR
HIDROCARBUROS – VILCABAMBA- GRAU”**

Variable: Degradación de hidrocarburos totales de petróleo

Tratamiento:.....

Fecha:.....

Toma de datos N° :.....

Indicador	Unidad Medida	N° de muestra								X
		1	2	3	4	5	6	7	8	x
TPH	gr/kg de suelo									

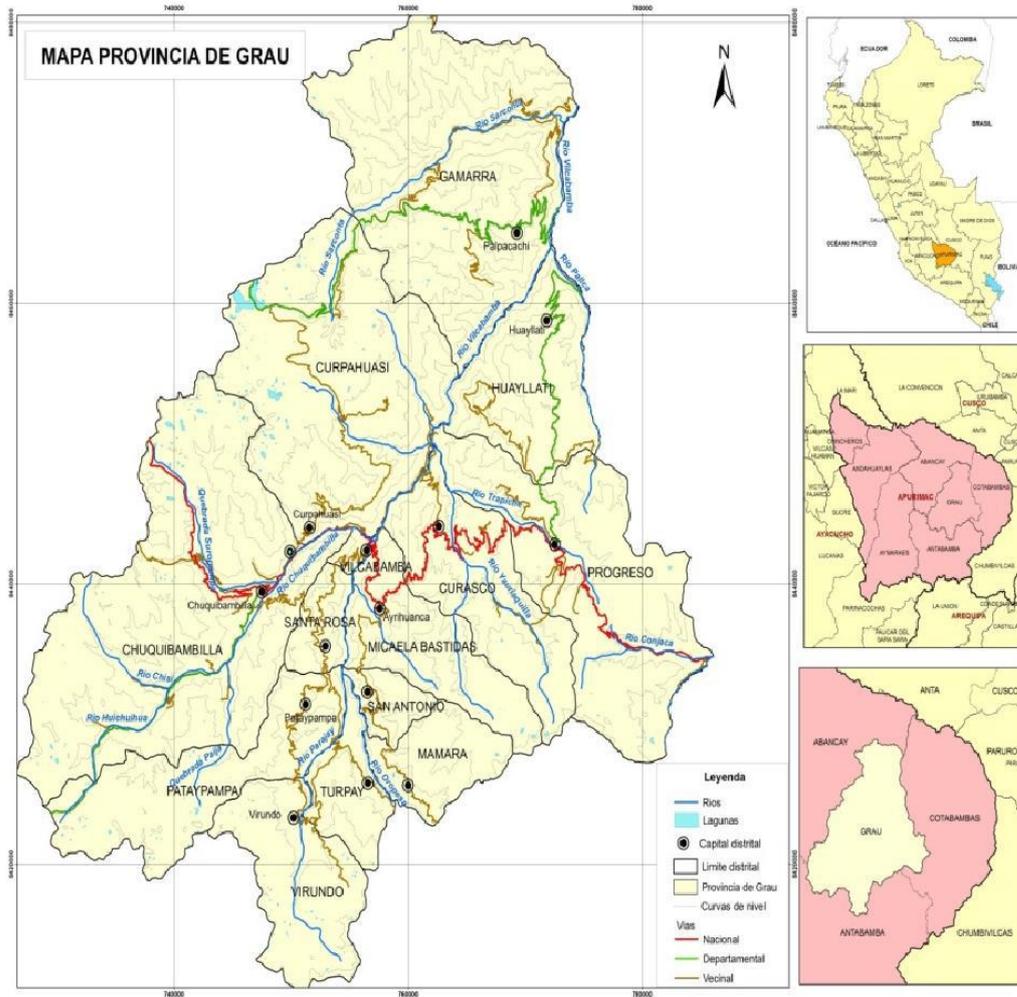
Observaciones:

.....

.....



Anexo 4 - Mapa de ubicación del experimento



Fuente: adaptado del PDC provincia de Grau 2021

Anexo 5 - Panel fotográfico

Fotografía 1—Activación de los microorganismos eficientes



Fotografía 2— Activación de los microorganismos eficientes



Fotografía 3—Activación de microorganismos eficientes y el bioestimulante (Urea)



Fotografía 4— Bioestimulante (Urea)



Fotografía 5— Preparación del sustrato



Fotografía 6— Instalación de los biorreactores



Fotografía 7— Instalación de los biorreactores



Fotografía 8— Instalación de los biorreactores



**Fotografía 9— Separación de celdas
enzimas y fertilizante en el lugar del
estudio**



**Fotografía 10— Imagen 2. Toma de
muestra por triplicado en celdas de
bacterias.**



**Fotografía 11—Toma de muestra por
triplicado en celdas de 1 control.**



**Fotografía 12— Toma de muestra por
triplicado en celdas de enzimas.**

